Universitätsklinikum Ulm

Zentrum für Innere Medizin

Klinik für Innere Medizin III

Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. H. Döhner

Die monoklonale Gammopathie unbestimmter Signifikanz (MGUS) – Charakterisierung eines Patientenkollektivs anhand molekularzytogenetischer und laborchemischer Merkmale

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

vorgelegt von
Phyllis Schwarzwälder

Villingen-Schwenningen

2013

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Thomas Wirth

1. Berichterstatter: PD. Dr. Peter Liebisch

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Daniel Walcher

Tag der Promotion: 11.07.2014

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis ..... **I**

Tabellenverzeichnis ..... **II**

Abkürzungsverzeichnis ..... **III**

1. Einleitung **1**

1.1 Definition und Historisches 1

1.2 Epidemiologie 2

1.3 Klinik 3

1.4 Diagnosestellung 3

1.5 Diagnosekriterien 4

1.6 MGUS und freie Leichtketten 6

1.7 Pathogenese und genetische Veränderungen 9

1.8 Die Rolle der MGUS in der Pathogenese des Multiplen Myeloms 16

1.9 Prognose und Risikostratifizierung 17

1.10. Zielsetzung der Arbeit 19

2. Patienten, Material und Methoden **20**

2.1 Auswahl der Patienten 20

2.2 Ausgewertete klinische Daten 20

2.3 Molekularzytogenetische Aberrationen (FISH) 22

2.4 Statistische Analyse 22

3. Ergebnisse **23**

3.1 Klinik 23

3.2 Molekularzytogenetik (FISH) 29

3.3 Abhängigkeit klinischer und molekularzytogenetischer Merkmale 35

4. Diskussion **36**

4.1. Klinische und laborchemische Parameter 36

4.2 Zytogenetische Aberrationen 43

5. Zusammenfassung **55**

6. Literaturverzeichnis **56**

Anhang **68**

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Darstellung zum Nachweis der freien Leichtketten im Serum 8

Abbildung 2: Entwicklung eine Plasmazelle 11

Abbildung 3: Stufenmodell zur Pathogenese des MM 15

Abbildung 4: Progressionsrisiko der MGUS 18

Abbildung 5: Altersverteilung des Gesamtkollektivs 23

Abbildung 6: Verteilung des monoklonalen Proteins im Gesamtkollektiv 25

Abbildung 7: Verteilung der genetischen Aberrationen 29

Abbildung 8: Inzidenz der IgH-Translokationen 31

Abbildung 9: Häufigkeit der numerischen und strukturellen Aberrationen im Vergleich 34

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Diagnosekriterien MGUS 4

Tabelle 2: Diagnosekriterien der "International Myeloma Working Group" 5

Tabelle 3: Primäre 14q32 Translokationen 13

Tabelle 4: Allgemeine Parameter 20

Tabelle 5: Klinische Parameter 21

Tabelle 6: Laborparameter 21

Tabelle 7: Übersicht der ausgewerteten Laborwerte 28

Tabelle 8: Positive Korrelation klinischer und molekularzytogenetischer Merkmale 35

Abkürzungsverzeichnis

AA-Amyloidose	Serum-Amyloid-A assoziierte Amyloidose
Abb.	Abbildung
AL-Amyloidose	Leichtketten Amyloidose
BMI	body mass index
BSA	Bovines Serumalbumin
CD	cluster of differentiation
del	Deletion
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSMM	Deutsche Studiengruppe Multiples Myelom
EFS	event free survival
FGFR 3	fibroblast growth factor receptor 3
FISH	Fluoreszenz in-situ Hybridisierung
Hb	Hämoglobin
IgA, IgD, IgE, IgG IgM	Immunglobulin vom Typ A, D, E, G, M
IgH	Immunglobulinschwerkette (heavy)
i.S.	Im Serum
ISS	International Staging System
κ	Kappa
kDa	Kilodalton
λ	Lambda
LDH	Laktatdehydrogenase
LK	Leichtkette
MCV	mean corpuscular volume
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MGUS	Monoklonale Gammopathie unbestimmter Signifikanz
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
MM	Multiples Myelom
MMSET	multiple myeloma SET domain
M-Protein	monoklonales Protein
NSD2	Nuclear Receptor-binding SET Domain 2
OS	overall survival
p	kurzer Arm eines Chromosoms

q	langer Arm eines Chromosoms
RB-Protein	Retinoblastom Protein
RT-PCR	Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion
SMM	smouldering multiple myeloma
STOML 2	stomatin (EPB72)-like 2
t(4;14)	Translokation zwischen den Chromosomen 4 und 14
Tab.	Tabelle
WHSC1	Wolf-Hirschhorn-syndrome-candidate 1

1. Einleitung

1.1 Definition und Historisches

Monoklonale Gammopathien sind eine Gruppe von Erkrankungen, die mit der unkontrollierten Proliferation eines Plasmazellklons einhergehen. Hieraus folgt regelhaft die Sekretion eines monoklonalen Immunglobulins.

Der Begriff „Gammopathie“ leitet sich von der Tatsache ab, dass Immunglobuline in der Serum-Eiweißelektrophorese typischerweise in der Gamma-Fraktion abgebildet werden. In der Literatur werden allerdings häufig auch synonyme Bezeichnungen wie Paraproteinämien, Dysproteinämien oder Immunglobulinopathien benutzt.

Meist kommt es zu Vermehrung ganzer Immunglobuline vom Typ IgG oder IgA, seltener vom Typ IgM oder IgD. Eine weitere Möglichkeit ist die alleinige monoklonale Vermehrung der Immunglobulin-Leichtketten (Kappa oder Lambda). In diesem Fall spricht man von sogenannten Bence Jones-Proteinen.

Die monoklonale Gammopathie unbestimmter Signifikanz (MGUS) wird als Präkanzerose maligner Plasmazelltumore gesehen, wobei das Risiko künftig an einem Plasmozytom oder einem Multiplen Myelom (MM) zu erkranken bei rund 1 % pro Jahr liegt *(Kyle et al. 2002; Kyle et al. 2004).*

MGUS selbst verursacht keine Symptome, daher wurde sie in der Vergangenheit häufig auch als „benigne“ monoklonale Gammopathie bezeichnet.

Der Begriff ist allerdings irreführend, weil man bei Diagnosestellung nicht sicher sagen kann, ob die MGUS im Laufe der Zeit stabil bleibt oder ob sie in ein MM oder eine andere maligne Plasmazellerkrankung übergeht *(Bladé 2004*; *The International Myeloma Working Group 2003).* Aus diesem Grund prägte Robert Kyle als erster den Begriff der „monoklonalen Gammopathie mit unbestimmter Signifikanz“ (*Kyle et al. 1978*).

1.2 Epidemiologie

MGUS ist die häufigste Plasmazelldyskrasie. Ihre Prävalenz beträgt 3,2 % bei der Gruppe der über 50-Jährigen -und 5,3 % bei den über 70-Jährigen (*Kyle et al. 2006*). Nur 2 % der Patienten mit MGUS sind jünger als 40 Jahre (*Kyle et al. 2002*). Es ist also festzuhalten, dass die Inzidenz der MGUS mit dem Alter ansteigt.

In epidemiologischen Studien konnte gezeigt werden, dass die Prävalenz einer MGUS in der schwarzen Bevölkerung der USA doppelt so hoch liegt wie bei Kaukasiern *(Cohen et al. 1998, Landgren et al. 2006).*

Prädisponierende Faktoren einer MGUS konnten bis heute nicht gesichert werden *(Munshi 2007).* Jedoch konnten Studien in der Vergangenheit wiederholt Assoziationen zwischen verschiedenen Faktoren und einem erhöhten Erkrankungsrisiko herstellen. Gleich in mehreren Studien konnte eine positive Korrelation zwischen einer chronischen Antigenstimulation im Sinne einer Autoimmunerkrankung oder chronischen Infektion und einem erhöhtem Erkrankungsrisiko gezeigt werden *(Brown et al. 2008, Malik et al. 2002, Pasqualetti et al. 1996).*

Darüber hinaus deutet eine aktuell publizierte Studie von Landgren et al. auf ein erhöhtes Erkrankungsrisiko übergewichtiger Personen hin. Frauen mit einem *body mass index* (BMI) über 30 kg/m² wiesen in der Studie ein etwa doppelt so hohes Erkrankungsrisiko wie normalgewichtige Frauen auf *(Landgren et al. 2010)*.

Ionisierende Strahlung stellt einen weiteren häufig diskutierten Risikofaktor dar. In den letzten Jahren wurden zu diesem Thema immer wieder kontroverse Studien publiziert *(Alexander et al. 2007)*. In einer neueren Studie aus dem Jahr 2009 wurde eine erhöhte Prävalenz exponierter Personen ermittelt (*Iwanaga et al. 2009).*

Obwohl MGUS keine Erberkrankung darstellt, kann sie doch familiär gehäuft auftreten. In Studien von Landgren et al. und Vachon et al. konnte gezeigt werden, dass das Risiko der Verwandten ersten Grades von MGUS Patienten selbst eine MGUS zu entwickeln etwa um den Faktor zwei bis drei erhöht ist *(Landgren et al. 2009a, Vachon et al. 2009).*

1.3 Klinik

Da die MGUS in der Regel asymptomatisch verläuft und keine Beschwerden verursacht, ist die Diagnose meist ein Zufallsbefund. Eine MGUS selbst ist nicht therapiebedürftig, um aber ein Fortschreiten der Erkrankung frühzeitig zu erkennen, sollten jedoch alle Patienten regelmäßig ärztlich untersucht werden. Treten beim Patienten Beschwerden wie Anämie-assoziierte Symptome, Knochenschmerzen, Osteoporose, Niereninsuffizienz oder rezidivierende Infekte auf, ist dies meist ein Zeichen für ein MM oder eine Leichtketten (AL-)Amyloidose *(Bladé et al. 2006).*

1.4 Diagnosestellung

Da MGUS keine Beschwerden verursacht, ist ein erhöhtes Serumprotein, das als M-Gradient in der Serumelektrophorese sichtbar wird, häufig der einzige Hinweis. Um den klonalen Ursprung des Immunglobulins nachzuweisen und eine Differenzierung zwischen den verschiedenen Leicht- und Schwerkettenproteinen (IgG, IgA, IgM, IgD, Kappa, Lambda) treffen zu können, muss als weiterer Schritt eine Immunfixationselektrophorese angefertigt werden. Zum sicheren Ausschluss eines MM muss unter Umständen zusätzlich eine Knochenmarkaspiration und eine bildgebende Untersuchung des gesamten Skelettes durchführt werden *(Bladé et al. 2008, Cook et al. 2007).*

1.5 Diagnosekriterien

Im Jahr 2003 veröffentlichte die „International Myeloma Working Group“ (*The International Myeloma Working Group 2003*) folgende Kriterien, die zur Diagnose einer MGUS erfüllt sein müssen:

Tabelle 1: Diagnosekriterien einer MGUS

Es müssen alle drei Kriterien erfüllt sein

I.	Nachweis von < 10 % Plasmazellen Im Knochenmark
II.	Nachweis eines monoklonalen Proteins im Serum und/oder Urin < 30 g/l oder Kappa- /Lambda-Leichtketten im Urin < 1000 mg / 24h
III.	Kein Nachweis von Myelom assoziierten Gewebe- oder Organschäden o [C] Hyperkalzämie o [R] Nierenninsuffizienz o [A] Anämie o [B] Osteolysen oder Osteoporose

CRAB= Calcium (elevated); Renal failure; Anemia; Bone lesions

Die Diagnose eines MM setzt den Nachweis von über 10 % Plasmazellen im Knochenmark und/oder das Vorhandensein typischer Myelom-assoziierter Endorganschäden voraus.
Das MM wird weiter unterteilt in ein symptomatisches MM (mit Endorganschäden) und dem sogenannten asymptomatischen, früher auch als „smouldering“ („schwelendes“) multiple myeloma (SMM) bezeichnet.
Ein asymptomatisches MM liegt dann vor, wenn bei dem Patienten ein monoklonales Protein über 30 g/l im Blut oder über 10 % Plasmazellen im Knochenmark nachweisbar sind. Hierbei darf allerdings kein Anhalt für einen Endorganschaden vorhanden sein.
Das sogenannte Plasmozytom ist im Gegensatz zum MM charakterisiert durch das Vorliegen eines einzelnen Plasmazelltumors, welcher histologisch gesichert sein muss. Das restliche Knochenmark stellt sich häufig unauffällig dar, d.h. ohne einen Anhalt für eine klonale Plasmazellvermehrung. Die Diagnose eines Plasmozytoms ist nur gültig, wenn außer dem solitären Tumorherde keine weiteren Organschäden vorhanden sind.

Häufig ist in der Immunfixationselektrophorese beim solitären Plasmozytom kein M-Protein nachweisbar sein. Bei ca. 50 % der Patienten ist jedoch ein geringes M-Protein im Serum oder Urin zu finden *(Dimopoulos et al. 2000).*

Tabelle 2: Diagnosekriterien der "International Myeloma Working Group (IMWG)"

	MGUS	Asymptomatisches Multiples Myelom	Multiples Myelom	Plasmozytom
Plasmazellanteil im Knochenmark	< 10 %	< 10 % oder	> 10 %	> 10 %
Konzentration des monoklonalen Proteins im Serum oder Urin	IgG < 30g/l LK < 1g/d	IgG > 30 g/l LK > 1 g/d	vorhanden	IgG < 30 g/l LK > 1 g/d
Organschaden [CRAB]	Kein Organschaden	Kein Organschaden	Hyperkalzämie Niereninsuffizienz Anämie Osteolysen	Eine Osteolyse, kein weiterer Organschaden

CRAB= Calcium (elevated); Renal failure; Anemia; Bone lesions

1.6 MGUS und freie Leichtketten

Plasmazellen produzieren Immunglobuline, die in der Regel genau einen Leichtkettentyp (κ oder λ) und einen Schwerkettentyp (μ, γ, α, δ, ε) enthalten. Um die Bildung intakter Immunglobuline sicher zu stellen, werden leichte Ketten im Vergleich zu schweren Ketten mit einem Überschuss von rund 40 % gebildet (*Waldmann et al. 1972).* Diese werden als freie Leichtketten ins Blut abgegeben.

Freie Leichtketten sorgten zum ersten Mal für Aufsehen, als Henry Bence Jones 1846 im Urin eines an einem MM erkrankten Mannes ein Protein fand, welches zwar wie gewöhnlich bei Temperaturen über 40°C präzipierte, dann aber erstaunlicherweise bei weiterem Erhitzen auf noch höhere Temperaturen wieder in Lösung überging. Ein auf diesem Phänomen basierenden Test zum Nachweis der „Bence Jones"-Proteine im Urin legte den Grundstein für eine klinische Verwendung dieser Eiweiße als „Tumormarker" des MM.

Die Tatsache, dass es sich bei „Bence Jones"-Proteinen um freie Leichtketten handelt, wurde allerdings erst 117 Jahre später von Edelman und Gally aufgeklärt *(Kyle* und *Rajkumar 2009).*

Die Konzentration der freien Leichtketten im Serum ist abhängig von der Produktionsrate der Plasmazellen und der Ausscheidung über die Nieren *(Bradwell 2005, Dispenzieri et al. 2009).*

Freie Leichtketten werden aufgrund ihrer Größe (20 - 25 kDa) frei glomerulär filtriert und später im proximalen Tubulus reabsorbiert und metabolisiert.

Die tägliche Produktion von Leichtketten im Körper eines Gesunden beträgt ungefähr 0,5 bis 1 g pro Tag. Im Vergleich hierzu liegt die tägliche Reabsorptionskapazität der Nieren bei 10-30 g pro Tag. Zusammenfassend werden unter normalen Umständen also kaum freie Leichtketten mit dem Urin ausgeschieden und es bedarf einer stark erhöhten Serumkonzentration bis es zu einer Überschreitung der Resorptionskapazität der Niere und damit zu einer manifesten Bence Jones-Proteinurie kommt *(Bradwell et al. 2003, Bradwell 2005).*

Vor dem Jahr 2001 konnten freie Leichtketten quantitativ nur im Urin bestimmt werden. Dies hatte den Nachteil, dass die gemessenen Werte stark von der Nierenfunktion des jeweiligen Patienten abhingen und in Folge dessen nur eine eingeschränkte Reliabilität

aufwiesen. Darüber hinaus stellt das Sammeln eines 24-Stunden Urins häufig vor allem für ältere Patienten eine Schwierigkeit dar und kann in Folge zu Verfälschung der Werte führen *(Bradwell et al. 2003).*

Im Jahre 2001 wurde ein diagnostischer Test entwickeln, der freie Leichtketten mit einer hohen Sensitivität und Spezifität auch im Serum nachweisen lies. Das Verfahren basiert auf einem polyklonalen Antiserum, welches sich selektiv gegen Epitope der Leichtketten richtet, die in intakten Immunglobulinen versteckt liegen und damit nur in freien Leichtketten gebunden und detektiert werden können (Abb. 1).

Die gebildeten Immunkomplexe werden schließlich durch einen Latex verstärkten nephelometrischen Assay gemessen *(Bradwell et al. 2001).*

Aus früheren Studien wusste man, dass das Auftreten einer Bence Jones-Proteinurie auch in MGUS als unabhängiger negativ-prognostischer Faktor zu werten ist *(Baldini et al. 1996, Cesana et al. 2002).*

Im Jahr 2005 konnten Rajkumar et al. zeigen, dass auch ein abnormer Quotient der Leichtketten im Serum einen negativen prädiktiven Faktor darstellt, der mit einem erhöhten Progressionsrisiko assoziiert ist. Die normale Kappa-/Lambda-Leichtketten Ratio im Serum liegt zwischen 0,26 und 1,65. Ein abnormaler Leichtketten Quotient über 1,65 zeigt einen pathologischen Anstieg der Kappa- Leichtketten an, während ein Quotient unter 0,26 für einen pathologischen Anstieg der Lambda Leichtketten spricht *(Rajkumar et al. 2005).*

Eine polyklonale Gammopathie oder eine renale Funktionseinschränkung führen zu einem parallelen Anstieg der Kappa- und Lambda-Leichtketten im Serum, so dass sich der Quotient dieser beiden im Normalfall nicht verändert. Hingegen wird ein isolierter Anstieg der Kappa- oder Lambda-Leichtketten und damit ein erhöhter oder erniedrigter Leichtketten-Quotient als Marker der klonalen Expansion betrachtet *(Katzmann et al. 2002).*

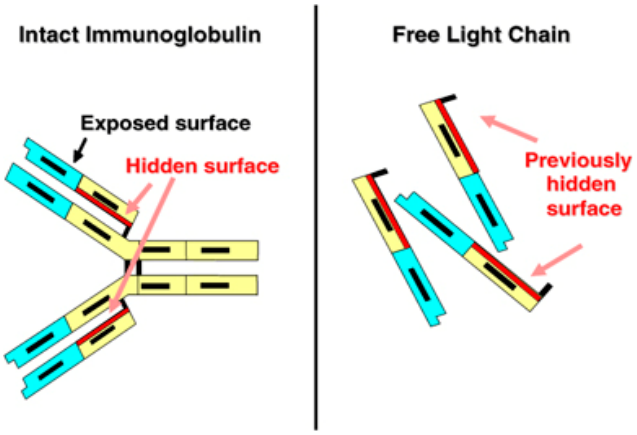


Abbildung 1: Darstellung zur Erläuterung des Nachweises der freien Leichtketten im Serum
Die im linken Bild als „hidden surface" (dt. versteckte Oberfläche) bezeichnete Seite dient als Bindungsstelle für das Antiserum gegen freie Leichtketten. (Grafik aus Dispenzieri et al., Leukemia 2009).
Mit freundlicher Genehmigung von Nature Publishing Group

1.7 Pathogenese und genetische Veränderungen

1.7.1. Plasmazellentwicklung

Die Entwicklung der Plasmazellen beginnt ausgehend von einer pluripotenten hämatopoetischen Stammzelle, die sich im Knochenmark über die Entwicklungsstufen der pro-, prä- und unreifen B-Zelle zu einer reifen naiven B- Zelle entwickelt *(Tarlinton 1994)*. Charakteristisch für die frühe B-Zell-Entwicklung ist der Prozess der V(D)J Rekombination. Darunter versteht man eine Umlagerung der Gene, die für die variablen Regionen der schweren und leichten Immunglobulinketten kodieren *(Coupland et al. 2000, Küppers et al. 1999, Schwartz 1995).* Nach erfolgreichem Abschluss dieses Entwicklungsschritts entstehen unreife B-Zellen, die nun erstmals vollständige IgM Antikörper auf ihrer Oberfläche exprimieren *(Coupland et al. 2000).*

Nur unreife B-Zellen, die Selbsttoleranz besitzen und nicht mit Autoantigenen reagieren, können sich im nächsten Schritt zu reifen naiven B-Zellen weiter entwickeln und in die peripheren lymphatischen Gewebe einwandern *(Benschop* und *Cambier 1999, Küppers et al. 1999).* Im weiteren Verlauf der B- Zell-Entwicklung können aufgrund ihrer Eigenschaften und ihrer Entwicklung zwei verschiedene Arten von Plasmazellen unterschieden werden *(Bergsagel* und *Kuehl 2001, Ho et al. 1986).* Kurzlebige Plasmazellen (3-5 Tage) entwickeln sich nach Antigenstimulation aus B-Zellen der Primärfollikel. Sie sezernieren niedrig affine Antikörper, die meist vom IgM-Typ sind. Langlebige Plasmazellen hingegen haben eine durchschnittliche Lebensdauer von 30 Tagen. Sie differenzieren sich im Knochenmark aus eingewanderten Plasmoblasten, die zuvor in den Keimzentren der Lymphknoten oder der Lymphfollikel anderer lymphatischer Organe im Rahmen der sog. Keimzentrumsreaktion verschiedene Desoxyribonukleinsäure (DNA) Modifikationsvorgänge wie die somatische Hypermutation oder den IgH-Isotypenwechsel durchlaufen haben *(Bergsagel* und *Kuehl 2001, Coupland et al. 2000, Ho et al. 1986).*

Somatische Hypermutationen und IgH-Isotypenwechsel repräsentieren Schlüsselstellen im Rahmen der Entwicklung und der Ontogenese langlebiger Plasmazellen. Ziel der somatischen Hypermutation ist es, Antikörper mit einer gesteigerten Affinität gegenüber präsentierten Antigenen zu generieren. Dies wird durch Einfügen von Punktmutationen, De-

letionen und Duplikationen in die DNA der variablen IgH Region erreicht *(Coupland et al. 2000, Jacobs* und *Bross 2001, Küppers et al. 1999, Küppers* und *Dalla-Favera 2001).*

Ausgehend von einem IgH Isotypenwechsel kommt es zu einer Änderung der exprimierten Immunglobuline von IgM und IgD zu den Isofomen IgA, IgG, IgD und IgE. Dies entspricht einer Veränderung der Funktionalität der exprimierten Antikörper, die Spezifität hingegen bleibt unverändert *(Bergsagel* und *Kuehl 2001, Küppers et al. 1999).*

MM gehen aus einem malignen Klon langlebiger Plasmazellen hervor. Doppelstrangbrüche, die im Rahmen DNA-spezifischer Modifikationsprozesse entstehen, können zu reziproken Translokationen und in Folge zur Immortalisierung der Plasmazellen führen *(Hallek et al. 1998, Jacobs* und *Bross 2001, Kuehl* und *Bergsagel 2002, Küppers et al. 1999, Küppers* und *Dalla Favera 2001, Papavasiliou* und *Schatz 2000).*

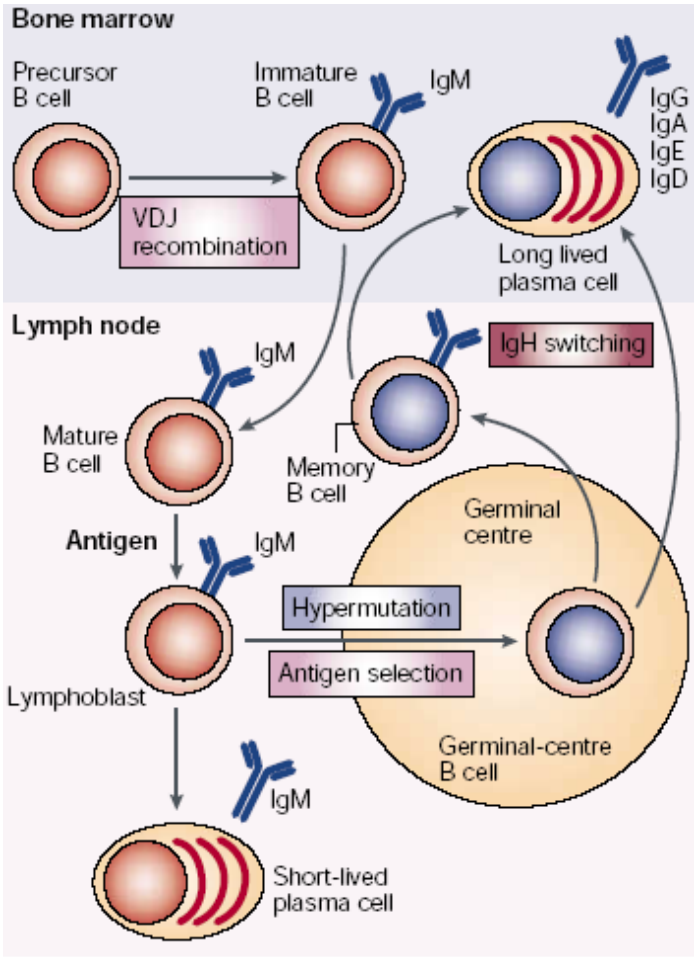


Abbildung 2: Schematische Darstellung zur Entwicklung und Reifung einer normalen Plasmazellein den lymphatischen Organen (aus *Kuehl* und *Bergsagel 2002)*
Mit freundlicher Genehmigung von Nature Publishing Group

1.7.2 Häufige genetische Aberrationen

a) IgH Translokationen

Mittels Fluoreszenz In-situ-Hybridisierung (FISH) konnten in ca. 50 % der Patienten mit MGUS primäre Translokationen in den Genen, die für die schweren Kette des Immunglobulins (IgH) kodieren, gefunden werden (*Avet-Loiseau et al. 2002, Chiecchio et al. 2009b, Fonseca et al. 2004*). Bei Patienten mit MM lag die Inzidenz mit 55-70 % nur geringfügig höher (*Avet-Loiseau et al. 2002, Fonseca et al. 2004, Moreau et al. 2002).*

Primäre IgH (14q32) Translokationen entstehen durch DNA-Doppelstrangbrüche im Rahmen der B-Zell spezifischen DNA-Modifikation in den Keimzentren der Lymphknoten oder in den Lymphfollikeln anderer lymphatischer Organe. Häufig entstehen genomische Veränderungen während des Isotypenwechsels, seltener im Rahmen der somatischen Hypermutation.

Bis heute sind fünf primäre IgH Translokationen bekannt. Sie alle haben die Dysregulation eines spezifischen Onkogens durch regulatorische Sequenzen des IgH-Locus zur Folge (*Bergsagel et al. 2001, Kuehl* und *Bergsagel 2005*).

Primäre Translokationen, die bei MGUS und dem MM vorkommen sind in Tabelle 3 zusammengefasst. Es bleibt hinzuzufügen, dass nicht alle Translokationspartner mit der gleichen Häufigkeit auftreten. Insbesondere die Translokation t(11;14) (q13;q32) wurde in mehreren Studien mit der höchsten Inzidenz beschrieben *(Avet-Loiseau et al. 1999, Avet-Loiseau et al. 2002).*

Sekundäre Translokationen sind seltene Ereignisse in MGUS Zellen. Im Gegensatz zu primären Translokationen entstehen sie nicht durch B-Zell spezifische DNA- Modifikationen, betreffen seltener den IgH-Locus und sind meist unbalanciert und von komplexer Struktur *(Kuehl und Bergsagel 2002, Kuehl und Bergsagel 2005).*

Tabelle 3: Primäre 14q32 Translokationen

Chromosomale Bande	*Onkogen*
4p16	MMSET / FGFR3
6p21	Cyclin D3
11q13	Cyclin D1
16q23	c-MAF
20q11	MAFB

b) Veränderungen von Chromosom 13

In mehreren Interphase FISH Studien an MGUS Zellen wurde ein häufiges Auftreten von Aberrationen des langen Arms von Chromosom 13 beschrieben. Die Häufigkeit der Veränderung variierte in den verschiedenen Studien von 15 %-50 % (*Avet-Loiseau et al. 1999, Avet-Loiseau et al. 2002, Chiecchio et al. 2009, Fonseca et al. 2002a, Königsberg et al. 2000).* Damit liegt die mittlere Inzidenz einer 13q Deletion etwas geringer als bei einem MM, wo sie ca. 50 % beträgt und mit einer schlechteren Prognose assoziiert ist *(Fonseca et al.2002c; Fonseca et al. 2004).* Bis heute gibt es kontroverse Studien zu der Frage, ob eine Deletion 13q auch in einer MGUS einen negativ prognostischen Marker darstellt (*Brousseau et al. 2007).*

c) Aneuploidie

Unter Aneuploidie versteht man das Vorliegen einer numerischen Chromosomenaberration und folglich eine Abweichung vom normalen (euploiden) Chromosomensatz einer Zelle. Aneuploide Chromosomensätze können sowohl in MGUS- als auch in Myelom-Zellen häufig nachgewiesen werden (*Fonseca et al. 2004*).

In einer Studie konnten Brousseau et al (2007) mittels Interphase FISH bei 54 % der MGUS Patienten einen hyperdiploiden Karyotyp (48 - 75 Chromosomen) beobachten. Diese sind meist mit Trisomien der ungeradzahligen Chromosomen 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 und 21 assoziiert *(Fonseca et al. 2004, Kuehl et al. 2005).*

Nicht-hyperdiploide Chromosomensätze (< 48 oder > 75 Chromosomen) können weiter unterteilt werden in hypodiploid, pseudodiploid oder subtetraploid (*Fonseca et al. 2004,*

Kuehl et Bergsagel 2005). Einen hypodiploiden Karyotyp wiesen in der gleichen Studie nur 11,5 % der MGUS Patienten auf (*Brousseau et al. 2007).*

Nicht-hyperdiploide Karyotypen weisen im Gegensatz zu hyperdiploiden Karyotypen eine höhere Prävalenz von IgH Translokationen auf (> 85 % vs. <30 %) *(Chiecchio et al. 2009, Fonseca et al. 2003b*; *Fonseca et al. 2004, Smadja et al. 2003*).

Desweiteren war das Auftreten von Deletionen des Chromosoms 13 signifikant häufiger mit einem nicht-hyperdiploiden Karyotyp assoziiert *(Chiecchio et al. 2009*; *Fonseca et al. 2004, Smadja et al. 2001).*

1.7.3 Stufenmodell zur Pathogenese klonaler Plasmazellerkrankungen

Ein weithin akzeptiertes Modell, welches die oben genannten Ergebnisse zusammenfasst, postuliert, dass man, je nach Anzahl der Chromosomen, zwei (sich weitgehend gegenseitig ausschließende**)** Wege in der frühen Pathogenese des MM unterscheiden kann: Hyperdiploide Plasmazellen mit multiplen Trisomien der Chromosomen 3,5,7,9,11,15,19, 21 gehen typischerweise mit einer geringeren Prävalenz von Aberrationen des 13. Chromosoms einher und lassen sich daher von nicht-hyperdiploiden Plasmazellen mit rekurrenten IgH Translokationen und einer höheren Prävalenz von Veränderungen des Chromosoms 13 abgrenzen *(Hideshima et al. 2004; Kuehl* und *Bergsagel 2005).*

Beide Wege repräsentieren häufige genetische Veränderungen, die zu Immortalisierung der Plasmazellen führen und bereits früh in MGUS-Zellen nachweisbar sind (Abb. 3) *(Hideshima et al. 2004, Kuehl* und *Bergsagel 2005).*

Aufgrund genetischer Instabilität des Plasmazellklons können im Laufe der Erkrankung weitere genetische Veränderungen auftreten und zur malignen Transformation der Plasmazellen führen. Diese werden in MGUS-Zellen allerdings nur sehr selten nachgewiesen und sind in nahezu allen Fällen mit dem Übergang in eine behandlungsbedürftige Erkrankung assoziiert *(Hallek et al. 1998, Hideshima et al. 2004, Kuehl* und *Bergsagel 2005).*

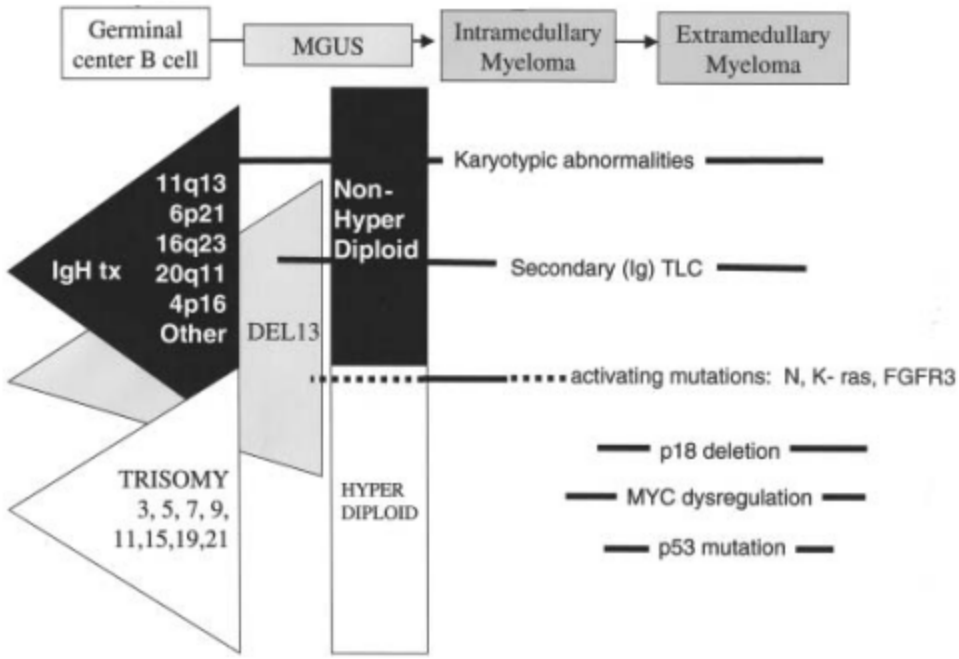


Abbildung 3: Stufenmodell zur Pathogenese des Multiplen Myeloms (aus Kuehl und Bergsagel 2005) modifiziert

1.8 Die Rolle der MGUS in der Pathogenese des Multiplen Myeloms

Eine bisher ungeklärte Frage war, ob allen MM eine MGUS vorausgeht, oder ob diese auch *de novo* entstehen können. Zu diesem Thema wurden im Jahr 2009 zwei Studien veröffentlicht.

Landgren et al. hatte hierzu im Rahmen einer Präventionsstudie 77476 gesunde Personen beobachtet. Von ihnen entwickelten 71 ein MM. Anhand von Serumproben, die von allen Patienten zwei bis zehn Jahre vor Diagnosestellung gesammelt worden waren, konnte man zeigen, dass alle 71 Patienten bereits vor Diagnosestellung positive Serumproben aufwiesen. Das heißt, dass alle 71 Patienten bereits vor der Diagnose des MM die Kriterien einer MGUS erfüllt hatten (*Landgren et al. 2009b).*

Ähnliches konnten Weiss et al. in einer Studie an 30 US-Veteranen, die an einem MM erkrankt sind, zeigen. Anhand von Serumproben, die zwei bis zehn Jahre vor Diagnosestellung abgenommen und aufbewahrt worden waren, konnte nachgewiesen werden, dass bei 27 (90 %) von ihnen vor der Diagnose des MM bereits eine MGUS vorgelegen hatte (*Weiss et al. 2009*). Dies spricht dafür, dass jedes MM aus einer vorausgehenden MGUS entsteht. Interessant ist hierbei, dass sich die Sekretion des jeweiligen monoklonale Proteins im Krankheitsverlauf erheblich variieren kann. In einer der Patientengruppen bleibt das monoklonale Protein bis kurz vor der Diagnose stabil und erst dann kommt es zu einem plötzlichen starken Anstieg. In diesem Fall spricht man auch von einer „non-evolving“ MGUS. Demgegenüber lässt sich in der zweiten Patientengruppe schon von Beginn an ein stetiges Ansteigen des Serumproteins beobachten (sog. „evolving“ MGUS) (*Rosinõl et al. 2007*).

1.9 Prognose und Risikostratifizierung

Das Risiko eines MGUS Patienten an einem MM oder einem Plasmozytom zu erkranken, liegt bei 1 % pro Jahr. Dieses Risiko ist unabhängig vom Alter des Patienten oder der Dauer der Erkrankung (*Kyle et al. 1978, Kyle et al. 2002*).

In den letzten Jahren ist es allerdings gelungen mehrere Faktoren ausfindig zu machen, die das Risiko einer malignen Transformation genauer beschreiben. So konnten Kyle et al. an 1384 Patienten der Mayo Clinic von 1960 bis 1994 zeigen, dass die initiale Höhe des monoklonalen Proteins im Serum ein wichtiger und unabhängiger Risikofaktor für eine Progression der Erkrankung darstellt. Die Höhe des Serum-M-Proteins bei der Diagnosestellung korreliert direkt mit dem weiteren Progressionsrisiko (*Kyle et al. 2002*).

Als ein weiterer Risikofaktor konnte innerhalb der gleichen Studie der „Subtyp“ des monoklonalen Proteins identifiziert werden. Patienten, deren Paraprotein nicht vom Typ IgG sondern vom Typ IgM oder IgA war, wiesen ein höheres Progressionsrisiko als Patienten mit einem IgG Paraprotein auf (*Kyle et al. 2002*).

Rajkumar et al. konnten im Jahr 2005 an der gleichen Patientenkohorte der Mayo Clinic zeigen, dass ein abnormes Verhältnis der freien Kappa- und Lambda-Leichtketten im Serum einen weiteren negativ prognostischen Faktor darstellt. Patienten mit einem abnormen Leichtkettenquotient hatten unabhängig von Höhe und Subtyp des monoklonalen Proteins ein signifikant höheres Progressionsrisiko im Vergleich zu Patienten mit einem normalem Leichtketten-Quotienten (*Rajkumar et al. 2005*). Anhand dieser Risikofaktoren können nun verschiedene Risikogruppen unterteilt werden: Patienten mit allen drei Risikofaktoren gehören der Hochrisikogruppe an. In den Beobachtungen von Rajkumar SV, Kyle RA, Therneau TM et al. (*2005*) hatten diese Patienten ein 20-Jahres-Progressionsrisiko (Risiko des Übergangs in ein MM) von 58 %. Im Vergleich hierzu hatten Patienten mit nur zwei dieser Risikofaktoren ein mittleres Progressionsrisiko von 37 % in 20 Jahren. Patienten, die nur einen dieser negativen Marker aufwiesen, hatten über den gleichen Zeitraum ein Risiko von 21 % an einem MM zu erkranken.

Patienten, bei denen man zum Zeitpunkt der Diagnosestellung keinen der genannten Risikofaktoren feststellen konnte, wurden der Gruppe mit einem niedrigen Risiko zugeordnet. Diese Gruppe hatte ein Risiko von 5 % über 20 Jahre eine maligne Progression der

MGUS zu erleiden (*Rajkumar et al. 2005*).

Neuere Studien sprechen allerdings dafür, dass auch der Verlauf des monoklonalen Proteins im Serum ein Risikofaktor für eine maligne Transformation darstellen kann. In einer Studie der Mayo Clinic mit 359 Patienten wiesen Patienten mit einer „evolving" MGUS eine höhere Transformationsrate und eine kürzere Progressionszeit auf als Patienten mit einer „non-evolving" MGUS (*Rosinõl et al. 2007).*

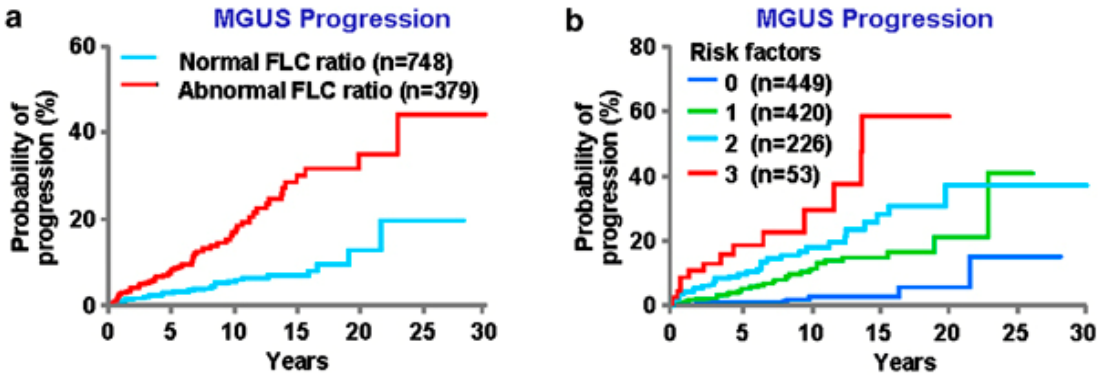


Abbildung 4: Progressionsrisiko in MGUS (monoklonale Gammopathie unbestimmter Signifikanz)
a) basierend auf dem Quotienten der freien Kappa- und Lambda Leichtketten im Serum in1148 Patienten (nach Rajkumar et al.2005)
b) basierend auf einem Risikostratifikationsmodell mit drei verschiedenen Variablen in 1148 Patienten. In die Berechnung ging sowohl der Quotient der der freien Leichtketten im Serum als auch die Höhe und Subtyp des monoklonalen Proteins ein. (nach Rajkumar et al. 2005) (Beide Grafiken modifiziert nach Dispenzieri et al; Leukemia 2009)
Mit freundlicher Genehmigung von Nature Publishing Group

1.10 Zielsetzung der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit war die retrospektive Untersuchung eines Kollektivs von 110 MGUS Patienten, die im Zeitraum von 1989 bis Januar 2009 im Universitätsklinikum Ulm betreut wurden.

MGUS ist als Vorstufe oder Präkanzerose des MM beschrieben. In den letzten Jahren konnte nicht nur gezeigt werden, dass nahezu jedem MM eine bereits vorbestehende MGUS zu Grunde liegt. Es konnten weiterhin auch klinische Faktoren evaluiert werden, die den Übergang in ein MM wahrscheinlicher machen.

Auf genomischer Ebene wurde ein „Stufenmodell“ etabliert, welches basierend auf verschiedenen Aberrationen den Übergang einer MGUS in eine maligne Plasmazellerkrankung beschreibt.

Aus diesem Grund war von besonderer Interesse wie sich das untersuchtes Kollektiv hinsichtlich typischer klinischer, laborchemischer und zytogenetischer Parameter eines MM verhält. Zu diesem Zweck wurden in einer Datenbank die Ergebnisse einer FISH Analyse sowie die klinischen und laborchemischen Daten der gespeicherten Arztbriefe gesammelt und ausgewertet.

2. Patienten, Material und Methoden

2.1 Auswahl der Patienten

Mit Hilfe des elektronischen Arztbriefsystems der Klinik für Innere Medizin III (PMS III) konnten 110 Patienten identifiziert werden, die im Zeitraum von 1989 bis Januar 2009 ambulant oder stationär mit der Diagnose MGUS in der Klinik betreut wurden.
Um in die Analyse aufgenommen zu werden, mussten die Patienten die Diagnosekriterien der *„International Myeloma Working Group (IMWG)“* für das Vorliegen einer MGUS erfüllen (siehe Tabelle 1).

2.2 Ausgewertete klinische Daten

Die für die Analyse relevanten Parameter konnten meist aus den Arztbriefen der Patienten entnommen werden. Zusätzlich konnte auf die in der Datenbank gespeicherte Labordaten der Patienten zurückgegriffen werden.
Alle Parameter, die in die Analyse mit einbezogen wurden, sind unten aufgeführt (Tab. 4-6). Die im Kliniklabor gebräuchlichen Normwerte sind im Anhang aufgelistet.

Tabelle 4: Allgemeine Parameter

Allgemeine Parameter
Geburtsdatum
Zeitpunkt der Erstdiagnose
Alter bei Erstdiagnose
Zeitpunkt der Erstvorstellung
Letzter Kontakt

Tabelle 5: Klinische Parameter

Klinische Parameter
Schwere Kette (IgG; IgM; IgA; keine) des monoklonalen Proteins
Leichte Kette (Kappa; Lambda) des monoklonalen Proteins
Plasmazellanteil im Knochenmark
Periphere Neuropathie?
Leichtketten-Amyloidose?
Komplikationen?
Progression (Multiples Myelom oder Plasmozytom)

Tabelle 6: Laborparameter

Laborparameter	
Leukozyten	Giga/l
Hb	g/dl
MCV	fl
Thrombozyten	Giga/l
Kalzium	µmol/l
Kreatinin	µmol/l
Laktatdehydrohenase (LDH)	U/l
Beta - 2- Mikroglobulin	mg/l
IgG	g/l
IgA	g/l
IgM	g/l
Freie Kappa-Leichtketten im Serum	mg/l
Freie Lambda-Leichtketten im Serum	mg/l
Kappa-/Lambda-Leichtketten Quotient	entfällt
Protein im Serum	g/l
Albumin im Serum	g/l
Gamma-Globulinfraktion in der Serumelektrophorese	**%**
Monoklonales Protein in der Serumelektrophorese	g/l

2.3 Molekularzytogenetische Aberrationen (FISH)

Mittels FISH wurden Knochenmarkproben von 83 der oben beschriebenen Patienten im Labor der Inneren Medizin III des Universitätsklinikums Ulm auf klonale Aberrationen untersucht. Das Knochenmark wurde im Rahmen der klinischen MGUS Diagnostik entnommen. Die FISH selbst wurde durchgeführt wie beschrieben bei Döhner et al. (1995).

Alle Patienten waren über die geplante molekularzytogenetische Diagnostik aufgeklärt und hatten ihr schriftliches Einverständnis gegeben.
Die Knochenmarkproben wurden mit einem spezifischen Sondensatz auf numerische und strukturelle Aberrationen folgender Loci untersucht: **1p22; 1q21; 6q21; 8p11; 9q34; 11q25; 13q14; 17p13; 22q11.** Zusätzlich wurden weitere Sonden zum Nachweis einer **IgH-Translokation** verwendet.

2.4 Statistische Analyse

Die Eingabe der Daten erfolgte in eine Microsoft Excel-2003-Tabelle.
Die statistische Auswertung erfolgte mit Microsoft Excel-2003.
Zur statistischen Analyse der Daten wurden deskriptive Parameter wie Median, Minimum und Maximum berechnet.
Zum Test auf statistische Abhängigkeit zwischen laborchemischen und zytogenetischen Merkmalen wurde der „Fisher´s Exact Test“ verwendet.

3. Ergebnisse

3.1 Klinik

3.1.1 Alter und Geschlecht

Das untersuchte Patientenkollektiv umschloss 110 Patienten, davon waren 64 (58,2 %) männlich und 46 (41,8 %) weiblich.

Das mediane Alter bei Erstdiagnose betrug 59 Jahre. Der jüngste Patient war 35 Jahre, der älteste Patient 81 Jahre alt. Nur sieben Patienten (6,3 %) hatten bei Erstdiagnose ein Lebensalter von unter 40 Jahren.

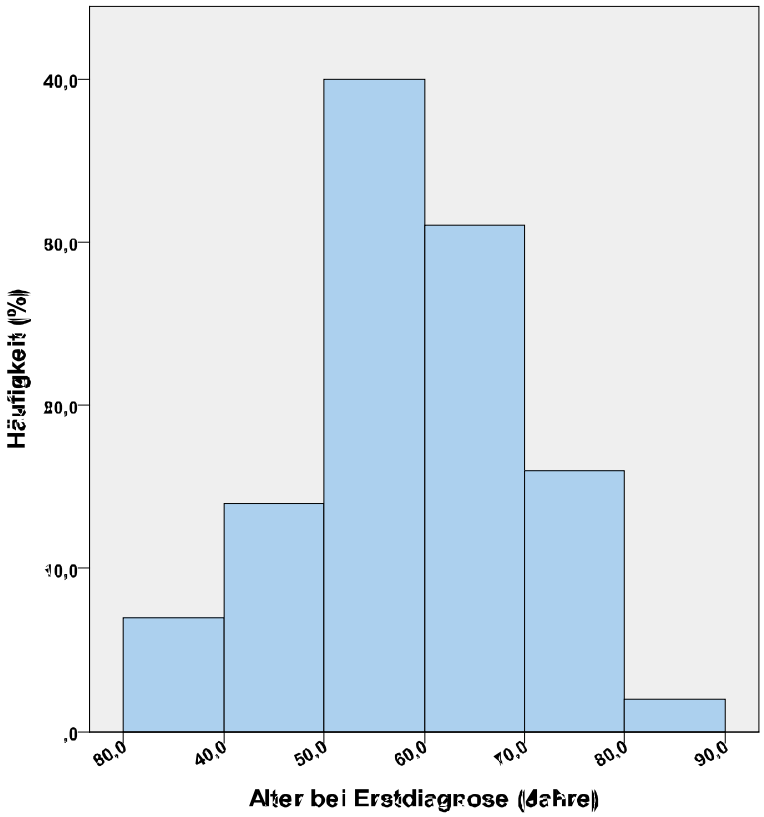


Abbildung 5: Altersverteilung des Gesamtkollektivs der MGUS (monoklonale Gammoptahie unbestimmter Signifikanz) Patienten aus der Klinik für Innere Medizin III des Universitätsklinkums Ulm im Zeitraum von 1989 bis 2009.

3.1.2 Monoklonales Immunglobulin

a) Typ des monoklonalen Proteins

IgG war die häufigste monoklonale Schwerkette im untersuchten Kollektiv (74 Patienten = 67,3 %).

Ein monoklonales Immunglobulin vom Typ IgM oder IgA konnte bei jeweils 16 Patienten (14,5 %) nachgewiesen werden. Bei einem Patienten (0,9 %) wurde eine biklonale Gammopathie IgG/IgA diagnostiziert. Bei drei der 110 Patienten (2,7 %) konnten in der Immunfixation nur monoklonale Leichtketten gefunden werden (LK-MGUS).

Dreiundsechzig Patienten des gesamten Kollektivs (57,3 %) wiesen monoklonale Kappa-Leichtketten auf, während bei den verbliebenen 47 Patienten (42,7 %) monoklonale Lambda-Leichtketten nachgewiesen wurden

b) Konzentration des monoklonalen Proteins bei Erstdiagnose

Das monoklonale Immunglobulin lag im Mittel bei 12,8 g/l (1,03 - 27,1 g/l).

Die mittlere Konzentration der IgG Schwerkette lag bei 12,85 g/l (3,6 - 28,1g/l), die der IgA Schwerkette bei 1,63 g/l (0,25-22,9 g/l) und die der IgM Schwerketten bei 0,74 g/l (0,13 - 23,4 g/l).

Bei 25 Patienten (22,7 %) konnte eine sekundäre Hypogammaglobulinämie festgestellt werden (IgG < 7g/l, IgA < 0,7g/l, IgM < 0,4g/l). Neun Patienten (8,1 %) wiesen eine Reduktion beider polyklonalen Immunglobuline auf.

IgA = Immunglobulin A
IgG = Immunglobulin G
IgM = Immunglobulin M
LK= Leichtketten

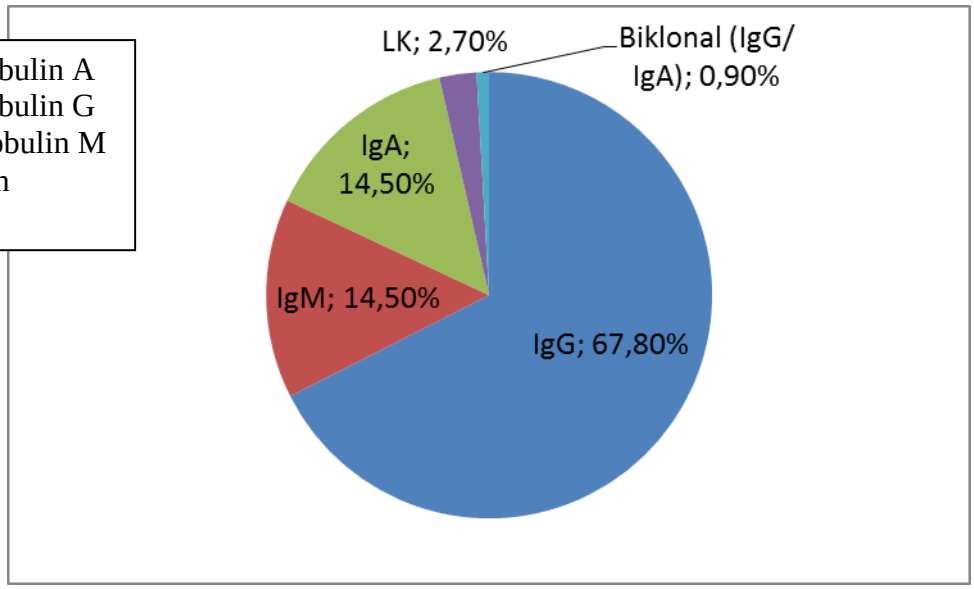


Abbildung 6: Verteilung des monoklonalen Proteins im Gesamtkollektiv der MGUS (monoklonale Gammoptahie unbestimmter Signifikanz) Patienten aus der Klinik für Innere Medizin III des Universitätsklinkums Ulm im Zeitraum von 1989 bis 2009.

3.1.3 Leukozyten, Thrombozyten und Hämoglobin

Der mediane Leukozytenwert lag bei 6,5 G/l. Das Minimum betrug 2,9 G/l und das Maximum 35,0 G/l. Bei sieben Patienten (6,4 %) fand man Leukozytenwerte, die geringfügig unter dem Labor-spezifischen Normwert lagen.

Der mittlere Thrombozytenwert betrug 243 G/l. Die Werte reichten von 83 G/l bis 656 G/l. Bei 7 Patienten (6,4 %) konnte eine leichte Thrombozytopenie (< 150 G/l) diagnostiziert werden. Bei zwei dieser Patienten lag der Thrombozytenwert < 100 G/l. In einem Fall konnte dies mit einer chronischen idiopatischen thrombozytopenischen Purpura (Morbus Werlhof) begründet werden. Im zweiten Fall konnte die Ursache nicht gänzlich geklärt werden. Aufgrund einer gleichzeitigen Vermehrung der Monozyten wurde allerdings der Verdacht auf ein beginnendes myelodysplastisches Syndrom (MDS) gestellt.

Die gemessenen Hämoglobinwerte variierten von 8,8 mg/dl bis 18,3 mg/dl. Der Median betrug 14 mg/dl. Immerhin acht Patienten (7,3 %) wiesen einen Hb-Wert auf, der unter 12 mg/dl lag. In allen acht Fällen war dieser durch eine nicht-Myelom assoziierte Ursache zu erklären: Bei vier Patienten konnte ein Eisenmangel dafür ursächlich gemacht werden. Bei einem Patienten hatte sich im Rahmen einer Leberzirrhose eine makrozytäre Anämie entwickelt und in drei weiteren Fällen konnte eine renale Anämie diagnostiziert werden,

die zweimal im Rahmen einer schon vorbestehenden diabetischen Nephropathie und im dritten Falle durch eine Serum-Amyloid-A assoziierte- (AA-) Amyloidose der Niere verursacht wurde.

Die jeweils sehr hohen Maximalwerte von Leukozyten, Thrombozyten und Hämoglobin konnten mit dem Vorliegen einer Polycythämia vera bei einem der Patienten begründet werden.

3.1.4 Kalzium, Kreatinin, LDH und Beta-2-Mikroglobulin

Die mittlere Kalzium Konzentration des untersuchten Kollektivs lag bei 2,3 mmol/l. Die gemessenen Werte reichten von 2,04 mmol/l bis 2,67 mmol/l.

Die gemessenen Kreatininwerte lagen im Mittel bei 88 µmol/l. Der höchste Wert, der bestimmt wurde, lag bei 265 µmol/l, der niedrigste bei 43 µmol/l. Bei elf Patienten wurde eine eingeschränkte Nierenfunktion diagnostiziert, da ihre Kreatininwerte über dem geschlechtsspezifischen Normwert lagen. Bei drei dieser Patienten war die Kreatininkonzentration über 177 µmol/l (entsprechend 2 mg/dl) gestiegen. Als Ursache hierfür konnte man eine Harnleiterstenose mit konsekutiver Stauungsnephropathie und bei einem anderen Patienten eine diabetische Nephropathie fest machen. Der dritte Patient hatte im Rahmen einer AA-Amyloidose eine Niereninsuffizienz entwickelt.

Der Median der Laktatdehydrogenase (LDH) lag bei 161 U/l. Das Minimum befand sich bei 57 und das Maximum bei 320 U/l. Bei drei Patienten zeigte sich im Labor eine LDH über 280 U/l, welche sich aber durch das jeweilige Vorliegen einer Klappenhämolyse, einer Dermatomyositis oder einem soliden Tumor in jeweils einem Fall begründen ließ.

Die im Serum gemessene Beta-2-Mikroglobulin Konzentration lag im Mittel bei 1,81 mg/l. Die Werte variierten von 0,92 bis 27,0 mg/l. Bei zehn Patienten (9 %) konnten Werte über 3,5 mg/l gemessen werden. In acht dieser zehn Fälle (80 %) war eine gleichzeitige Erhöhung des Kreatinins festzustellen.

3.1.5 Freie Leichtketten

Zum Zeitpunkt der Analyse lagen von 52 Patienten (47,3 %) die Werte der Leichtkettenkonzentrationen und des Kappa-/Lambda-Leichtkettenquotienten im Serum vor. Der Median der freien Kappa-Leichtketten im Serum betrug 19,1 mg/l (1,28 - 463 mg/l); der Median der freien Lambda-Leichtketten 15,6 mg/l (1,60 - 533 mg/l). Der Kappa-/Lambda-Leichtkettenquotient lag im Mittel bei 1,10 (0,01 - 138,21). Sechsundzwanzig der 52 Patienten (50 %) wiesen einen normalen LK-Quotienten auf.

3.1.6 Gesamtprotein und Eiweißelektrophorese

Bei 87 Patienten waren Laborwerte zum Gesamtprotein vorhanden: Sie zeigten einen Median von 75,0 g/l, ein Minimum von 48 g/l und ein Maximum von 97 g/l. Bei neun der 87 Patienten (10,3 %) wurde im Labor ein erhöhtes Gesamtprotein gemessen.

Ergebnisse der Proteinelektrophoresen konnten von 80 Patienten ausgewertet werden. Hieraus konnte ein Median des absoluten Albumins von 44,4 g/l (28,8 - 53,8 g/l) abgeleitet werden. Bei vier Patienten (5,0 %) lagen die absoluten Albuminwerte unter 35 g/l. Bei einem dieser Patienten konnten die Werte im Rahmen eines nephrotischen Syndroms aufgrund einer AA-Amyloidose gewertet werden.

Die Gammaglobulinfraktion erreichte in der Eiweißelektrophorese im Mittel einen Anteil von 17,4 %. Das Minimum wurde bei 2,7 % und das Maximum bei 35,1 % gemessen.

Tabelle 7: Übersicht der ausgewerteten Laborwerte zur Charakterisierung der laborchemischen Merkmale im Gesamtkollektiv der MGUS (monoklonale Gammoptahie unbestimmter Signifikanz) Patienten aus der Klinik für Innere Medizin III des Universitätsklinkums

Laborwert	*Median*	*Minimum*	*Maximum*
Leukozyten	6,5 G/l	2,9 G/l	35 G/l
Thrombozyten	243 G/l	83 G/l	656 G/l
Hämoglobin	14,0 mg/dl	8,8 mg/dl	18,3 mg/dl
Kalzium	2,30 µmol/l	2,04 µmol/l	2,67 µmol/l
Kreatinin	88 µmol/l	43 µmol/l	256 µmol/l
LDH	161 U/l	57 U/l	320 U/l
Beta-2-Mikroglobulin	1,81 mg/l	0,92 mg/l	27,00 mg/l
IgG	12,85 g/l	3,60 g/l	28,10 g/l
IgA	1,63 g/l	0,25 g/l	22,90 g/l
IgM	0,74 g/l	0,13 g/l	23,40 g/l
Freie Kappa-Leichtketten im Serum	19,10 mg/l	1,28 mg/l	463,00 mg/l
Freie Lambda-Leichtketten im Serum	15,60 mg/l	1,69 mg/l	533,00 mg/l
Leichtketten Quotient Kappa / Lambda	1,10	0,01	138,21
Protein	75,0 g/l	48,0 g/l	97,0 g/l
Albumin	44,4 g/l	28,8 g/l	53,8 g/l
Relative Gammaglobulin-fraktion	17,20 %	2,70 %	35,10 %

3.2 Molekularzytogenetik (FISH)

3.2.1 Verteilung der genomischen Aberrationen

Zur Analyse lagen uns Daten von 83 Patienten unseres Kollektivs zur molekulargenetischen Diagnostik vor. Da von einigen Patienten zu wenige Plasmazellen gewonnen werden konnten um alle Analysen durchführen zu können, wird nachfolgend immer die Anzahl der untersuchten Patienten mit angegeben.

In 65 der 83 Fälle (78,3 %) war ein vollständiger Datensatz vorhanden. In 14 dieser 65 Patienten mit vollständigem Datensatz (21,5 %) war keine der zehn untersuchten chromosomalen Regionen aberrant. Bei immerhin 63,0 % (n = 41/65) war mindestens einer der untersuchten Loci aberrant.

32,3 % (n = 21/65) wiesen eine solitäre chromosomale Veränderung auf. Aberrationen von zwei chromosomalen Loci wurde bei 15 der 65 Patienten (23,0 %) und Veränderungen von drei der untersuchten chromosomalen Banden bei neun Patienten (13,8 %) festgestellt. 9,2 % (n = 6/65) wiesen vier oder mehr chromosomale Aberrationen auf.

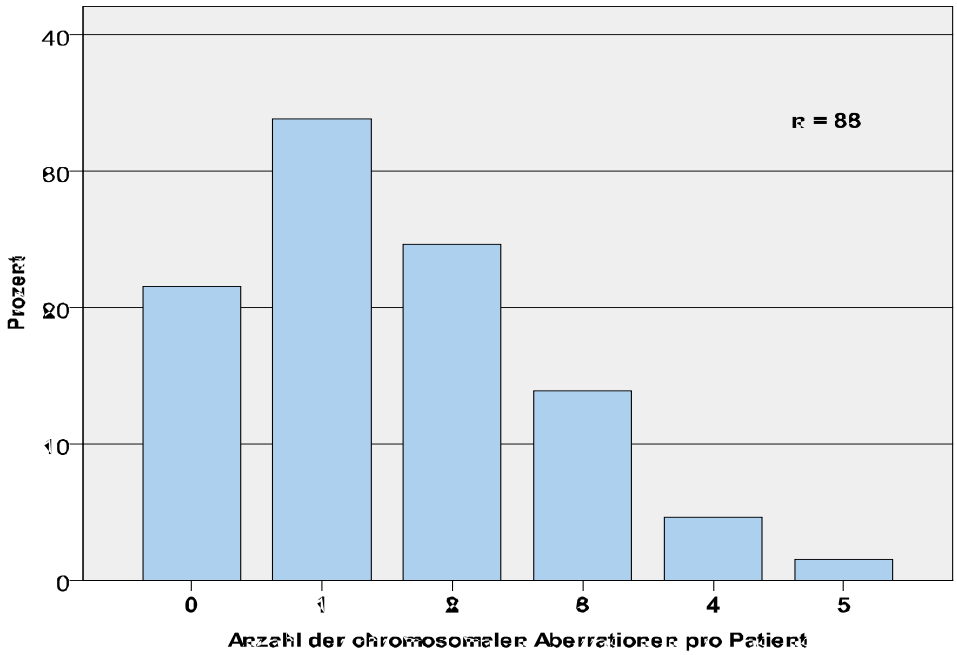


Abbildung 7: Verteilung der genetischen Aberrationen im Gesamtkollektiv der MGUS (monoklonale Gammoptahie unbestimmter Signifikanz) Patienten aus der Klinik für Innere Medizin III des Universitätsklinkums Ulm im Zeitraum von 1989 bis 2009.

3.2.2 Inzidenz chromosomaler Aberrationen

Die häufigste Aberration des untersuchten Kollektivs war eine IgH-Translokation. Sie konnte in 54,9 % (39/71) der Fälle diagnostiziert werden. In absteigender Reihenfolge folgten dann:

- Zugewinne von 9q34 in 22,5 % (n = 18/80);
- Zugewinne von 11q25 in 19,7 % (n = 16/81);
- Deletionen in 13q14 in 18,1 % (n = 15/83);
- Zugewinne von 1q21 in 12,2 % (n = 10/82);
- Zugewinne von 6q 21 in 6,8 % (n = 5/73)
- Deletionen von 22q11 in 5,4 % (n = 4/74) und Zugewinne von 17p13 in 5,1 % (n = 4/78).

Weitere chromosomale Veränderungen wurden jeweils mit einer Häufigkeit von unter 3 % gesehen. Zugewinne von 1p22 und 22q11 sowie Deletionen von 9q34 und 17p13 wurden in keinem der Patienten gefunden.

IgH Translokationen

Knochenmark von 71 Patienten wurde auf das Vorliegen von IgH-Translokationen untersucht. In 39 (54,9 %) dieser Proben konnte eine einfache Translokation nachgewiesen werden. Damit war eine IgH-Translokation die häufigste Aberration im untersuchten Kollektiv.

In 20 der 39 positiven Knochenmarkproben (51,3 %) konnte eine Translokation t(11;14) festgestellt werden. Dies entspricht einem Anteil von 28,1 % (n = 20/71) an allen untersuchten Patienten.

In sieben Proben (17,9 %) konnte Chromosom 4 als Translokationspartner spezifiziert werden. Damit liegt eine Translokation t(4;14) in 9,9 % (n = 7/71) des gesamten Kollektivs vor.

In weiteren sieben Patienten (17,9 %) blieb der genaue Translokationspartner unbekannt, d.h. es lag weder eine t(4;14) noch eine t(11;14) vor.

In fünf der 39 Proben (12,8 %) war keine weitere Subklassifizierung erfolgt.

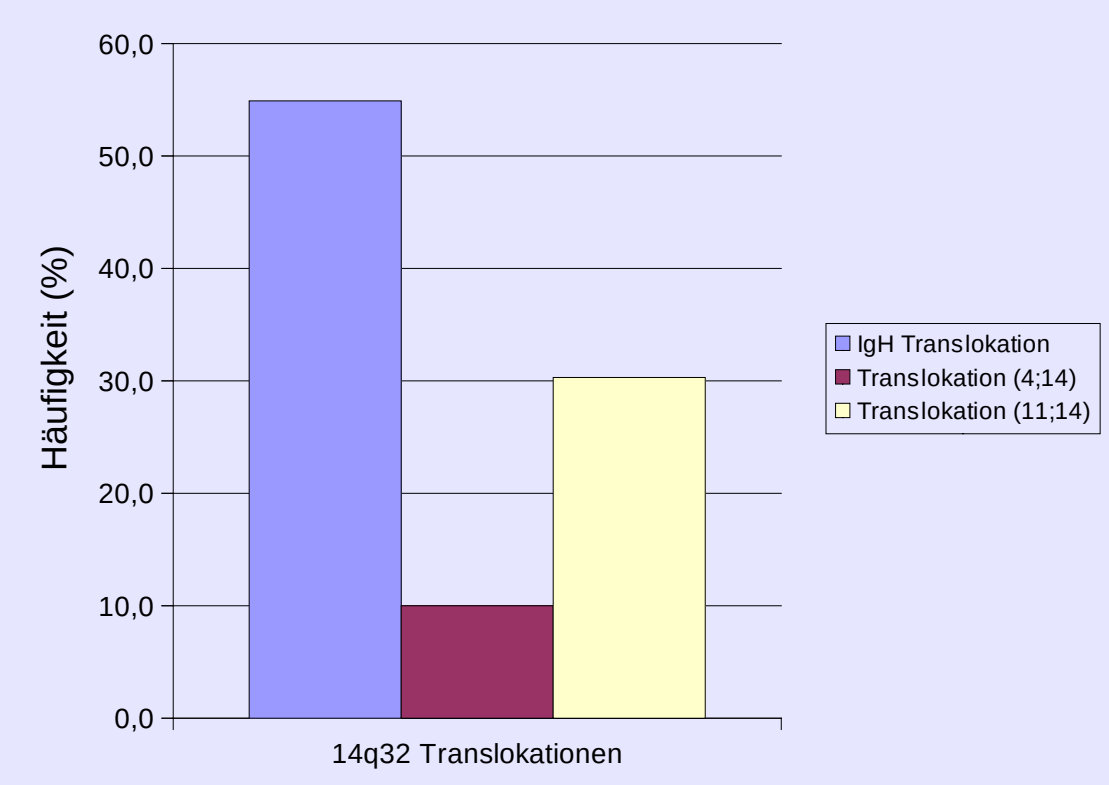


Abbildung 8: Inzidenz der IgH-Translokationen

1p22

Insgesamt wurden 68 Patientenproben auf eine Veränderung in 1p22 untersucht.

In einer Patientenprobe (1,5 %) konnte eine Deletion 1p22 nachgewiesen werden. Zugewinne von 1p22 wurden in keinem der untersuchten Fälle gefunden.

1q21

Insgesamt wurden Proben von 82 Patienten auf eine Veränderung in 1q21 untersucht. Eine Deletion konnte in einem der Patienten (1,2 %) nachgewiesen werden. Zugewinne konnten in zehn Proben (12,2 %) gefunden werden. In neun Fällen lag eine Trisomie und nur in einem der Fälle eine Tetrasomie vor.

6q21

Insgesamt wurden das Knochenmark von 73 Patienten auf Aberrationen der chromosomalen Bande 6q21 untersucht.

Eine Deletion lag bei lediglich einem der Patienten (1,4 %) vor. Ein Zugewinn konnte bei fünf der Patienten (6,8 %) diagnostiziert werden.

Allen fünf Zugewinnen lag jeweils eine Trisomie zugrunde.

8p11

Insgesamt wurden Proben von 77 Patienten zu Veränderungen in der chromosomalen Bande 8p11 untersucht. Die Analyse ergab, dass bei einem Patienten (1,3 %) eine Deletion und bei zwei Patienten (2,6 %) Zugewinne von 8p11 vorlagen. Bei beiden Zugewinnen handelte es sich um eine Trisomie.

9q34

Insgesamt wurden Proben von 80 Patienten auf Aberrationen der chromosomalen Bande 9q34 untersucht. Mit einer Inzidenz von 22,5 % (n = 18) waren Zugewinne des langen Arms von Chromosom 9 die zweit häufigste Aberration hinter den IgH Translokationen. Hierbei handelte es sich in 16 Fällen (20 %) um eine Trisomie und in zwei weiteren Fällen (2,5 %) um eine Tetrasomie. Deletionen wurden in keiner der Proben nachgewiesen.

11q25

Insgesamt wurden 81 Knochenmarkproben auf Veränderungen in der chromosomalen Bande 11q25 untersucht. Zugewinne von 11q25 konnten in 19,7 % (n = 16) diagnostiziert werden. Damit waren Zugewinne des langen Arms von Chromosom 11 die dritthäufigste Aberration des Patientenkollektivs. Eine Trisomie konnte in 13 Patienten (16,0 %) und eine Tetrasomie in drei Patienten (3,7 %) nachgewiesen werden. Eine Deletion lag in lediglich 2,4 % (n = 2) vor.

13q14

Von allen Patienten (n = 83) wurden Knochenmarkproben auf Veränderungen des Chromosoms 13 untersucht. 13q14 Deletionen waren hinter den 11q25 Zugewinnen die vierthäufigste Aberration. Ihre Inzidenz betrug 18,1 % (n = 15). Zugewinne des langen Arms von Chromosom 13 lagen nur in einem Patienten (1,2 %) vor. In diesem Fall handelte es sich um eine Trisomie.

17p13

Insgesamt wurden 78 Patientenproben auf Aberrationen des kurzen Arms von Chromosom 17 untersucht. Bei vier von ihnen (5,1 %) lag eine Trisomie vor. In keiner der untersuchten Proben konnte eine Deletion detektiert werden.

22q11

Insgesamt wurden Proben von 74 Patienten auf Aberrationen in der Bande 22q11 untersucht. In keinem der Patienten konnte ein Zugewinn diagnostiziert werden. In 5,4 %
(n = 4) der untersuchten Fälle lag eine Deletion vor.

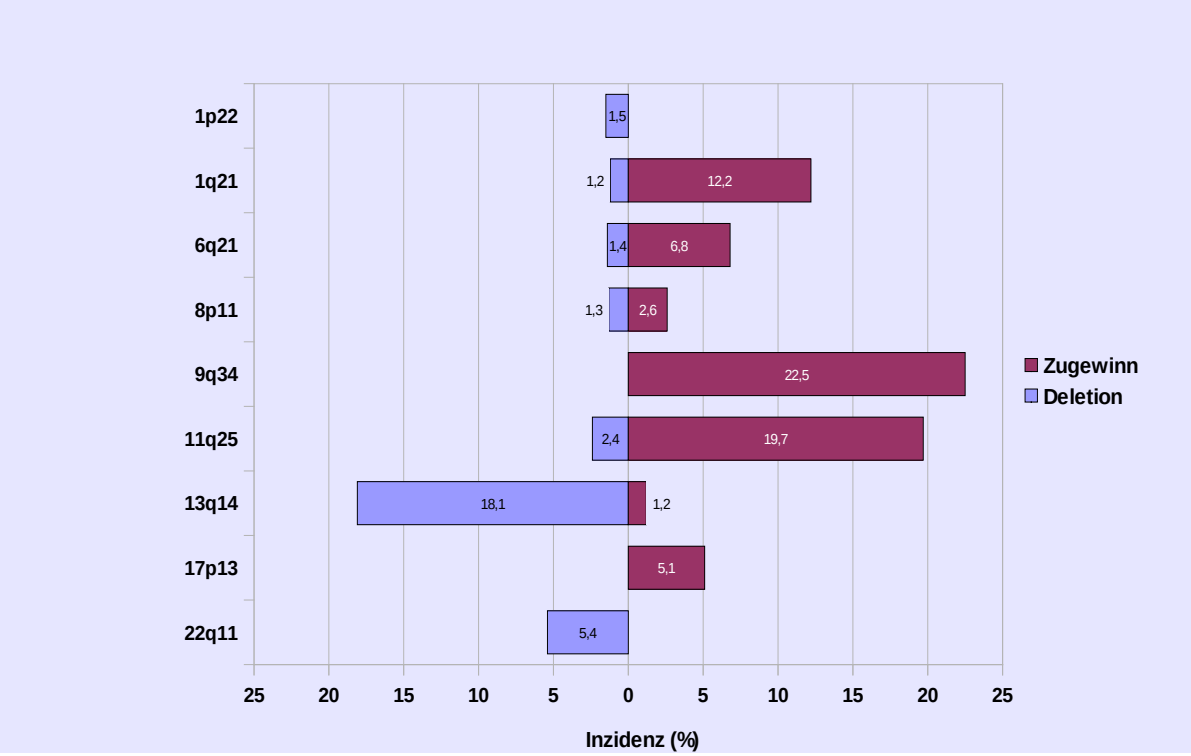


Abbildung 9: Häufigkeit der numerischen und strukturellen Aberrationen im Vergleich

3.3. Abhängigkeit klinischer und molekularzytogenetischer Merkmale

Mittels des „Fisher´s Exact Tests“ wurde untersucht ob ein statistischer Zusammenhang zwischen dem Auftreten klinischer Merkmale und den häufigsten molekularzytogenetischen Aberrationen besteht. Als klinische Merkmale wurde hierbei der Subtyp der leichten Kette, der Subtyp der schweren Kette, Alter, ein abnormer Leichtketten Quotient und ein monoklonales Protein über 15 g/l in die Berechnung miteinbezogen. Folgende molekularyzytogenetischen Aberrationen wurden dem Test unterzogen: IgH Translokationen allgemein, Translokation t(4;14), Translokation t(11;14), Deletion 13q, Zugewinn des langen Armes der Chromosomen 1, 9, 11 (auf einen hyperdiploiden Chromosomensatz hinweisend).

Hierbei zeigte sich ein statistisch hochsignifikanter Zusammenhang (p = 0,0048) zwischen dem Auftreten eines monoklonalen Proteins über 1,5 g/dl sowie einer Deletion des langen Armes von Chromosom 13. Weiterhin konnte ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen einem Zugewinn der Chromosomen 1q, 9q, 11q und einem monoklonalen Protein über 1,5 g/dl (p = 0,03) sowie einem abnormen Leichtketten Quotienten (p = 0,02) gezeigt werden.

Tabelle 8: Positive Korrelation klinischer und molekularzytogenetischer Merkmale

	Alter	**Schwerketten-typ**	**Leichtketten-typ**	**Leichtketten Quotient**	**M-Protein > 15 g/l**
IgH Translokation	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Translokation t(4;14)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Translokation t(11;14)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Deletion 13q	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	p = 0,0048
+ 1q,+ 9q,+ 11q	n.s.	n.s.	n.s.	p = 0,020	P = 0,0030

n.s.: p-Wert nicht signifikant (> 0,05)

4. Diskussion

4.1. Klinische und laborchemische Parameter

In der vorliegenden Arbeit wurden 110 MGUS Patienten, die von 1989 bis 2009 in der Klinik für Innere Medizin III der Universitätsklinik Ulm betreut wurden, ausgewertet. Ein Ziel dieser Arbeit ist die klinische und laborchemische Charakterisierung dieses Patientenkollektivs. Zunächst erfolgte eine Analyse der Basisdaten und der laborchemischen Parameter zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Hier zeigten sich große Übereinstimmungen mit vormals beschriebenen MGUS Kollektiven *(Bladé et al.1992, Cesana et al. 2002, Kyle et al. 2004, Rosinõl et al. 2007).*

Untersuchung des Knochenmarks

Bei nahezu allen Patienten wurde zur Sicherung der Diagnose eine Knochenmarkpunktion zur Bestimmung des Plasmazellanteils durchgeführt. Bei zwölf Patienten wurde aus verschiedenen Gründen auf eine Punktion verzichtet. Da alle diese Patienten ein niedriges monoklonales Protein aufwiesen (< 20 g/l) und in einigen früheren Publikationen eine Untersuchung des Knochenmarks generell erst ab einem monoklonalen Protein über 20 g/l durchgeführt und empfohlen wurde *(Kyle et al. 2002)*, sollte dies jedoch keine Schwachstelle der Analyse sein.

Aufgrund stark gerundeter Angaben der Plasmazellkonzentration im Knochenmark der Patienten, wurde von der Berechnung der statistischen Parameter abgesehen. Bei einem Patienten der Analyse fand sich eine Konzentration von 15 % Plasmazellen im Knochenmark. Dies stellte sich bei einem bekannten Sjögren-Syndrom als reaktive Plasmazellvermehrung heraus und wurde deshalb weiterhin als MGUS gewertet. Alle anderen Patienten wiesen definitionsgemäß eine Plasmazellkonzentration im Knochenmark von unter 10 % auf.

Monoklonales Protein

Das Vorliegen eines monoklonalen Proteins stellt den wichtigsten Wert zur Diagnosestellung einer MGUS dar. Darüber hinaus handelt es sich um einen hilfreichen Verlaufsparameter. Die Konzentration des monoklonalen Proteins lag in der vorliegenden Arbeit im Mittel bei 12,8 g/l und stimmt somit sehr gut mit einer Studie von Kyle et al. überein, die an einem der größten MGUS Patientenkollektiven mit 1384 Patienten einen medianen Wert von 12 g/l bestimmt (*Kyle et al. 2002).*

In einer erst kürzlich erschienenen Studie wurde gezeigt, dass die durchschnittliche Höhe des monoklonalen Proteins bei Erstdiagnose in den letzten 30 Jahren immer weiter gesunken ist. Während in der Gruppe der Patienten, die von 1975 bis 1987 erstdiagnostiziert wurden, der Median des monoklonalen Proteins noch bei 17,0 g/l lag, wiesen Patienten seit 1998 im Durchschnitt nur noch ein monoklonales Protein von 13 g/l bei Diagnosestellung auf *(Varettoni et al. 2010).* Eine mögliche Begründung hierfür sehen die Autoren in der Entwicklung immer sensitiverer Nachweismethoden der monoklonalen Banden und der damit verbundenen früheren Diagnose einer MGUS.

Wie bereits in der Einleitung erläutert stellt die Höhe des Serum M-Proteins bei Diagnosestellung einen Risikofaktor für die Progression dieser Erkrankung dar *(Kyle et al. 2002).* Jedoch sollte an dieser Stelle erwähnt werden, dass maligne Transformationen in ein MM auch in Patienten mit einem monoklonalen Protein < 0,5 g/dl beschrieben wurden *(McMaster* und *Landgren 2010).*

Interessanterweise konnte in der vorliegenden Analyse ein statistisch hoch signifikanter Zusammenhang zwischen einem monoklonalen Protein > 1,5 g/dl und dem Vorliegen einer 13q Deletion gezeigt werden (p= 0,0048). Beide Variablen wurden in Studien als unabhängiger Risikofaktor für den Übergang in ein Multiples Myelom beschrieben *(Avet-Loiseau et al. 1999, Fonseca et al. 2002c, Kyle et al. 2002).* Es liegt uns allerdings keine Literatur vor in der vormals ein Zusammenhang der beiden Variablen beschrieben wurde.

Monoklonale freie Leichtketten

Im Rahmen einer im Jahr 2005 veröffentlichten Studie zur Bedeutung der freien Leichtketten im Serum von MGUS Patienten, wurden Serumproben von 1148 MGUS Patienten

der Mayo Clinic innerhalb 30 Tage nach Diagnosestellung auf die Konzentration der freien Kappa- und Lambda-Leichtketten im Serum untersucht.

Die Werte der angegebenen Studie für den Median der Kappa- und Lambda-Leichtketten lagen bei jeweils 20 mg/l. Im Vergleich hierzu ergab sich in der vorliegenden Arbeit für den Median der freien Lambda Leichtketten ein etwas niedrigerer Wert von 15,6 mg/l, während der Median der Kappa-Leichtketten mit 19,1 mg/l nur geringfügig abwich.

Gegenüber unserer Analyse in der immerhin 50 % der Patienten eine pathologische Ratio der Kappa- und Lambda-Leichtketten aufwiesen, konnte dies in der Mayo Clinic in lediglich 33 % (n = 379) diagnostiziert werden. Eine mögliche Erklärung hierfür ist wohl am ehesten in der unterschiedlichen Größe der analysierten Kollektive zu finden. Beide Kollektive unterscheiden sich kaum in Höhe und Verteilung des monoklonalen Proteins. Darüber hinaus liegt das mediane Alter bei Erstdiagnose in unserem Kollektiv dreizehn Jahre unter dem der Arbeitsgruppe von Rajkumar *(Rajkumar et al. 2005).*

Des Weiteren umschließt unser Kollektiv vier Patienten mit einer Leichtketten (AL-) Amyloidose, die alle (100 %) eine pathologisch erniedrigte Leichtketten Ratio aufweisen. Ähnliches konnte auch in einer anderen Studie gezeigt werden, in der immerhin 88 % (n = 644) der Patienten mit AL-Amyloidose eine pathologische Leichtkettenratio aufwiesen und das Ergebnis damit deutlich über den bekannten MGUS Kollektiven lag *(Kumar et al. 2010a).* Da wir nur bei 52 Patienten (47,3 %) auf die Daten des Leichtkettenquotienten zurückgreifen konnten und die untersuchte Patientenzahl somit gering ist, hatten diese vier Patienten mit hoher Wahrscheinlichkeit einen Einfluss auf das vergleichsweise hohe Ergebnis unserer Arbeit.

Interessant scheint in diesem Zusammenhang auch, dass der Median des Leichtkettenquotienten unserer Arbeit sich kaum von dem unterscheidet, welcher von der Arbeitsgruppe um Rajkumar ermittelt wurde. Bedeutung erlangte die Studie von Rajkumar et al. durch den Nachweis, dass MGUS Patienten mit einem pathologischen Leichtkettenquotienten ein 2,5-fach erhöhtes Risiko einer malignen Transformation aufweisen. Dieser Risikofaktor ist unabhängig von Art und Höhe des monoklonalen Proteins *(Rajkumar et al. 2005).*

In einer folgenden Studie der gleichen Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass ein pathologischer Leichtkettenquotient auch in einem SMM einen Risikofaktor für einen Progress der Erkrankung darstellt. Innerhalb der Studie lag der Anteil der Patienten, die einen pathologischen Leichtkettenquotienten aufwiesen bei 90 % (n = 245/ 273) und damit deutlich höher als in den bekannten MGUS Patientenkollektiven *(Dispenzieri et al. 2008).*
Interessanterweise stellt ein pathologischer Leichtkettenquotient nur dann einen Risikofaktor dar, wenn dieser durch die Erhöhung der monoklonalen Leichtkette zu Stande kommt. Patienten, die einen pathologischen Leichtkettenquotienten aufgrund einer Suppression der nicht betroffenen Leichtkette aufwiesen, hatten folglich kein erhöhtes Risiko einer malignen Transformation der Plasmazellen *(Rajkumar et al. 2005).*
Die Frage warum eine Expansion der monoklonalen Leichtketten einen solch negativen Einfluss auf die Diagnose einer MGUS und eines SMM hat, konnte bislang nicht sicher geklärt werden. Es gibt jedoch Spekulationen über einen engen Zusammenhang zwischen hohen Werten der monoklonalen Leichtketten und IgH Translokationen *(Kumar et al. 2010).* Dieser Zusammenhang konnte allerdings in der vorliegenden Analyse nicht bestätigt werden. Es zeigte sich keine Korrelation zwischen dem Vorliegen eines pathologischen Leichtkettenquotienten und IgH Translokationen (p = 0,233). Stattdessen ließ sich ein statistischer Zusammenhang zwischen einem pathologischen Leichtketten Quotienten und einem Zugewinn des langen Armes der Chromosomen 1, 9 und 11 nachweisen

Hypogammaglobulinämie

Das Vorliegen einer sekundären Hypogammaglobulinämie wird meist mit fortgeschrittenen Plasmazellerkrankungen assoziiert und gilt als Hinweis auf einen hohen Anteil monoklonaler Zellen im Knochenmark *(Gregersen et al. 2001).*
Trotz dieser Tatsache wiesen immerhin 22,7 % der Patienten unseres Kollektivs eine Verminderung der polyklonalen Immunglobuline im Serum auf. Diese Zahl ist durchaus mit anderen Studien vergleichbar, in denen die Inzidenz einer sekunären Hypogammaglobulinämie in MGUS mit 20 % - 30 % angegeben wird *(Baldini et al. 1996, Bladé et al. 1992, Gregersen et al. 2001, Vuckovic et al. 1997).* Die Arbeitsgruppe um Kyle diagnostizierte eine sekundäre Hypogammaglobulinämie sogar bei 38 % ihrer Patienten *(Kyle et al. 2002).*

Demgegenüber konnte eine sekundäre Reduktion der polyklonalen Immunglobuline in nahezu allen MM Patienten nachgewiesen werden *(Gregersen et al. 2001).* In einigen Studien stellte sich die Reduktion der polyklonalen Immunglobuline als ein Prädiktor für eine maligne Transformation heraus *(Baldini et al. 1996, Cesana et al. 2002, Rossi et al. 2009).* Eine weitere Analyse konnte dies jedoch nur für Patienten mit IgG MGUS bestätigen *(Gregersen et al. 2001).*

Dessen ungeachtet wird eine sekundäre Hypogammaglobulinämie in MGUS Patienten heute nicht als eigenständiger Risikofaktor einer malignen Transformation gewertet. Zu begründen ist dies mit der Analyse von Kyle et al. in der bei Patienten mit einer sekundären Reduktion der polyklonalen Immunglobuline statistisch kein erhöhtes Risiko einer Transformation der MGUS nachgewiesen werden konnte *(Kyle et al. 2002).*

Beta-2-Mikroglobulin

Erhöhte Spiegel des Beta-2-Mikroglobulins, die Leichtkette des Haupthistokompatibilitätkomplex (MHC) Klasse I, wurden in vielen lymphoproliferativen Erkrankungen beschrieben *(Bataille et al. 1984).* Insbesondere bei MM stellt es einen der wichtigsten prognostischen Marker dar, der in einer multivariaten Analyse an 612 Multiplen Myelom Patienten die höchste Signifikanz aller laborchemischen Parameter zeigte und sehr gut mit den einzelnen Krankheitsstadien korrelierte. Der Median des Beta-2-Mikroglobulin war in der eben erwähnten Studie mit 3,7 mg/l (Stadium IA nach Salmon und Durie) und 10,1 mg/l (Stadium IIIB nach Salmon und Durie) angegeben *(Durie et al. 1990).*

In den meisten Arbeiten zur Höhe und Bedeutung des Beta-2-Mikroglobulins bei der MGUS lagen die medianen Werte deutlich niedriger (zwischen 1,9 mg/l und 2,01 mg/l*) (Bataille et al. 1992, Cesana et al. 2002, Varettoni et al. 2010).* Eine weitere Untersuchung von 148 Patienten mit SMM ergab einen medianen Wert von 2,0 mg/l *(Rossi et al. 2009).* In der gleichen Arbeit konnte ein Beta-2-Mikroglobulinwert von über 2,5 g/l als unabhängig negativ prognostischer Marker einer Progression in ein symptomatisches MM identifiziert werden. Zusammengefasst liegt der Median der vorliegenden Arbeit mit 1,81 mg/l knapp unter dem Bereich der bisher publizierten Ergebnisse.

Eine Schwierigkeit bei der Interpretation und dem Vergleich der Beta-2-

Mikroglobulinwerte stellt die renale Ausscheidung des Proteins dar, was eine starke Korrelation der Beta-2-Mikroglobulin-Konzentration im Serum und der glomerulären Filtrationsrate zu Folge hat *(Bataille et al. 1992).* Insbesondere MGUS Patienten, die häufig aufgrund ihres Alters oder ihrer Begleiterkrankungen schon eine leichte Einschränkung der Nierenfunktion aufweisen, können daher ein erhöhtes Beta-2-Mikroglobulin unabhängig der MGUS aufweisen. So konnte in unserer Analyse bei 80 % der Patienten, die erhöhte Beta-2-Mikroglobulinwerte aufwiesen, ein zusätzlicher Anstieg der Kreatininwerte festgestellt werden.

Wenngleich die Höhe des Beta-2-Mikroglobulin bei Erstdiagnose mit der Tumorzellmasse der vorliegenden Erkrankung korreliert, ist es in individuellen Fällen nicht zur Unterscheidung eines MM und einer MGUS geeignet, da es durchaus zu Überschneidungen zwischen einer MGUS und einem MM mit niedriger Tumorzellmasse kommen kann *(Bataille und Grenier 1987).*

Albumin und Gesamtprotein

Der mediane Albuminwert unserer Studie lag bei 44,4 g/l. Studien, die an größeren Patientenkollektiven durchgeführt wurden, kamen mit Werten von 42,8 bis 46,0 g/l auf ähnlich hohe Ergebnisse *(Bladé et al. 1992, Cesana et al. 2002, Rosinõl et al. 2007).*

In einer Studie der Arbeitsgruppe um Greipp zur Bedeutung verschiedener Risikofaktoren in MM ist der mediane Albuminwert mit nur 36 g/l angegeben *(Greipp et al. 2005)*. Wenngleich MM Patienten geringere Albuminwerte als MGUS Patienten aufweisen, ist dieser Unterschied in Patienten mit einem SMM nicht zu beobachten *(Cesana et al. 2002).* Dies ist sicherlich mit dem Fehlen einer Niereninsuffizienz, die im Verlaufe der Erkrankung zu einer Hypoalbuminämie führt, in MGUS und SMM zu begründen.

Basierend auf der Analyse von Greipp et al. wurde das neue „International Staging System“ (ISS) für MM Patienten etabliert, welches sich ausschließlich auf die hohe prognostische Wertigkeit von Albumin und Beta-2-Mikroglobulin stützt. Einen Albuminwert von unter 35 g/l, welcher nach dem ISS als prognostischer Grenzwert definiert ist, wiesen lediglich 5 % der Patienten unserer Analyse auf. Demgegenüber lag der Anteil MM Patienten mit immerhin 40 % deutlich höher *(Greipp et al. 2005).*

Allerdings wurde in zahlreichen Publikationen der Nachweis erbracht, dass ein erniedrigtes Albumin in MGUS Patienten keinen negativ prognostischen Faktor darstellt *(Bladé et al. 1992, Baldini et al. 1996, Cesana et al. 2002, Garewal et al. 1984, Vuckovic et al. 1997).* Der Literatur zufolge ist ein erhöhtes Gesamtprotein häufig das erste Anzeichen einer MGUS *(Bladé et al. 2006).* Demnach ist es erstaunlich, dass lediglich 10,3 % der Patienten unseres Kollektivs ein erhöhtes Gesamtprotein im Serum aufwiesen. Dennoch sind unsere Ergebnisse durchaus vergleichbar mit einer Studie an 128 MGUS Patienten, in der ein Median von 79,3 g/l und ein Maximum von 103 g/l berechnet wurde *(Bladé et al. 1992)*

4.2 Zytogenetische Aberrationen

Die definitionsgemäß geringe Plasmazellinfiltration des Knochenmarks sowie die geringe Proliferationsrate der klonalen Plasmazellen, sichtbar an einem geringen Plasmazell-Labeling-Index, machten genomische Analysen von MGUS Zellen mittels konventioneller Karyotypisierung in der Vergangenheit fast unmöglich *(Drach et al. 1995).* Die modernere FISH Methode weist gegenüber der konventionellen Karyotypisierung den Vorteil auf, dass sie auch an Interphase Zellen durchgeführt werden kann. Darüber hinaus können durch das höhere Auflösungsvermögen der FISH auch kleinere chromosomale Verluste und Zugewinne detektiert werden *(Liebisch et al. 2003a, Liebisch et al. 2003b).*

Molekularzytogenetische Analysen der letzten Jahre haben den Nachweis erbracht, dass nahezu alle genomischen Aberrationen, die in Plasmazellen von MM-Patienten zu finden sind, auch in MGUS Zellen detektiert werden können. Dennoch ist für einige genomische Aberrationen nur eine geringe Datenlage vorhanden.

In der vorliegenden Arbeit wurde Knochenmark von 83 MGUS Patienten mit Hilfe eines Sondensatzes zum Nachweis der häufigsten Aberrationen in MM untersucht.

IgH Translokationen

In zytogenetischen Studien werden IgH Translokationen in malignen Plasmazellen als häufigste Aberration beschrieben *(Fonseca et al. 2004).* Dies ließ sich in unserer Analyse, in der immerhin 54,9 % der Patienten eine IgH Translokation aufwiesen, bestätigen. Darüber hinaus stimmt unser Ergebnis weitgehend mit Resultaten von Avet-Loiseau et al. und Fonseca et al. überein, die in ihren Studien jeweils eine Inzidenz von 48 % (69/143) und 46 % (27/59) angeben *(Avet-Loiseau et al. 2002, Fonseca et al. 2002a).* Chiecchio und Mitarbeiter konnte an einer größeren Patientenkohorte mit 189 Patienten eine IgH Translokation in lediglich 41 % der Fälle nachweisen *(Chiecchio et al. 2009b).*

Die in der Literatur angegebene Inzidenz in MM liegt mit 55 % - 70 % nur geringfügig höher als in unserer Analyse *(Avet-Loiseau et al. 2002, Chiecchio et al. 2009b, Fonseca et al. 2004).*

Das Chromosom 11 gilt als häufigster Partner von 14q32-Translokationen. In unserer Analyse wiesen 28,1 % der untersuchten Patienten eine Translokation t(11;14) auf. Damit liegt die von uns ermittelte Inzidenz deutlich höher als in den meisten anderen Studien, in denen sie mit 13 % - 16 % angegeben wird *(Avet-Loiseau et al. 1999, Avet-Loiseau et al. 2002, Chiecchio et al. 2009b).* In lediglich einer Studie konnte die Arbeitsgruppe von Fonseca eine ähnlich hohe Inzidenz dieser Translokation feststellen (25 %, n = 59) *(Fonseca et al. 2002a).*

Interessanterweise konnte in einer Studie gezeigt werden, dass die Translokation t(11;14) häufig mit dem IgM Schwerkettentyp oder asekretorischen MM assoziiert ist *(Avet-Loiseau et al. 2003).* Darüber hinaus werden t(11;14)-Translokationen häufig in primär systemischen AL-Amyloidosen beobachtet *(Hayman et al. 2001).* In der vorliegenden Analyse wurden drei der vier Fälle mit AL-Amyloidose auf das Vorliegen einer Translokation t(11;14) untersucht. Sie konnte bei zwei der Fälle (n = 2/3) nachgewiesen werden.

In den vier bereits erwähnten Studien der Arbeitsgruppen von Chiecchio, Avet-Loiseau und Fonseca wurden aufgrund der unterschiedlichen Biologie keine Patienten mit IgM MGUS eingeschlossen. In Anbetracht der Tatsache, dass der IgM Schwerkettentyp in unserem Patientenkollektiv immerhin einen Anteil von 14,5 % ausmacht (vgl. Abb. 6), könnte dies durchaus eine plausible Erklärung für die Abweichung unseres Ergebnisses sein. Andererseits konnte in der vorliegenden Analyse kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen einer Translokation t(11;14) und einer µ schweren Kette bestätigt werden (vgl. Tabelle 8).

Die Translokation t(11;14)(q13;q32) resultiert in einer Überexpression des Zellzyklus regulierenden Proteins Cyclin D1, was konsekutiv zu einer frühen Phosphorylierung des Retinoblastom (RB)-Proteins führt und den Übergang in die S-Phase des Zellzyklus beschleunigt *(Hunter et Pines 1994).* Trotz der folglich proliferativen Wirkung auf Plasmazellen sind MM mit t(11;14)-Translokationen paradoxerweise häufig mit einem niedrigeren Plasmazell-Labeling-Index, einem niedrigeren monoklonalen Protein und einer lymphoplasmozytischen Morphologie assoziiert *(Fonseca et al. 2002b, Hoyer et al. 2000).*

Hierzu passen Beobachtungen, dass transgenes Cyclin D1 alleine nicht ausreicht um die Entwicklung und Zellteilung normaler B-Zellen zu stimulieren. Man geht vielmehr davon

aus, dass die Dysregulation von Cyclin D1 zu einer Sensibilisierung der Zellen gegenüber weiteren proliferativen Stimuli (wie z.B. Interleukin-6 aus den Stromazellen des Knochenmarks) führt und es weiterer Mutationen bedarf um die Entstehung von Lymphomen zu induzieren *(Kuehl* und *Bergsagel 2005).*

Die Überexpression von Cyclin D1 als Folge einer Translokation t(11;14) wird typischerweise auch in Mantelzell-Lymphomen nachgewiesen. Unterschiede auf molekularer Ebene lassen jedoch auf einen unterschiedlichen Pathomechanismus schließen: Während in Myelomzellen die Bruchpunkte charakteristischerweise in der IgH-switch-Region lokalisiert sind und auf einen fehlerhaften Immunglobulin Klassenwechsel zurückzuführen sind, befinden sich diese in Zellen von Mantelzell-Lymphomen in oder nahe eines JH Segments und entstehen während der V(D)J Umlagerung in einem früheren Stadium der Lymphozyten-Entwicklung *(Chesi et al. 1996).*

In der Regel sind t(11;14)-Translokationen charakteristisch für einen lang anhaltenden stabilen Verlauf der MGUS *(Fonseca et al. 2009, Moreau et al. 2002).* Allerdings mangelt es an longitudinalen Studien, die über einen längeren Zeitraum angelegt sind und diesen Eindruck auch wirklich bestätigen können.

Die Inzidenz der t(11;14)-Translokationen in MM ist mit 15 % - 20 % in etwa gleich hoch wie in MGUS *(Fonseca et al 2004).*

Bislang war man davon ausgegangen, dass t(11;14)-Translokationen einen positiv prognostischen Marker in MM darstellen. In zwei neueren Studien konnte dieser Effekt allerdings nicht bestätigt werden: Eine große französische Studie mit 1064 Patienten konnte keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die Dauer des Überlebens ausmachen *(Avet-Loiseau et al. 2007).* Zu einem ähnlichen Ergebnis gelangte eine molekularzytogenetische Untersuchung im Rahmen einer multizentrischen Phase III-Therapiestudie der Deutschen Studiengruppe Multiples Myelom (DSMM II). Sowohl in Hinblick auf das ereignisfreie Überleben (EFS; $p = 0,94$) als auch auf das Gesamtüberleben (OS; $p = 0,92$) fand sich kein signifikanter Unterschied bei Vorliegen einer t(11;14)-Translokation *(Liebisch et al. 2010).*

Die Translokation t(4;14) ist in MGUS deutlich seltener zu beobachten als eine Translokation t(11;14): In unserer Analyse liegt die Inzidenz bei 9,9 %. Damit liegen wir über den dazugehörigen Literaturangaben, die Werte zwischen 2 % und 6 % beinhalten *(Avet-*

Loiseau et al. 1999, Chiecchio et al. 2009b Keats et al. 2003, Malgeri et al. 2000). Hierbei ist wichtig, dass die angegebenen Analysen der Arbeitsgruppen um Keats und Malgeri nicht mittels FISH sondern mit Hilfe einer Reverse-Transkriptase-Polymerase-Ketten-Reaktion (RT-PCR) durchgeführt wurde.

In zwei weiteren Studien der Arbeitsgruppe um Fonseca wurden mit 9,6 % und 9 % ähnlich hohe Inzidenzen wie in unserer Analyse beobachtet. Aufgrund der fehlenden Unterscheidung zwischen einer MGUS und einem SMM sind diese Studien allerdings nur eingeschränkt mit unserer Analyse zu vergleichen *(Fonseca et al. 2001a, Fonseca et al. 2002a).* Vor diesem Hintergrund konnten Chiecchio et al., die in ihrer Studie MGUS Patienten mit symptomatischen und asymptomatischen MM Patienten verglich, zeigen, dass auch die Progression in ein asymptomatisches Multiples Myelom mit einer steigenden Inzidenz der Translokation t(4;14) einhergeht. Überraschenderweise war bezüglich der Translokation t(4;14)-Inzidenz in dieser Studie kein Unterschied zwischen asymptomatischen und symptomatischen MM auszumachen. In beiden Patientengruppen konnte ein Inzidenz von 13 %detektiert werden (SMM: 13/122; MM: 55/399) *(Chiecchio et al. 2009b).*

Weitere Arbeitsgruppen konnten in 13 % - 20 % der MM Patienten eine t(4;14) Translokation nachweisen *(Avet-Loiseau et al. 2009, Chiecchio et al. 2009b, Fonseca et al. 2001a, Malgeri et al. 2000).* Damit liegt die Inzidenz also ungefähr doppelt so hoch wie in MGUS. In verschiedenen Studien wurde der Nachweis erbracht, dass eine Translokation t(4;14) in MM ein unabhängig negativ prognostischer Faktor darstellt, der mit einem kürzeren EFS und einem kürzeren OS assoziiert ist *(Avet-Loiseau et al. 2009, Fonseca et al. 2003b, Keats et al. 2003, Moreau et al. 2002, Winkler et al.2003).*

Aufgrund des relativ seltenen Auftretens der Translokation t(4,14) in MGUS wurde hypothetisiert, dass diese auch hier einen negativ prädiktiven Faktor darstellt und zur malignen Transformation des MGUS Klons führt *(Avet-Loiseau et al. 1999, Moreau et al. 2002).* Aufzeichnungen von MGUS Patienten, die trotz einer Translokation t(4;14) auch mehrere Jahre nach Diagnosestellung kein MM entwickelt hatten sprechen allerdings gegen diese Vermutung *(Fonseca et al. 2002a, Malgeri et al. 2000).* Jedoch sind dies nur Beobachtungen an einer kleinen Patientengruppe, die lediglich als Hinweis gewertet werden können und in den nächsten Jahren Gegenstand weiterer Untersuchungen sein sollten.

Eine Translokation t(4;14) führt zur Dysregulation zweier potentieller Onkogene: FGFR 3 (fibroblast growth factor receptor 3) auf dem Derivativ von Chromosom 14 und MMSET (multiple myeloma SET domain) auf dem Derivativ von Chromosom 4. FGFR 3 gehört zur Familie der Tyrosinkinaserezeptoren und kann durch Bindung unterschiedlicher Liganden die Proliferation und Differenzierung der Zellen über den Ablauf komplexer intrazellulärer Signalkaskaden regulieren *(Chesi et al. 2001).* In Untersuchungen an Mausmodellen konnten die Bedeutung von FGFR3 in der Pathogenese Multipler Myelome eindrücklich bestätigt werden. Mäuse, denen ein retroviral verändertes FGFR3 exprimierendes Knochenmark transplantiert wurde, entwickelten innerhalb von sechs bis acht Wochen B-Zell-Lymphome oder -Leukämien *(Li et al. 2001).*

Circa 25 % der Patienten mit einer Translokation t(4;14) weisen einen Verlust des Derivativ von Chromosom 14 auf, was folglich mit einer fehlenden FGFR3 Überexpression assoziiert ist. Interessant ist hierbei, dass diese Patienten trotz der fehlenden FGFR3 Überexpression keine bessere Prognose aufwiesen als Patienten ohne diesen Verlust *(Keats et al. 2003).* Dies spricht für eine entscheidende Rolle von MMSET in der Pathogenese t(4;14) positiver MM. MMSET (auch Wolf-Hirschhorn-syndrom-candidate 1 [WHSC1] oder Nuclear Receptor-binding SET Domain 2 [NSD2] genannt) besteht aus mehreren funktionellen Domänen, die wichtige Aufgaben in der Transkriptionsregulation übernehmen. Neben vier weiteren Domänen beinhaltet MMSET auch eine SET Domäne, die aufgrund alternativer Splicing-Vorgänge allerdings nicht in allen Transkripten kodiert ist. Es ist bekannt, dass Proteine mit einer SET Dömane eine Methyltransferaseaktivität besitzen und durch Methylierung der Lysinreste an Histonen, regulatorisch in die Expression verschiedener Gene einzugreifen vermögen. Eine Überexpression von MMSET führt insbesondere zu einer gesteigerten Methylierung von Lysinrest 36 und einer erniedrigten Methylierungsrate von Lysinrest 27 an Histon H3. Beide Modifikationen führen durch Änderungen in der Chromatinstruktur zu veränderter Replikation und Transkription mehrerer noch nicht bekannter Zielgene, deren Folge ein erhöhtes Zellwachstum, ein defizitärer Zellzyklus und die Inhibition der Apoptose ist *(Marango et al. 2008; Martinez-Garcia et al. 2011).*

Aberrationen von Chromosom 1

Veränderungen des ersten Chromosoms gehören zu den häufigsten strukturellen Aberrationen in MM. Als charakteristisch gelten Zugewinne des langen Armes und Deletionen des kurzen Armes von Chromosom 1. Der Nachweis dieser beiden Aberrationen in MGUS gelingt typischerweise signifikant seltener *(Chang et al. 2010).* Dies zeigte sich auch in unserer Analyse, in der bei lediglich 12,2 % (10/82) der Patienten ein Zugewinn des langen Armes von Chromosom 1 detektiert werden konnte. Dies stimmt mit einer FISH Analyse von Bochtler et al. überein, in der 15 % (16/109) der Patienten eine 1q Amplifikation aufwiesen *(Bochtler et al. 2008).*

In einer multizentrischen Studie von Chiecchio et al. konnten 20 % der 88 eingeschlossenen MGUS Patienten positiv auf einen 1q Zugewinn getestet werden *(Chiecchio et al. 2009a).* In Studien zur Inzidenz der 1q Amplifikation in MM wird diese mit circa 40 % angegeben. *(Chang et al. 2006, Chiecchio et al. 2009a, Fonseca et al 2006, Hanamura et al. 2006, Liebisch et al. 2003b).*

Einige Publikationen sprechen dafür, dass 1q Zugewinne in MM mit einer negativeren Prognose und einem kürzeren Überleben assoziiert sind *(Avet-Loiseau et al. 2009, Fonseca et al. 2006, Hanamura et al. 2006).* Darüber hinaus konnten Hanamura et al. zeigen, dass eine 1q21 Amplifikation in SMM mit einem höheren Risiko assoziiert ist ein symptomatisches MM zu entwickeln *(Hanamura et al. 2006).* Gleiches konnte die Arbeitsgruppe um Bochtler an einer Gruppe von 109 MGUS Patienten zeigen: 52 % der Patienten, die eine 1q Amplifikation aufwiesen, hatten im Verlauf ein MM entwickelt. Demgegenüber konnte ein Progress der Erkrankung nur bei 16 % der Patienten ohne die genannte Amplifikation diagnostiziert werden ($p = 0{,}001$) *(Bochtler et al. 2008)*. In einer weiteren Arbeit zur prognostischen Bedeutung der 1q21 Zugewinne in MGUS, konnte dieser Effekt allerdings nicht bestätigt werden *(Chiecchio et al. 2009a)*. Als Kritikpunkt sollte hier jedoch der relativ kurze Beobachtungszeitraum von lediglich 21 Monaten erwähnt werden. Er lässt die Frage aufkommen inwieweit diese Studie als repräsentativ zu werten ist.

Als mögliche Ursache der schlechten Prognose wird ein Kandidatengen auf Chromosom 1q21 diskutiert, welches für das gleichnamige Protein CKS1B kodiert und eine kritische Rolle im Zellzyklus spielt *(Chang et al. 2006).*

Eine Deletion des kurzen Armes von Chromsom 1 konnte bei nur einem Patienten (1,5 %) nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis ist vergleichbar mit zwei Studien, in denen 0 % (0/16) und 4,5 % (3/66) der Patienten eine 1p Deletion aufwiesen *(Chang et al. 2010, Leone et al 2008).*

Die Inzidenz der 1p Deletionen in MM ist in der Literatur mit 15 % - 20 % angegeben *(Chang et al. 2007, Chang et al. 2010, Leone et al. 2008).*

Die Arbeitsgruppe um Chang wertete eine 1p21 Deletion nach einer durchgeführten multivariaten Analyse (adjustiert für Deletion 13, t(4;14), Deletion (p53)) an 203 MM Patienten als unabhängig negativ prognostischer Faktor. Deletion 1p21 positive Patienten wiesen in dieser Analyse ein signifikant kürzeres EFS auf, verglichen mit Patienten ohne dieser Aberration (Median: 14,2 vs. 25,4 Monate) *(Chang et al. 2010).*

Interessanterweise konnte die Arbeitsgruppe um Shaughnessy in einer Microarray-Analyse an Tumorzellen von 512 neu diagnostizierten MM Patienten zeigen, dass circa 50 % der unterexprimierten Gene in der Gruppe der Hochrisiko-Patienten auf Chromosom 1p lokalisiert sind *(Shaughnessy et al 2007).* Dies deutet darauf hin, dass der Verlust mehrerer Tumorsuppressorgene auf Chromosom 1p mit einem aggressiveren Verlauf der Erkrankung assoziiert ist.

Aufgrund der aufgeführten Beobachtungen bezüglich der prognostischen Bedeutung sowie der vergleichsweise geringen Inzidenz in MGUS, schlussfolgerten Chang et al. einen positiven Zusammenhang einer 1p21 Deletion und der Progression einer MGUS in ein MM *(Chang et al. 2010).*

6q und 8q Deletionen

Eine Trisomie des langen Arms von Chromosom 6 konnte in 6,8 % der Patienten unseres Kollektivs detektiert werden. Hingegen war eine Deletion in lediglich einem Patienten (1,4 %) nachweisbar. Vergleichbare Untersuchungen zur Inzidenz der 6q Aberrationen in MGUS liegen zum jetzigen Zeitpunkt nicht vor.

Insbesondere Deletionen des langen Arms von Chromosom 6 sind häufig nachgewiesene Aberrationen in lymphoproliferativen Erkrankungen *(Thelander et al. 2008).* Mittels einer Sonde zu Markierung der Konsensus Region 6q21, die auch in unserer Analyse benutzt

wurde, konnte in MM eine Inzidenz von circa 20 % nachgewiesen werden *(Cremer et al. 2005, Liebisch et al. 2003).*

Wenngleich eine ausreichende Datenlage fehlt, so ist die deutlich geringere Nachweisrate der 6q Deletion in unserem Kollektiv verglichen mit der in Multiplen Myelom Studien doch ein Hinweis darauf, dass es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit um eine späte genomische Aberration in der Entwicklung eines MM handelt.

Die Arbeitsgruppe um Cremer konnte durch Berechnung der Assoziationsstärken häufiger Aberrationen in MM ein Modell zur klonalen Entwicklung der Myelomzellen erstellen, welches unsere Hypothese im Wesentlichen bestätigt. Laut ihren Berechnungen, entstehen 6q Deletionen häufig als sekundärer onkogener Schritt in nicht-hyperdiploiden Zellklonen *(Cremer et al. 2005).* Ein ähnliches Bild ergab die angesprochene Clusteranalyse von Cremer et al. für Verluste des kurzen Armes von Chromosom 8, weshalb es sinnvoll erscheint diese nun gleich im Anschluss zu diskutieren.

Eine 8p Deletion konnte in nur einem Patienten (1,3 %) unseres Kollektivs detektiert werden. Bochtler et al. konnten an einer gleich großen Patientenkohorte einen Verlust des kurzen Armes von Chromosom 8 in wenigstens 6 % der Patienten nachweisen *(Bochtler et al. 2008).* Im Vergleich hierzu lag die publizierte Inzidenz in MM mit immerhin 21 % signifikant höher *(Cremer et al. 2005)*

Zusammengefasst spricht sowohl unser Ergebnis als auch die Clusteranalyse von Cremer et al. dafür, dass es sich auch bei 8p Veränderungen um späte Ereignisse der Entwicklung von Plasmazellneoplasien handelt, die meist erst in nicht-hyperdiploiden Zellklonen entstehen und nur in seltenen Fällen in MGUS Zellen präsent sind. Zur Vervollständigung der Diskussion sollte erwähnt werden, dass diese Punkte auch mit dem bereits beschriebenen Stufenmodell zu Pathogenese des MM von Kuehl und Bergsagel übereinstimmen *(vgl. Abb. 3; Kuehl und Bergsagel 2005).*

Zugewinne von 9q und 11q

Die Inzidenzen der 9q und 11q Zugewinne lagen im untersuchten Kollektiv bei 22,5 % und 19,7 %. In der Literatur sind Amplifikationen der Chromosomen 9 und 11 hauptsächlich im Rahmen eines hyperdiploiden Chromosomensatzes beschrieben. In der Studie einer fran-

zösischen Arbeitsgruppe konnten Trisomien des 9. und 11. Chromosoms bei Verwendung einer Zentromersonde mit einer deutlich höheren Inzidenz von 45 % und 57 % nachgewiesen werden *(Brousseau et al. 2007).* Aufgrund der verwendeten Zentromersonde sind die Ergebnisse dieser Studie allerdings nur eingeschränkt mit den Daten unserer Analyse vergleichbar.

Bochtler et al. wiesen in einer vergleichbaren Untersuchung mit einer 11q23 Sonde eine Inzidenz von 33 % nach *(Bochtler et al. 2007).* Daten zur Inzidenz der 9q Amplifikation in MGUS liegen uns leider nicht vor.

Im Vergleich hierzu betrug die Inzidenz in mehreren vergleichbaren FISH Studien an MM Patienten 47 % bis 61 % (9q Zugewinne) und 38 % bis 57 % (11q Zugewinne) *(Cremer et al. 2005, Liebisch et al. 2003b, Liebisch et al. 2005).* Beide Arbeitsgruppen hatten Sonden zur Markierung der bekannten kritischen Regionen 9q34 und 11q23 verwendet.

Eine Publikation von Liebisch et al. deutet darauf hin, dass 9q und 11q Zugewinne einen 14q32 unabhängigen Weg in der Pathogenese maligner Plasmazellerkrankungen repräsentieren *(Liebisch et al 2005);* Ähnliches konnte in weiteren Untersuchungen für das Auftreten numerischer Aberrationen der Chromosomen 9 und 11 im Rahmen eines hyperdiploiden Chromosomensatzes beschrieben werden *(Chiecchio et al. 2009b, Fonseca et al. 2003b), Smadja et al. 2003).*

Die konsekutive Überexpression des Proteins Cyclin D1 bei Patienten mit 11q Zugewinnen ähnlich wie es für Patienten mit (11;14)-Translokationen beschrieben wird, scheint hierfür eine relevante Rolle zu spielen *(Soverini et al. 2003, Specht et al. 2004).*

13q Deletionen

In der vorliegenden Arbeit lag die Inzidenz der 13q Deletionen bei 18,1 %. Dies entspricht in etwa den Ergebnissen einer Studie von Avet-Loiseau et al., in der 23 % der 186 untersuchten Patienten eine 13q Deletion aufwiesen *(Avet-Loisau et al. 2002).*

Bochtler et al. beobachteten in ihrer Studie eine deutlich höhere Inzidenz von 31 % (39/127) *(Bochtler et al. 2007).* Eine Untersuchung an einer kleineren Patientenzahl ergab sogar eine Inzidenz von 50 % (24/48) *(Fonsecca et al. 2002a)* und liegt damit im Bereich der Angaben für MM, die von 36 % bis 54 % reichen *(Avet-Loiseau et al. 2002, Facon et al.*

2001, Fonseca et al. 2001a). Zusammengefasst befindet sich unser Ergebnis am unteren Rand der bisher publizierten Resultate aus anderen Studien. Da in der Durchführung der FISH keine Unterschiede ersichtlich sind, lässt sich unser vergleichbar niedriges Ergebnis wohl am ehesten mit einer möglicherweise unterschiedlichen Zusammensetzung der Patientenkollektive begründen.

Die doch eher heterogene Datenlage zur Inzidenz einer 13q Deletion spiegelt sich auch in Diskussionen bezüglich ihrer Bedeutung in MGUS wieder. Einige Autoren mutmaßten aufgrund der geringeren Inzidenz in MGUS im Vergleich zu MM einen positiven Zusammenhang zwischen einer 13q Deletion und dem Übergang in ein MM *(Avet-Loiseau et al. 1999, Fonseca et al. 2002c).* Diese Hypothese konnte jedoch bislang weder bestätigt noch widerlegt werden und es werden weitere Studien folgen müssen um sichere Aussagen treffen zu können *(Brousseau et al. 2007).*

Demgegenüber ist die Studienlage zur prognostischen Bedeutung der 13q Deletion in MM eindeutiger. Mehrere Studien konnten unabhängig der Nachweismethode einen negativ prognostischen Effekt der 13q Deletion nachweisen *(Facon et al. 2001, Fonseca et al. 2002c, Zojer et al. 2000).*

Erst unlängst konnte in einer Studie der „Intergroupe Francophone du Myélome“ ein negativer Einfluss sowohl auf das OS als auch auf das EFS der MM Patienten noch einmal bestätigt werden. Allerdings war dieser Effekt in einer multivariaten Analyse nicht mehr statistisch signifikant nachweisbar. Dies lässt sich durch eine starke Assoziation der 13q Deletion mit anderen negativ prognostischen Aberrationen wie der Translokation t(4;14) und der Deletion 17p13 erklären *(Avet-Loiseau et al. 2007).*

Interessanterweise konnte in der vorliegenden Analyse ein statistisch hoch signifikanter Zusammenhang ($p = 0,0048$) zwischen dem Vorliegen eines erhöhten monoklonalen Proteins (> 15 g/l) und einer 13q Deletion gezeigt werden. Im Gegensatz hierzu konnte kein Zusammenhang zwischen einer IgH Translokation und einem hohen Paraprotein berechnet werden.

Da steigende Paraproteinspiegel häufig erst im Verlauf einer MGUS beobachtet werden können und ein wichtiger Verlaufsparamete hinsichtlich einer Progression in ein MM darstellen, spricht dieses Ergebnis wiederrum dafür, dass 13q Deletionen als spätere Mutati-

onen in der Pathogenese der Plasmazellerkrankungen auftreten. Während IgH Translokationen primär immortalisierende Ereignisse der Plasmazelle darstellen und deshalb nicht mit einem Anstieg des Paraproteins assoziiert sind.

Eine weitere Hypothese zur Erklärung des Zusammenhanges zwischen einer 13q Deletion und einem erhöhtem Paraprotein nimmt Bezug auf die Biologie der genannten Mutation. Möglicherweise führt der Verlust eines der Gene, die auf dem langen Arm von Chromosom 13 kodiert sind, zu einer gesteigerten Proteinbiosynthese der Plasmazellen.

Analog hierzu wurde bereits eine Assoziation zwischen einer Translokation t(11;14) und asekretorischen MM beschrieben *(Avet-Loiseau et al. 2003).*

Obwohl es bislang nur unzureichend gelang eine exakte kritische Region zu definieren, wird die Verwendung einer 13q14 Sonde klar favorisiert.

In 90 % der Fälle entspricht eine 13q14 Deletion einer Monosomie 13, in nur 10 % der Fälle können kleinere interstitielle Deletionen des langen Armes von Chromosom 13 nachgewiesen werden. Folglich ist davon auszugehen, dass der Verlust mehrerer Gene für die negative Prognose einer 13q Deletion verantwortlich ist *(Avet-Loiseau et al. 2000, Fonseca et al. 2001b).*

17p Deletionen

Verluste und Mutationen des Tumorsuppressorgens p53 (auf Chromosom 17p13), dessen Folge ein Funktionsverlust mit einer gesteigerte Zellproliferation sowie der Inhibition der Apoptose ist, sind von vielen Tumorerkrankungen bekannt. Typischerweise treten 17p13 Deletionen in fortgeschrittenen Krankheitsstadien auf und sind nicht selten mit einer Progression oder einem Rezidiv der Erkrankung assoziiert *(Preudhomme et al. 1997)*. Beim MM gelten 17p13 Deletionen als wichtigster prognostischer molekularzytogenetischer Faktor *(Fonseca et al. 2009).* Obwohl bislang noch keine Konsensus-Region für 17p Verluste in MM bestimmt wurde, verwenden die meisten Arbeitsgruppen eine Sonde zur Markierung von 17p13.

In allen Studien konnte gezeigt werden, dass p53 Verluste mit einem kürzeren Überleben, schlechterem Ansprechen auf konventionelle und Hochdosis-Chemotherapie, höheren Calziumspiegeln und dem Auftreten extramedullärer Herde assoziiert sind *(Avet-Loiseau*

et al. 2007,Chang et al. 2005, Drach et al. 1998, Fonseca et al. 2003a).

In sekundären Plasmazellleukämien und extramedullären MM sind p53 Verluste in 80 % und 40 % der Fälle nachweisbar *(Neri et al. 1993, Tiedemann et al. 2008)*. Dagegen weisen neu diagnostizierte MM eine vergleichsweise geringe Inzidenz von 5 % bis 10 % auf *(Avet-Loiseau et al. 2007, Fonseca et al. 2003a).* Die Arbeitsgruppe um Ackermann konnte bei einer Untersuchung der Plasmazellen von 15 MGUS Patienten mittels 17p13 Sonde in keinem der Patienten eine Deletion nachweisen *(Ackermann et al. 1998)*.

In Übereinstimmung mit diesen Befunden wies keiner der 78 analysierten Patienten unseres Kollektivs eine 17p13 Deletion auf. In unserer Analyse konnte lediglich bei vier der Patienten (5,1 %) eine Trisomie von 17p13 detektiert werden. Diese ist wohl am ehesten im Rahmen eines hyperdiploiden Chromosomensatzes zu werten.

22q Deletionen

Die Inzidenz der 22q Deletion in unserer Analyse betrug 5,4 % (4/74). Zur Häufigkeit und Relevanz der 22q Mutation in MGUS wurden bisher keine weiteren Arbeiten publiziert. Des Weiteren liegen auch keine umfassenden Daten bezüglich dieser Aberration in MM vor. In lediglich einer uns bekannten Studie konnten 22q Mutationen in 24,7 % der 81 neu diagnostizierten MM detektiert werden *(Cremer et al. 2005).*

5. Zusammenfassung

Die Monoklonale Gammopathie unbestimmter Signifikanz (MGUS) wird häufig als „Präkanzerose“ maligner Plasmazellerkrankungen beschrieben. Gegenstand dieser Arbeit war die Charakterisierung eines 110 Patienten umfassenden Kollektivs anhand ihrer klinischen, laborchemischen und molekularzytogenetischen Merkmalen.

Trotz eines vergleichbar jungen Patientenkollektivs mit einem medianen Alter von 59 Jahren zeigte sich in der Analyse eine große Übereinstimmung der klinischen und laborchemischen Variablen mit vormals beschriebenen MGUS Kollektiven.

Zur molekularzytogenetischen Charakterisierung wurden die Daten einer 12 Sonden umfassenden FISH Analyse ausgewertet. Hierbei zeigte sich bei 63 % der untersuchten Patienten mindestens eine aberrante chromosomale Region. Die am häufigsten nachgewiesenen molekularzytogentischen Aberrationen waren (in absteigender Reihenfolge): IgH Translokationen (54,9 %), t(11;14) (28,1 %), 9q Zugewinne (22,5 %), 11q Zugewinne (19,7 %), 13q Deletionen (18,1 %), 1q Zugewinne (12,2 %), t(4;14) (9,9 %).

In keinem der untersuchten Patienten konnte eine 17p Deletion nachgewiesen werden. Dies unterstützt die Hypothese, dass 17p Deletionen erst im Verlauf, aufgrund genetischer Instabilität des Plasmazellklons, auftreten und regelhaft mit dem Übergang in eine behandlungsbedürftige Erkrankung assoziiert sind.

Des Weiteren konnte ein statistisch hoch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten eines hohen monoklonalen Proteins (> 15 g/l) und einer Deletion 13q gezeigt werden ($p = 0,0048$). Im Gegensatz hierzu ließ sich keine Korrelation zwischen einer IgH Translokation und einem erhöhten Paraprotein herstellen. Dies könnte daraufhin deuten, dass 13q Deletionen erst später in der Pathogenese der Plasmazellerkrankungen auftreten und einen fortgeschrittenen Verlauf der MGUS kennzeichnen, während IgH Translokationen primär immortalisierende Ereignisse der Plasmazelle darstellen und deshalb nicht mit einem Anstieg des Paraproteins assoziiert sind.

Möglicherweise führt aber auch der Verlust eines Gens auf Chromosom 13q zu einer gesteigerten Proteinsynthese der Plasmazelle und damit zu einem Anstieg des Paraproteins.

6. Literaturverzeichnis

1. **Ackermann J**, Meidlinger P, Zojer N, Gisslinger H, Ludwig H, Huber H, Drach J: Absence of p53 deletions in bone marrow plasma cells of patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Br J Haematol.* 103: 1161-1163 (1998).

2. **Alexander DD**, Mink PJ, Adami HO, Cole P, Mandel JS, Oken MM, Trichopoulos D: Multiple myeloma: a review of the epidemiologic literature. *Int J Cancer* 120: 40-61 (2007).

3. **Avet-Loiseau H,** Facon T, Daviet A, Godon C, Rapp MJ, Harousseau JL, Grosbois B, Bataille R: 14q32 translocations and monosomy 13 observed in monoclonal gammopathy of undetermined significance delineate a multistep process for the oncogenesis of multiple myeloma. Intergroupe Francophone du Myélome: *Cancer Res*. 59: 4546-4550 (1999).

4. **Avet-Loiseau H**, Daviet A, Saunier S. and Bataille R. on behalf of the Intergroupe Francophone du Myélome: Chromosome 13 abnormalities in multiple myeloma are mostly monosomy 13. *Br J Haematol*. 111: 1116-1117 (2000).

5. **Avet-Loiseau H,** Facon T, Grosbois B, Magrangeas F, Rapp MJ, Harousseau JL, Minvielle S, Bataille R; Intergroupe Francophone du Myélome: Oncogenesis of multiple myeloma: 14q32 and 13q chromosomal abnormalities are not randomly distributed, but correlate with natural history, immunological features, and clinical presentation. *Blood J*. 99: 2185-2191 (2002).

6. **Avet-Loiseau H**, Garand R, Lodé L, Harousseau JL, Bataille R; Intergroupe Francophone du Myélome: Translocation t(11;14)(q13;q32) is the hallmark of IgM, IgE, and nonsecretory multiple myeloma variants. *Blood J*. 101: 1570-1571 (2003).

7. **Avet-Loiseau H**, Attal M, Moreau P, Charbonnel C, Garban F, Hulin C, Leyvraz S, Michallet M, Yakoub-Agha I, Garderet L, Marit G, Michaux L, Voillat L, Renaud M, Grosbois B, Guillerm G, Benboubker L, Monconduit M, Thieblemont C, Casassus P, Caillot D, Stoppa AM, Sotto JJ, Wetterwald M, Dumontet C, Fuzibet JG, Azais I, Dorvaux V, Zandecki M, Bataille R, Minvielle S, Harousseau JL, Facon T, Mathiot C: Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myélome. *Blood J*. 109: 3489-3495 (2007).

8. **Baldini L**, Guffanti A, Cesana BM, Colombi M, Chiorboli O, Damilano I, Maiolo AT: Role of different hematologic variables in defining the risk of transformation in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood J*. 87: 912-918 (1996).

9. **Bataille R**, Grenier J, Sany J: Beta-2-microglobulin in myeloma: optimal use for staging, prognosis, and treatment--a prospective study of 160 patients. *Blood J*. 63: 468-476 (1984).

10. **Bataille R**, Grenier J: Serum beta 2 microglobulin in multiple myeloma. A critical review. *Eur J Cancer Clin Oncol.* 23: 1829-1832 (1987) Review.

11. **Bataille R,** Klein B: Serum levels of beta 2 microglobulin and interleukin-6 to differentiate monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood J.* 80: 2433-2434 (1992).

12. **Benschop R,** Cambier C: B cell development: signal transductionby antigen receptors and their surrogates. Curr Opin Immunol. 11 143-151 (1999)

13. **Bergsagel PL,** Kuehl WM: Chromosome translocations in multiple myeoma. *Oncogene* 20: 5611-5622 (2001).

14. **Bladé J**, Lopez-Guillermo A, Rozman C, Cervantes F, Salgado C, Aguilar JL, Vives-Corrons JL, Montserrat E: Malignant transformation and life expectancy in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Br J Haematol*. 81: 391-394 (1992).

15. **Bladé J:** On the „Significance"of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *Mayo Clin Proc* 79: 855-856 (2004).

16. **Bladé J**: Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *New Engl J Med*. 355: 2765-2770 (2006).

17. **Bladé J**, Rosinõl L, Cibeira MT, de Larrera CF: Spothlight Review: Pathogenesis and progression of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Leukemia* 22: 1651-1657 (2008).

18. **Bochtler T,** Hegenbart U, Cremer FW, Heiss C, Benner A, Hose D, Moos M, Bila J, Bartram CR, Ho AD, Goldschmidt H, Jauch A, Schonland SO: Evaluation of the cytogenetic aberration pattern in amyloid light chain amyloidosis as compared with monoclonal gammopathy of undetermined significance reveals common pathways of karyotypic instability. *Blood J*. 111: 4700-4705 (2008).

19. **Bradwell AR,** Carr-Smith HD, Mead GP, Tang LX, Showell PJ, Drayson MT, Drew R: Highly sensitive, automated immunoassay for immunglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem*. 47: 673-680 (2001).

20. **Bradwell AR**, Carr-Smith HD, Mead GP, Harvey TC, Drayson MT: Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma. *Lancet* 361: 489-491 (2003).

21. **Bradwell AR:** Serum free light chain measurement move to center stage**.** *Clin Chem.* 51: 805-807 (2005).

22. **Brousseau M**, Leleu X, Gerard J, Gastinne T, Godon A, Genevieve F, Dib M, Lai JL, Facon T, Zandecki M; Intergroupe Francophone du Myélome: Hyperdiploidy is a common finding in monoclonal gammopathy of undetermined significance

and monosomy 13 is restricted to these hyperdiploid patients. *Clin Cancer Res*. 13: 6026-6031 (2007).

23. **Brown LM,** Gridley G, Check D, Landgren O: Risk of multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance among white and black male United States veterans with prior autoimmune, infectious, inflammatory and allergic disorders. *Blood J.* 101: 3388-3394 (2008).

24. **Cesana C,** Klersy C, Barbarano L, Nosari AM, Crugnola M, Pungolino E, Gargantini L, Granata S, Valentini M, Morra E: Prognostic factors for malignant transformation in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 20: 1625-1634 (2002).

25. **Chang H**, Qi C, Yi QL, Reece D, Stewart AK: p53 gene deletion detected by fluorescence in situ hybridization is an adverse prognostic factor for patients with multiple myeloma following autologous stem cell transplantation. *Blood J*. 105: 358-360 (2005).

26. **Chang H,** Yeung J, Xu W, Ning Y, Patterson B: Significant increase of CKS1B amplification from monoclonal gammopathy of undetermined significance to multiple myeloma and plasma cell leukaemia as demonstrated by interphase fluorescence in situ hybridisation. *Br J Haematol.* 134: 613-615 (2006).

27. **Chang H**, Qi X, Jiang A, Xu W, Young T, Reece D: 1p21 deletions are strongly associated with 1q21 gains and are an independent adverse prognostic factor for the outcome of high-dose chemotherapy in patients with multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.* 45: 117-121 (2010).

28. **Chesi M**, Bergsagel PL, Brents LA, Smith CM, Gerhard DS, Kuehl WM: Dysregulation of cyclin D1 by translocation into an IgH gamma switch region in two multiple myeloma cell lines. *Blood J*. 88: 674-681 (1996).

29. **Chesi M,** Brents LA, Ely SA, Bais C, Robbiani DF, Mesri EA, Kuehl WM, Bergsagel PL: Activated fibroblast growth factor receptor 3 is an oncogene that contributes to tumor progression in multiple myeloma. *Blood J.* 97: 729-736 (2001).

30. **Chiecchio L,** Dagrada GP, Cabanas ED, Protheroe R, Stockley DM, Konn ZJ, Cross N, Harrison Ch and Ross FM: Gain of 1q21 does not predict for immediate progression in MGUS. *Blood J.* (ASH Annual Meeting Abstracts) 114: abstract 123 (2009a) (Abstract).

31. **Chiecchio L**, Dagrada GP, Ibrahim AH, Dachs Cabanas E, Protheroe RK, Stockley DM, Orchard KH, Cross NC, Harrison CJ, Ross FM; UK Myeloma Forum: Timing of aquisition of deletion 13 in plasma cell dyscrasias is dependent on genetic context**.** *Haematologica* 94: 1708-1713 (2009b).

32. **Cohen HJ**, Crawford J, Rao MK, Pieper CF, Currie MS: Racial Differences in the Prevalence of Monoclonal Gammopathy in a Community-based Sample of the

Elderly. *Am J Med* 104: 439-444 (1998).

33. **Cook L,** Macdonald DHC: Management of paraproteinaemia Postgrad. Med. J. 83: 217-223 (2007).

34. **Coupland SE,** Hummel M, Stein H: Lymphatic system and differentiation of B and T lymphocytes. *Pathologe* 21: 106-112 (2000).

35. **Cremer FW,** Bila J, Buck I, Kartal M, Hose D, Ittrich C, Benner A, Raab MS, Theil AC, Moos M, Goldschmidt H, Bartram CR, Jauch A: Delineation of distinct subgroups of multiple myeloma and a model for clonal evolution based on interphase cytogenetics. *Genes Chromosomes Cancer.* 44: 194-203 (2005).

36. **Dimopoulos MA**, Moulopoulos LA, Maniatis A, Alexanian R: Sollitary plasmocytoma of bone and asymptomatic multiple myeloma. *Blood J*. 96: 2037-2044 (2000).

37. **Dispenzieri A**, Kyle RA, Katzmann JA, Therneau TM, Larson D, Benson J, Clark RJ, Melton LJ 3rd, Gertz MA, Kumar SK, Fonseca R, Jelinek DF, Rajkumar SV: Immunoglobulin free light chain ratio is an independent risk factor for progression of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *Blood J.* 111: 785-789 (2008).

38. **Dispenzieri A,** Kyle R, Merlini G, Miguel JS, Ludwig H, Hajek R, Palumbo A, Jagannath S, Blade J, Lonial S, Dimopoulos M, Comenzo R, Einsele H, Barlogie B, Anderson K, Gertz M, Harousseau JL, Attal M, Tosi P, Sonneveld P, Boccadoro M, Morgan G, Richardson P, Sezer O, Mateos MV, Cavo M, Joshua D, Turesson I, Chen W, Shimizu K, Powles R, Rajkumar SV, Durie BG; International Myeloma Working Group:
International myeloma working group guidelines for serum free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders**.** *Leukemia* 23: 215-224 (2009).

39. **Döhner H,** Fischer K, Bentz M, Hansen K, Benner A, Cabot G, Diehl D, Schlenk R, Coy J, Stilgenbaur S: p53 gene deletion predicts for poor survival and non response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leucemias. *Blood J.* 85**:** 1580-1589 (1995).

40. **Drach J,** Angerler J, Schuster J, Rothermundt C, Thalhammer R, Haas OA, Jäger U, Fiegl M, Geissler K, Ludwig H, Huber H: Interphase fluorescence in situ hybridization identifies chromosomal abnormalities in plasma cells from patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood J*. 86: 3915-3921 (1995).

41. **Drach J**, Ackermann J, Fritz E, Krömer E, Schuster R, Gisslinger H, DeSantis M, Zojer N, Fiegl M, Roka S, Schuster J, Heinz R, Ludwig H, Huber H: Presence of a p53 gene deletion in patients with multiple myeloma predicts for short survival after conventional-dose chemotherapy. *Blood J.* 92: 802-809 (1998).

42. **Durie BG,** Stock-Novack D, Salmon SE, Finley P, Beckord J, Crowley J, Coltman CA: Prognostic value of pretreatment serum beta 2 microglobulin in myeloma: a Southwest Oncology Group Study. *Blood J*. 15: 823-830 (1990).

43. **Facon T**, Avet-Loiseau H, Guillerm G, Moreau P, Geneviève F, Zandecki M, Laï JL, Leleu X, Jouet JP, Bauters F, Harousseau JL, Bataille R, Mary JY; Intergroupe Francophone du Myélome: Chromosome 13 abnormalities identified by FISH analysis and serum beta2-microglobulin produce a powerful myeloma staging system for patients receiving high-dose therapy. *Blood J*. 97: 1566-1571 (2001).

44. **Fonseca R,** Oken MM, Greipp PR; Eastern Cooperative Oncology Group Myeloma Group**:** The t(4;14)(p16.3;q32) is strongly associated with chromosome 13 abnormalities in both multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood J.* 98: 1271-1272 (2001a).

45. **Fonseca R,** Oken MM, Harrington D, Bailey RJ, Van Wier SA, Henderson KJ, Kay NE, Van Ness B, Greipp PR, Dewald GW: Deletions of chromosome 13 in multiple myeloma identified by interphase FISH usually denote large deletions of the q arm or monosomy. *Leukemia* 15: 981-986 (2001b).

46. **Fonseca R**, Bailey RJ, Ahmann GJ, Rajkumar SV, Hoyer JD, Lust JA, Kyle RA, Gertz MA, Greipp PR, Dewald GW: Genomic abnormalities in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood J.* 100: 1417-1424 (2002a).

47. **Fonseca R,** Blood EA, Oken MM, Kyle RA, Dewald GW, Bailey RJ, Van Wier SA, Henderson KJ, Hoyer JD, Harrington D, Kay NE, Van Ness B, Greipp PR: Myeloma and the t(11;14)(q13;q32); evidence for a biologically defined unique subset of patients. *Blood J.* 99: 3735-3741 (2002b).

48. **Fonseca R**, Harrington D, Oken MM, Dewald GW, Bailey RJ, Van Wier SA, Henderson KJ, Blood EA, Rajkumar SV, Kay NE, Van Ness B, Greipp PR: Biological and prognostic significance of interphase fluorescence in situ hybridization detection of chromosome 13 abnormalities (delta13) in multiple myeloma: an eastern cooperative oncology group study. *Cancer Res.* 62: 715-720 (2002c).

49. **Fonseca R,** Blood E, Rue M, Harrington D, Oken MM, Kyle RA, Dewald GW, Van Ness B, Van Wier SA, Henderson KJ, Bailey RJ, Greipp PR: Clinical and biologic implications of recurrent genomic aberrations in myeloma**.** *Blood J*. 101: 4569-4575 (2003a).

50. **Fonseca R,** Debes-Marun CS, Picken EB, Dewald GW, Bryant SC, Winkler JM, Blood E, Oken MM, Santana-Dávila R, González-Paz N, Kyle RA, Gertz MA, Dispenzieri A, Lacy MQ, Greipp PR: The recurrent IgH translocations are highly associated wth nonhyperdilpoid variant myeloma. *Blood J*. 102: 2562-2567 (2003b).

51. **Fonseca R**, Barlogie B, Bataille R, Bastard C, Bergsagel PL, Chesi M, Davies FE, Drach J, Greipp PR, Kirsch IR, Kuehl WM, Hernandez JM, Minvielle S, Pilarski LM, Shaughnessy JD Jr, Stewart AK, Avet-Loiseau H: Genetics and cytogenetics

of multiple myeloma: a workshop report. *Cancer Res.* 64: 1546-1558 (2004).

52. **Fonseca R,** Van Wier SA, Chng WJ, Ketterling R, Lacy MQ, Dispenzieri A, Bergsagel PL, Rajkumar SV, Greipp PR, Litzow MR, Price-Troska T, Henderson KJ, Ahmann GJ, Gertz MA: Prognostic value of chromosome 1q21 gain by fluorescent in situ hybridization and increase CKS1B expression in myeloma. *Leukemia.* 20: 2034-2040 (2006).

53. **Fonseca R,** Bergsagel PL, Drach J, Shaughnessy J, Gutierrez N, Stewart AK, Morgan G, Van Ness B, Chesi M, Minvielle S, Neri A, Barlogie B, Kuehl WM, Liebisch P, Davies F, Chen-Kiang S, Durie BG, Carrasco R, Sezer O, Reiman T, Pilarski L, Avet-Loiseau H; International Myeloma Working Group: International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: spotlight review. *Leukemia*. 23: 2210-2221 (2009).

54. **Garewal H,** Durie BG, Kyle RA, Finley P, Bower B, Serokman R: Serum beta-2 microglobulin in the initial staging and subsequent monitoring of monoclonal plasma cell disorders. *J Clin Oncol*. 2: 51-57 (1984).

55. **Gregersen H**, Mellemkjaer L, Ibsen JS, Dahlerup JF, Thomassen L, Sørensen HT. The impact of M-component type and immunoglobulin concentration on the risk of malignant transformation in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Haematologica* 86: 1172-1179 (2001).

56. **Greipp PR,** San Miguel J, Durie BG, Crowley JJ, Barlogie B, Bladé J, Boccadoro M, Child JA, Avet-Loiseau H, Kyle RA, Lahuerta JJ, Ludwig H, Morgan G, Powles R, Shimizu K, Shustik C, Sonneveld P, Tosi P, Turesson I, Westin J. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 23: 3412-3420 (2005).

57. **Hallek M**, Bergsagel PL, Anderson KC: Multiple myeloma: increasing evidence for a multistep transformation process. *Blood J.* 91: 3-21 (1998).

58. **Hanamura I,** Stewart JP, Huang Y, Zhan F, Santra M, Sawyer JR, Hollmig K, Zangarri M, Pineda-Roman M, van Rhee F, Cavallo F, Burington B, Crowley J, Tricot G, Barlogie B, Shaughnessy JD Jr: Frequent gain of chromosome band 1q21 in plasma-cell dyscrasias detected by fluorescence in situ hybridization: incidence increases from MGUS to relapsed myeloma and is related to prognosis and disease progression following tandem stem-cell transplantation. *Blood J*. 108: 1724-1732 (2006).

59. **Hayman SR,** Bailey RJ, Jalal SM, Ahmann GJ, Dispenzieri A, Gertz MA, Greipp PR, Kyle RA, Lacy MQ, Rajkumar SV, Witzig TE, Lust JA, Fonseca R: Translocations involving the immunoglobulin heavy-chain locus are possible early genetic events in patients with primary systemic amyloidosis. *Blood J.* 98: 2266-2268 (2001).

60. **Hideshima T,** Bergsagel PL, Kuehl WM, Anderson KC: Advances of biology in multiple myeloma: clinical applications. *Blood J.* 104: 607-618 (2004).

61. **Ho F,** Lortan JE**,** MacLennan IC, Khan M: Distinct short- lived and long- lived antibody-producing cell populations. *Eur J Immunol.* 16: 1297-1301 (1986).

62. **Hoyer JD,** Hanson CA, Fonseca R, Greipp PR, Dewald GW, Kurtin PJ: The (11;14)(q13;q32) translocation in multiple myeloma. A morphologic and immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol.* 113: 831-837 (2000).

63. **Hunter T**, Pines J: Cyclins and cancer. II: Cyclin D and CDK inhibitors come of age. *Cell*. 79: 573-582 (1994).

64. **Iwanaga M,** Tagawa M, Tsukasaki K, Matsuo T, Yokota K, Miyazaki Y, Fukushima T, Hata T, Imaizumi Y, Imanishi D, Taquchi J, Momita S, Kamihira S, Tomonaga M: Relationship between monoclonalgammopathy of undetermined significance and radiation exposure in Nagasaki atomic bomb survivors. *Blood J.* 113: 1639-1650 (2009).

65. **Jacobs H**, Bross L: Towards an understanding of somatic hypermutation**.** *Curr Opin Immunol*. 13: 208-218 (2001).

66. **Katzmann JA,** Clark RJ, Abraham RS, Bryant S, Lymp JF, Bradwell AR, Kyle RA: Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin Chem.* 48: 1437-1444 (2002).

67. **Keats JJ,** Reiman T, Maxwell CA, Taylor BJ, Larratt LM, Mant MJ, Belch AR, Pilarski LM: In multiple myeloma, t(4;14)(p16;q32) is an adverse prognostic factor irrespective of FGFR3 expression. *Blood J.* 101: 1520-1529 (2003).

68. **Königsberg R,** Ackermann J, Kaufmann H, Zojer N, Urbauer E, Krömer E, Jäger U, Gisslinger H, Schreiber S, Heinz R, Ludwig H, Huber H, Drach J: Deletions of chromosome 13q in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Leukemia* 14: 1975-1979 (2000).

69. **Kuehl WM,** Bergsagel PL: Multiple myeloma: evolving genetic events and host interactions. *Nat Rev Cancer.* 3: 175-187 (2002).

70. **Kuehl WM,** Bergsagel PL: Early genetic events provide the basis for a clinical classification of multiple myeloma. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 346-352 (2005).

71. **Kumar S,** Dispenzieri A, Katzmann JA, Larson DR, Colby CL, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK, Leung N, Zeldenrust SR, Ramirez-Alvarado M, Clark RJ, Kyle RA, Rajkumar SV, Gertz MA: Serum immunoglobulin free light-chain measurement in primary amyloidosis: prognostic value and correlations with clinical features. *Blood J.* 116: 5126-5129 (2010a).

72. **Kumar S,** Zhang L, Dispenzieri A, Van Wier S, Katzmann JA, Snyder M, Blood E, DeGoey R, Henderson K, Kyle RA, Bradwell AR, Greipp PR, Rajkumar SV, Fonseca R: Relationship between elevated immunglobulin free light chain and the presence of IgH translocations in multiple myeloma.

Leukemia 24: 1498-1505 (2010b).

73. **Küppers R,** Klein U, Hansmann ML, Rajewsky K: Cellular origin of human B-cell lymphomas. *New Engl J Med*. 341: 1520-1529 (1999).

74. **Küppers R,** Dalla-Favera R: Mechanisms of chromosomal translocations in B cell lymphomas. *Oncogene* 20: 5580-5594 (2001).

75. **Kyle RA:** Monoclonal gammopathy of undetermined significance : natural history in 241 cases. *Am J Med*. 64: 814-826 (1978).

76. **Kyle RA,** Therneau TM, Rajkumar SV, Offord JR, Larson DR, Plevak MF, Melton LJ: A Long-Term Study Of Prognosis In Monoclonal Gammopathy Of Undetermined Significance. *New Engl J Med*. 346: 564-569 (2002).

77. **Kyle RA,** Therneau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MF, Melton LJ 3rd.: Long-term follow-up of 241 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance: the original Mayo Clinic series 25 years later. *Mayo Clin Proc. 79: 859-866 (2004).*

78. **Kyle RA**, Therneau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MF, Offord JR, Dispenzieri A, Katzmann JA, Melton LJ: Prevalence of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *New Engl J Med.* 354: 1362-1369 (2006).

79. **Kyle RA**, Rajkumar SV: Treatment of multiple myeloma: a comprehensive review. *Clin Lymphoma Myeloma* 9: 278-288 (2009).

80. **Landgren O**, Gridley G, Turesson I, Caporaso NE, Goldin LR, Baris D, Fears TR, Hoover RN, Linet MS: Risk of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and subsequent multiple myeloma among African American and white veterans in the United States. *Blood J.* 107: 904-906 (2006).

81. **Landgren O,** Kristinsson SY, Goldin LR, Caporaso NE, Blimark C, Mellqvist UH, Wahlin A, Bjorkholm M, Turesson I: Risk of plasmacell and lymphoproliferative disorders among 14621 dirst-degree relatives of 4458 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance in Sweden. *Blood J*. 114: 791-795 (2009a).

82. **Landgren O**, Kyle RA, Pfeiffer RM, Katzmann JA, Caporaso NE, Hayes RB, Dispenzieri A, Kumar S, Clark RJ, Baris D, Hoover R, Rajkumar SV: Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. *Blood J.* 113: 5412-5417 (2009b).

83. **Landgren O,** Rajkumar SV, Pfeiffer RM, Kyle RA, Katzmann JA, Dispenzieri A, Cai Q, Goldin LR, Caporaso NE, Fraumeni JF, Blot WJ, Signorello LB: Obesity is associated with an increased risk of monoclonal gammopathy of undetermined significance among black and white women. *Blood J.* 116: 1056-1059 (2010).

84. **Leone PE**, Walker BA, Jenner MW, Chiecchio L, Dagrada G, Protheroe RK,

Johnson DC, Dickens NJ, Brito JL, Else M, Gonzalez D, Ross FM, Chen-Kiang S, Davies FE, Morgan GJ: Deletions of CDKN2C in multiple myeloma: biological and clinical implications. *Clin Cancer Res*. 14: 6033-6041 (2008).

85. **Li Z,** Zhu YX, Plowright EE, Bergsagel PL, Chesi M, Patterson B, Hawley TS, Hawley RG, Stewart AK: Activated fibroblast growth factor receptor 3 is an oncogene that contributes to tumor progression in multiple myeloma. *Blood J.* 97: 2413-2419 (2001).

86. **Liebisch P**, Viardot A, Bassermann N, Wendl C, Roth K, Goldschmidt H, Einsele H, Straka C, Stilgenbauer S, Döhner H, Bentz M: Value of comparative genomic hybridization and fluorescence in situ hybridization for molecular diagnostics in multiple myeloma. *Br J Haematol.* 122: 193-201 (2003a)

87. **Liebisch P,** Wendl C, Wellmann A, Kröber A, Schilling G, Goldschmidt H, Einsele H, Straka C, Bentz M, Stilgenbauer S, Döhner H: High incidence of trisomies 1q, 9q, and 11q in multiple myeloma: results from a comprehensive molecular cytogenetic analysis. *Leukemia* 17: 2535-2537 (2003b).

88. **Liebisch P,** Scheck D, Erné SA, Wellmann A, Wendl C, Janczik S, Kolmus S, Kröber A, Einsele H, Straka C, Goldschmidt H, Benner A, Stilgenbauer S, Döhner H: Duplication of chromosome arms 9q and 11q: evidence for a novel, 14q32 translocation-independent pathogenetic pathway in multiple myeloma. *Genes Chromosomes Cancer.* 42: 78-81 (2005).

89. **Liebisch P**, Straka Ch, Einsele H, Hinke A, Sandermann A, Döhner H, Langer Ch: Prognostic impact of chromosomal abnormalities in elderly patients with multiple myeloma treated with high-dose Melphalan (Mel 140) and autologous stem cell transplantation. *Blood J. (*ASH Annual Meeting Abstracts) 116: Abstract 1914 (2010).

90. **Malgeri U,** Baldini L, Perfetti V, Fabris S, Vignarelli MC, Colombo G, Lotti V, Compasso S, Bogni S, Lombardi L, Maiolo AT, Neri A: Detection of t(4;14)(p16.3;q32) chromosomal translocation in multiple myeloma by reverse transcription-polymerase chain reaction analysis of IgH-MMSET fusion transcripts. *Cancer Res.* 60: 4058-4061 (2000).

91. **Malik AA,** Ganti AK, Potti A, Levitt R, Hanley JF: Role of Helocobacter pylori infection in the incidence and clinical course of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Am J Gastroenterol.* 97: 1371-1374 (2002).

92. **Marango J,** Shimoyama M, Nishio H, Meyer JA, Min DJ, Sirulnik A, Martinez-Martinez Y, Chesi M, Bergsagel PL, Zhou MM, Waxman S, Leibovitch BA, Walsh MJ, Licht JD: The MMSET proteine is a histone methyltransferase with characteristics of a transcriptional corepressor. *Blood J.* 111: 3145-3154 (2008).

93. **Martinez-Garcia E,** Popovic R, Min DJ, Sweet SM, Thomas PM, Zamdborg L, Heffner A, Will C, Lamy L, Staudt LM, Levens DL, Kelleher NL, Licht JD. The MMSET histone methyl transferase switches global histone methylation and

alters gene expression in t(4;14) multiple myeloma cells. *Blood J.* 117: 211-220 (2011).

94. **Mc Master ML,** Landgren O: Prevalence, clinical aspects, and natural history of IgM MGUS. *Clinical Cytometry* 78B: 91-97 (2010) Review.

95. **Moreau P,** Facon T, Leleu X, Morineau N, Huyghe P, Harousseau JL, Bataille R, Avet-Loiseau H; Intergroupe Francophone du Myélome: Recurrent 14q32 translocations determine the prognosis of multiple myeloma , especially in patients receiving intensive chemotherapy. *Blood J*. 100: 1579-1583 (2002).

96. **Munshi NC:** Monoclonal Gammopathy of undetermined Significance: Genetic vs. Environmental Etiologies. *Mayo Clinic Proc*. 82: 1468-1473 (2007)

97. **Neri A**, Baldini L, Trecca D, Cro L, Polli E, Maiolo AT: p53 gene mutations in multiple myeloma are associated with advanced forms of malignancy. *Blood J.* 81: 128-135 (1993).

98. **Papavasiliou FN,** Schatz DG: Somatic hypermutation of immunoglobulin genes: merging mechanisms for genetic diversity. *Cell* 109: S 35-44 (2000) Review.

99. **Pasqualetti P,** Collacciani A, Casale R: Risk of monoclonal gammopathy of undetermined significance : a case - referent study. *Am J Haematol.* 52: 217-220 (1996).

100. **Preudhomme** C, Fenaux P: p53 and hematologic malignancies. *Pathol Biol (Paris).* 45:898-908 (1997) .

101. **Rajkumar SV,** Kyle RA, Therneau TM, Melton LJ, Bradwell AR, Clark RJ, Larson DR, Plevak MF, Dispenzieri A, Katzmann JA: Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood J.* 106: 812-817 (2005).

102. **Rosiñol L,** Cibeira MT, Montoto S, Rozman M, Esteve J, Filella X, Bladé J: Monoclonal gammopathy of undetermined significance: predictors of malignant transformation and recognition of an evolving type characterized by a progressive increase in M protein size. *Mayo Clin Proc*. 82: 428-434 (2007).

103. **Rossi F**, Petrucci MT, Guffanti A, Marcheselli L, Rossi D, Callea V, Vincenzo F, De Muro M, Baraldi A, Villani O, Musto P, Bacigalupo A, Gaidano G, Avvisati G, Goldaniga M, Depaoli L, Baldini L. Proposal and validation of prognostic scoring systems for IgG and IgA monoclonal gammopathies of undetermined significance. *Clin Cancer Res.* 15: 4439-4445 (2009).

104. **Schwartz RS:** Jumping genes and the immunglobulin V gene system*. N Engl J Med*. 333: 42-44 (1995).

105. **Shaughnessy JD Jr,** Zhan F, Burington BE, Huang Y, Colla S, Hanamura I, Stewart JP, Kordsmeier B, Randolph C, Williams DR, Xiao Y, Xu H, Epstein J, Anaissie E, Krishna SG, Cottler-Fox M, Hollmig K, Mohiuddin A, Pineda-Roman M, Tricot G,

van Rhee F, Sawyer J, Alsayed Y, Walker R, Zangari M, Crowley J, Barlogie B: A validated gene expression model of high-risk multiple myeloma is defined by deregulated expression of genes mapping to chromosome 1. *Blood J.* 109: 2276-2284 (2007).

106. **Smadja NV**, Bastard C, Brigaudeau C, Leroux D, Fruchart C; Groupe Français de Cytogénétique Hématologique: Hypodiploidy is a major prognostic factor in multiple myeloma. *Blood J*. 98: 2229-2238 (2001).

107. **Smadja NV,** Leroux D, Soulier J, Dumont S, Arnould C, Taviaux S, Taillemite JL, Bastard C: Further cytogenetic characterisation of multiple myeloma confirms that 14q32 translocations are a very rare event in hyperdiploid cases. *Genes Chromosomes Cancer* 38: 234-239 (2003).

108. **Soverini S,** Cavo M, Cellini C, Terragna C, Zamagni E, Ruggeri D, Testoni N, Tosi P, De Vivo A, Amabile M, Grafone T, Ottaviani E, Giannini B, Cangini D, Bonifazi F, Neri A, Fabris S, Tura S, Baccarani M, Martinelli G: Cyclin D1 overexpression is a favorable prognostic variable for newly diagnosed multiple myeloma patients treated with high-dose chemotherapy and single or double autologous transplantation. *Blood J*. 102: 1588-1594 (2003).

109. **Specht K**, Haralambieva E, Bink K, Kremer M, Mandl-Weber S, Koch I, Tomer R, Hofler H, Schuuring E, Kluin PM, Fend F, Quintanilla-Martinez L: Different mechanisms of cyclin D1 overexpression in multiple myeloma revealed by fluorescence in situ hybridization and quantitative analysis of mRNA levels. *Blood J.* 104: 1120-1126 (2004).

110. **Tarlinton D:** B-Cell Differentiation in the Bone Marrow and the Periphery. *Immunol. Rev.*137: 203-229 (1994).

111. **The International Myeloma Working Group**: Criteria fot the classification of monoclonalgammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol.* 121: 749-757 (2003).

112. **Thelander EF**, Ichimura K, Corcoran M, Barbany G, Nordgren A, Heyman M, Berglund M, Mungall A, Rosenquist R, Collins VP, Grandér D, Larsson C, Lagercrantz S: Characterization of 6q deletions in mature B cell lymphomas and childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma.* 49: 477-487 (2008).

113. **Tiedemann RE**, Gonzalez-Paz N, Kyle RA, Santana-Davila R, Price-Troska T, Van Wier SA, Chng WJ, Ketterling RP, Gertz MA, Henderson K, Greipp PR, Dispenzieri A, Lacy MQ, Rajkumar SV, Bergsagel PL, Stewart AK, Fonseca R: Genetic aberrations and survival in plasma cell leukemia. *Leukemia* 22: 1044-1052 (2008).

114. **Vachon CM,** Kyle RA, Therneau TM, Foreman BJ, Larson DR, Colby CL, Phelps TK, Dispenzieri A, Kumar SK, Katzmann JA, Rajkumar SV: Increased risk of monoclonal gammopathy in first- degree relatives of patients with multiple

myeloma or monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood J.* 114: 785-790 (2009).

115. **Varettoni M,** Corso A, Cocito F, Mangiacavalli S, Pascutto C, Zappasodi P, Pica G, Lazzarino M: Changing pattern of presentation in monoclonal gammopathy of undetermined significance: a single-center experience with 1400 patients. *Medicine (Baltimore)* 89: 211-216 (2010).

116. **Vuckovic J,** Ilic A, Knezevic N, Marinkovic M, Zemunik T, Dubravcic M: Prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Br J Haematol.* 97: 649-651 (1997).

117. **Waldmann TA,** Strober WS, Mogielnicki RP: The renal handling of low molecular weight proteins II. Disorders of serum protein catabolism in patients with tubular proteinuria, the nephrotic syndrom or uremia. *J Clin Invest*. 51: 2162-2174 (1972).

118. **Weiss BM,** Abadie J, Verma P, Howard RS, Kuehl WM: A monoclonal gammopathy precedes multiple myeloma in most patients. *Blood J.* 113: 5418-5422 (2009).

119. **Winkler JM**, Greipp P, Fonseca R: t(4;14)(p16.3;q32) is strongly associated with a shorter survival in myeloma patients. *Br J Haematol.* 120: 170-171 (2003).

120. **Zojer N**, Königsberg R, Ackermann J, Fritz E, Dallinger S, Krömer E, Kaufmann H, Riedl L, Gisslinger H, Schreiber S, Heinz R, Ludwig H, Huber H, Drach J: Deletion of 13q14 remains an independent adverse prognostic variable in multiple myeloma despite its frequent detection by interphase fluorescence in situ hybridization. *Blood J.* 95: 1925-1930 (2000).

Anhangsverzeichnis

Anhang 1: Laborreferenzwerte 68

Anhang 2: Danksagung 79

Anhang 3: Lebenslauf 70

Laborreferenzwerte

Laborwert	männlich	weiblich
Leukozyten	4,4-11,3 G/l	4,4-11,3 G/l
Thrombozyten	150-450 G/l	150-450 G/l
Hämoglobin	14,0-17,4 mg/dl	12,3-15,3 mg/dl
Kalzium	2,1-2,6 µmol/l	2,1-2,6 µmol/l
Kreatinin	72-127 µmol/l	58-96 µmol/l
LDH	<250 U/l	<250 U/l
Beta-2-Mikroglobulin	<3,0 mg/l	<3,0 mg/l
IgA	0,7-5,0 g/l	0,7-5,0 g/l
IgG	7,0-16,0 g/l	7,0-16,0 g/l
IgM	0,4-2,3 g/l	0,4-2,8 g/l
Freie Kappa-Leichtketten	3,3-19,4 mg/l	3,3-19,4 mg/l
Freie Lambda-Leichtketten	5,71-26,3 mg/l	5,71-26,3 mg/l
Protein (Gesamteiweiß)	66-83 g/l	66-83 g/l
Albumin	35-53 g/l	35-53 g/l
Gamma Globuline (relativ)	8,0-15,8 %	8,0-15,8 %

Danksagung

Abschließend möchte ich mich bei all jenen bedanken, die mich beim Erstellen der vorliegenden Arbeit unterstützt haben:

Herrn Prof. Dr. med. Hartmut Döhner danke ich für die Möglichkeit der Promotion in seiner Abteilung.

Herrn PD. Dr. med. Peter Liebisch danke ich herzlich für die Vergabe des interessanten Themas sowie für die sorgfältige Durchsicht der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. Christian Langer, der durch seine fachliche Betreuung und freundliche Unterstützung wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meiner Familie für ihre immerwährende Unterstützung bedanken.

Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt