

Universitätsklinikum Ulm  
Zentrum für Innere Medizin  
Klinik für Innere Medizin III  
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. H. Döhner

Vergleich verschiedener  
Postremissionsstrategien bei der akuten  
myeloischen Leukämie mit normalem Karyotyp

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

von Franz Király, geb. in Ulm

2007

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Klaus-Michael Debatin

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Hartmut Döhner

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Sven Norbert Reske

Tag der Promotion: 17.07.2008

# Inhaltsverzeichnis

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>5</b>
<b>1 EINLEITUNG</b>	<b>8</b>
1.1 Definition	8
1.2 Epidemiologie	8
1.3 Ätiologie	9
1.4 Pathogenese	10
1.5 Klinik	12
1.6 Diagnostik und Klassifikation	13
1.7 Therapie	15
1.8 Prognostische Faktoren	19
1.8.1 Bedeutung der Zytogenetik	19
1.8.2 Klinische Prognosefaktoren	20
1.8.3 Prognostische Bedeutung molekularer Marker bei der AML mit normalem Karyotyp	21
1.9 Fragestellungen	23
Fragestellungen aus der AML-HD98-A-Studie	23
Explorative Fragestellungen	23
<b>2 MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>24</b>
2.1 Studiendesign	24
2.1.1 Einschluss- und Ausschlusskriterien der AML-HD98-A-Studie	24
2.1.2 Definition der Risikogruppen	25
2.2 Behandlungsplan	26
2.2.1 Therapieablauf	26
2.2.2 Induktion	27
2.2.3 Konsolidierung	28
2.3 Daten	29
2.3.1 Erhobene Daten und Evaluation	29
2.3.2 Remissionskriterien	30
2.3.3 Endpunkte der Analyse	31
2.4 Biometrie und statistische Methoden	32
<b>3 ERGEBNISSE</b>	<b>34</b>
3.1 Patientenkollektiv	34
3.2 Flussdiagramm für das Studienkollektiv	37
3.3 Genetische Mutationen und deren Interaktionen	40

<b>3.4</b>	<b>Überleben der Auswertungsgesamtheit</b>	<b>46</b>
<b>3.5</b>	<b>Einflussgrößen auf die Doppelinduktion</b>	<b>48</b>
<b>3.6</b>	<b>Prognosekriterien für Refraktäre</b>	<b>50</b>
3.6.1	Rezidivfreies Überleben	50
3.6.2	Gesamtüberleben	51
<b>3.7</b>	<b>Prognosekriterien im Konsolidierungskollektiv</b>	<b>52</b>
3.7.1	Postremissionstherapie	52
3.7.2	Univariate Prädiktoren	61
3.7.3	Multivariate Modelle	65
<b>3.8</b>	<b>Prognosekriterien im Rezidiv</b>	<b>68</b>
<b>3.9</b>	<b>Prognosekriterien für das Gesamtkollektiv</b>	<b>70</b>
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>72</b>
<b>4.1</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>72</b>
4.1.1	Vergleich mit aktuellen randomisierten Studien	72
4.1.2	Prognosekriterien	75
4.1.3	Postremissionstherapie	83
<b>4.2</b>	<b>Schlussfolgerungen</b>	<b>88</b>
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>90</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>92</b>
	<b>DANKSAGUNG</b>	<b>106</b>
	<b>LEBENS LAUF</b>	<b>107</b>

## Abkürzungsverzeichnis

A-HAM	Name eines Chemotherapiezyklusschemas: All-Trans-Retinolsäure, Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone
ALL	akute lymphatische Leukämie
Allo-...	allogene(r/s) ...
AML	akute myeloische Leukämie
s-AML	sekundäre AML (nach MDS)
t-AML	therapieassoziierte AML (nach Radio- oder Chemotherapie)
AML-HD93	Name einer AML-Studie
AML-HD98A	Name einer AML-Studie
AMLSG Ulm	AML-Studiengruppe Ulm
APL	akute Promyelozytenleukämie
ATRA	All-Trans-Retinolsäure (all-trans retinoic acid)
Auto-	autologe(r/s) ...
BCR-abl	Name einer Tyrosinkinase bzw. das codierende Gen (kursiv)
BMT	Knochenmarkstransplantation (bone marrow transplantation)
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
bzw.	beziehungsweise
c-KIT	Name einer Tyrosinkinase bzw. das codierende Gen (kursiv)
ca.	circa
CALGB	Cancer and Leukemia Group B
CBF	core binding factor
CBFA	core binding factor alpha
CBFB	core binding factor beta
CDxx	Cluster of Differentiation No. xx (zelluläre immunphänotypische Merkmalsgruppen)
CCAAT	Name einer 5-Basen-Promotersequenz
<i>C/EBP<math>\alpha</math></i>	CCAAT/Enhancer-binding Protein Alpha
<i>CEBPA</i>	CCAAT/Enhancer-binding Protein Alpha
CI	Konfidenzintervall (x%-CI)
CML	chronisch myeloische Leukämie

CMP	gemeinsame myeloische Vorgängerzelle (common myeloid progenitor)
CR	Komplette Remission (complete remission)
CRi	CR mit inkompletter Regeneration der Hämatopoese
DGHO	Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
ED	Frühtodesfall (early death)
EORTC	European Organisation for Research and Treatment of Cancer
FAB	French-American-British Group
<i>FLT3</i>	FMS-like tyrosine kinase 3 = CD135
<i>FLT3</i> -D835	Mutation des <i>FLT3</i> mit L-Asparaginat (=D) an Stelle 835
<i>FLT3</i> -ITD	<i>FLT3</i> internal tandem duplication
<i>FLT3</i> -TKD	<i>FLT3</i> tyrosine kinase domain mutation; = <i>FLT3</i> -D835
G-CSF	Filgrastin; granulocyte-colony stimulating factor
GIMEMA	Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto
GMP	granulomonozytäre Vorgängerzelle (granulomeloid progenitor)
GOELAM	Groupe Ouest-Est Leucémies Aigues Myeloblastiques
GÜ	Gesamtüberleben
HD	Tod in Hypoplasie (hypoplastic death)
HLA	Humanes Leukozytenantigen (human leukocyte antigen)
HOX	Homeobox(-Gene)
HSC	hämatopoetische Stammzelle (hematopoietic stem cell)
ICE	Name eines Chemotherapiezyklus: Idarubicin, Cytarabin, Etoposid
incl.	inklusive
inv(x)	Inversion von Chromosom x
ITD	inverse Tandemduplikation
HAM	Name eines Chemotherapiezyklus: Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone
KM	Knochenmark
LDH	Laktat-Dehydrogenase
LP	Leukapherese

<i>MLL</i>	mixed lineage leukemia (gene)
MPO	Myeloperoxidase (/peroxydase)
MRC AML-10	Name einer AML-Studie
<i>NPM1</i>	Nucleophosmin 1
OR	Odds Ratio
OS	Gesamtüberleben (overall survival)
RAEB	Refraktäre Anämie mit Blastenexzess (refractory anemia with excess of blasts; 5-20% Blasten im Ausstrich)
RAEB-T	RAEB in transformation (AML nach WHO mit 20-30% Blasten im Ausstrich)
RAR	Rezeptor für ATRA (retinoic acid receptor) bzw. das codierende Gen (kursiv)
RAS	Name für ein (G-)Protein und codierendes Gen (kursiv); Akronym für „RAts with Sarcoma“
RD	Refraktärität (resistant disease)
RFS	rezidivfreies Überleben (relapse-free survival)
RFÜ	rezidivfreies Überleben
SEER	Surveillance Epidemiology and End Results
SWOG	Southwest Oncology Group
PAS	Periodsäure; Schiff-Reagenz (periodic acid Schiff reagens)
PBSCT/PBST	Blutstammzelltransplantation (peripheral blood stem cell transplantation)
PML	(akute) Promyelozytenleukämie
POX	Peroxidase/Peroxydase
PR	Partielle Remission (partial remission)
RAS	Name für ein G-Protein bzw. das codierende Gen (kursiv)
t(x;y)	Translokation von Chromosom x auf Chromosom y
TP	Transplantation
TPL	Transplantation
u.a.	unter anderem
vs.	versus
WHO	Weltgesundheitsorganisation (World Health Organization)
z.B.	zum Beispiel

# **1 Einleitung**

Gegenstand der vorliegenden Arbeit sind konfirmatorische und explorative Analysen der AML HD98-A-Studie der deutsch-österreichischen akuten myeloischen Leukämie Studien Gruppe (AMLSG) mit Fokus auf den Patienten mit normalem Karyotyp in den Tumorzellen bei Diagnose. Einen zentralen Platz nimmt der Vergleich der verschiedenen Postremissionsstrategien im Kontext mit molekularer Marker ein.

## **1.1 Definition**

Die Akute Myeloische Leukämie ist definiert durch eine maligne Vermehrung unreifer hämatopoetischer Zellen der myeloischen Zellreihe, sogenannter Blasten, im Knochenmark. Regelmäßig folgt eine Ausschwemmung der malignen Zellen in das Blut, von dort kann es auch zum Befall anderer Organe kommen.

## **1.2 Epidemiologie**

Die Inzidenz der akuten myeloischen Leukämie beträgt ca. 3-4/100.000 pro Jahr. Nach Daten des US-Amerikanischen Krebsregisters (SEER 2006) beträgt sie in den USA 3.7/100.000 pro Jahr durchschnittlich für die letzten drei Jahre. Die altersspezifische Inzidenz ist ab einem Alter von 10 Jahren steigend und besitzt ein Maximum zwischen dem 65. und 85. Lebensjahr mit ca. 15/100.000 pro Jahr, ein weiteres kleines Maximum findet sich zwischen dem 1. und 5. Lebensjahr mit ca. 3/100.000 pro Jahr. Das geschlechtsspezifische Inzidenzverhältnis beträgt 3:2=m:w (SEER 2006). Im Erwachsenenalter zwischen 20 und 65 Jahren hat die AML bezogen auf alle Arten akuter Leukämien eine Relativprävalenz von über 70%. Die 5-Jahres-Überlebensrate der an AML erkrankten Patienten unter 65 Jahren beträgt etwa 40%, bei den Patienten über 65 Jahren liegt sie unter 20% (Redaelli et al. 2003). Damit besitzt sie die niedrigsten Überlebensraten aller Leukämiearten und stellt 25% aller Krebserkrankungen im Kindes- und Jugendalter dar. Über die letzten Dekaden ist eine stetige Verbesserung der Prognose für jüngere Patienten festzustellen: Vor 30 Jahren betrug die 5-Jahres-Überlebensrate aller Patienten unabhängig von der Altersgruppe höchstens 10%.

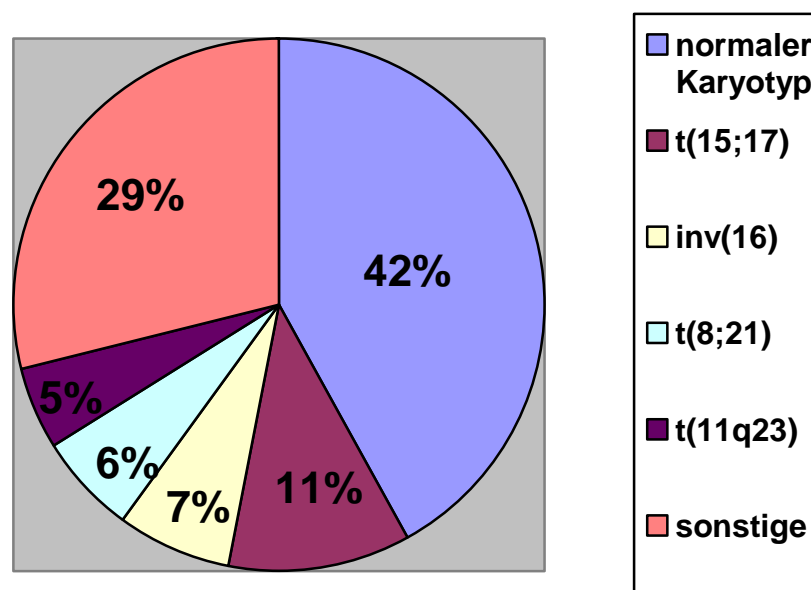


### 1.3 Ätiologie

Als Risikofaktoren für die AML gelten sämtliche Vorgänge, die eine Erhöhung der Mutationsrate im hämatopoetischen System verursachen. Die Inzidenz der AML ist signifikant erhöht bei familiärer Belastung, überdurchschnittliche Exposition zu ionisierender Strahlung, Aromaten, Zytostatika wie Alkylanzien und Anthrazykline sowie Pflanzengiften. Ebenso besteht eine signifikante Assoziation mit chronischen Erkrankungen des blutbildenden Systems wie dem myelodysplastischen Syndrom (MDS) und angeborenen Erkrankungen mit chromosomalen Veränderungen wie das Down-, Klinefelter- und Patau-Syndrom.

Man unterscheidet zwischen de-novo-AML, die ohne Vorerkrankung auftritt, sowie sekundäre Leukämien, die sich nach chemo- oder radiotherapeutischer Behandlung eines Primärmalignoms oder immunokritischer Erkrankungen (Multiple Sklerose, Kollagenosen) entwickeln (t-AML) und Leukämien, die nach einem myelodysplastischen Syndrom auftreten (s-AML).

Weiterhin kann man die AML auf Grund der in den malignen Zellen vorliegenden chromosomalen Aberrationen unterscheiden; bei fast der Hälfte der Patienten findet sich in der G-Bänderungsanalyse ein aberranter. Die relative Verteilung der vorliegenden Karyotypen bei Diagnose findet sich in Abbildung 1:



t(x;y) Translokation

inv(x) Inversion

Abbildung 1 Häufigkeitsverteilung der Karyotypen bei der akuten myeloischen Leukämie zum Zeitpunkt der Erstdiagnose, nach (Fröhling, Skelin et al. 2002)

Bei der AML wird unterschieden, ob ein normaler, also unveränderter, Karyotyp vorliegt oder nicht. Beide Gruppen bilden ungefähr die Hälfte der Patienten. Die Gruppe mit normalem Karyotyp wurde bisher in den meisten Studien als eine homogene Population behandelt. Tatsächlich besteht jedoch innerhalb der Gruppe eine hohe Variabilität bezüglich der Prognose.

## **1.4 Pathogenese**

Die Pathogenese der AML beruht nach derzeitigen Erkenntnissen auf der malignen Entartung einer myeloischen Stammzelle und deren anschließenden klonalen Vermehrung sowie der frustranen Differenzierung zu Blasten (Cozzio et al. 2003; Gilliland et al. 2004). Es gibt Hinweise, dass die AML von einer Population differenzierter proliferationsfähiger leukämischer Stammzellen aufrechterhalten wird. Die leukämischen Blasten selbst besitzen dagegen keine ausreichende Fähigkeit zum self-renewal (Holyoake et al. 2001; Guan et al. 2003). Als Ursprungszellen für die leukämischen Stammzellen werden primitive hämatopoetische Stammzellen (HSC), aber auch die liniendeterminierte Stammzellen der granulozytären und monozytären Reihe (GMP) bzw. gemeinsame myeloische Vorgängerzellen (CMP) diskutiert. In einem Mausmodell der Leukämie von Cozzio et al besaßen diese Stammzellen nach Transduktion mit einem das *MLL-ENL*-Leukämiegen codierenden retroviralen Vektor die Fähigkeit zur in-vivo-Erzeugung einer AML. Bemerkenswert ist, dass dabei mutierte HSC weit häufiger eine AML zur Folge hatten als GMP oder CMP (Cozzio et al. 2003). Dies bedeutet auch, dass sämtliche dieser Zellpopulationen potenzielle Ausgangszellen für die myeloische Leukämie sein können.

Als Mechanismen der Tumorgenese werden molekulare und chromosomale Veränderungen diskutiert, die durch Aktivierung, Destruktion und Alteration von Genen eine maligne klonale Vermehrung der entsprechenden Tumorzelle verursachen. Dies kann auf molekularer Ebene durch Punkt- oder Rastermutationen, Deletion und Duplikation, auf chromosomaler Ebene durch Translokation, Inversion, Deletion oder numerische Aberrationen geschehen.

Die bislang identifizierten Veränderungen haben meist eine unkontrollierte Proliferation oder einen Differenzierungsstop zur Folge (Lowenberg 2001; Gilliland et al. 2004); experimentelle Ergebnisse unterstützen die Annahme, dass eine akute myeloische

Leukämie auftritt, wenn sowohl eine Mutation, die eine unkontrollierte Proliferation verursacht, als auch eine Mutation mit Differenzierungsstop gleichzeitig vorliegen: Vermutet wird daher ein zweistufiger Mechanismus bei der Entstehung der AML, in dem jeweils eine dieser Mutationen auf die andere folgt.

**Tabelle 1 Typische genetische Veränderungen bei der akuten myeloischen Leukämie**

<b>Mutationen mit proliferativem Vorteil</b>	<b>Mutationen mit Differenzierungsstop</b>
<b>Klasse I</b>	<b>Klasse II</b>
<p><i>FLT3</i>-ITD (Kelly, Liu et al. 2002)</p> <p><i>FLT3</i>-TKD</p> <p><i>c-KIT</i>-Mutationen</p> <p><i>RAS</i> (Parikh et al. 2006)</p>	<p>CBF-Fusionsgene (<i>CBFA2</i> bei t(8;21), <i>CBFB</i> bei inv(16))</p> <p>Mutationen von <i>CEBPA</i> (Wang et al. 1995)</p> <p>Mutationen von <i>NPM1</i> (Grisendi et al. 2005)</p> <p><i>MLL</i>-PTD (Dorrance et al. 2006)</p> <p><i>PML-RAR-alpha</i> bei t(15;17)</p>

<b>FLT3-ITD</b>	interne Tandemduplikation des FMS-like Tyrosinkinase-Gens
<b>FLT3-TKD</b>	Mutation des FMS-like Tyrosinkinase-Gens in der Tyrosinkinase-Domäne
<b>c-KIT</b>	Gen codierend für eine Tyrosinkinase
<b>RAS</b>	Gen codierend für ein G-Protein
<b>CBF</b>	core binding factor
<b>CBFA</b>	Core binding factor alpha
<b>CBFB</b>	Core binding factor beta
<b>NPM1</b>	Nucleophosmin 1
<b>RAR-alpha</b>	Gen codierend für einen Retinsäurerezeptor
<b>CEBPA</b>	CCAAT/Enhancer-binding Protein Alpha
<b>MLL-PTD</b>	Mixed lineage leukemia gene partial tandem duplication
<b>t(x;y) Translokation</b>	<b>inv(x)</b> Inversion

Konkret wird dieses sogenannte Two-Hit-Modell von Experimenten an murinen und humanen Modellen unterstützt (Dash and Gilliland 2001; Gilliland et al. 2004): Es zeigt sich, dass in den malignen Zellen tatsächlich zwei Klassen von Mutationen auftreten: Zum einen eine Klasse von Mutationen, die einen proliferativen Vorteil für die Population der malignen Stammzellen bedingen wie die interne Tandemduplikation des *FLT3* (FMS-like tyrosine kinase 3) oder Mutationen des *RAS*-Gens (codiert GTP-ase); zum anderen Mutationen, die einen Stop der Differenzierung in der myeloischen Zellreihe verursachen, wie balancierte Translokationen mit Beteiligung des core binding factor (CBF)-Komplexes sowie des *RAR-alpha*-Gens (codiert Retinol-Rezeptor).

Dabei treten mehrere Mutationen aus jeweils derselben Klasse nur selten gemeinsam auf (Dash and Gilliland 2001; Gilliland 2002; Gilliland and Tallman 2002).

Das alleinige Vorliegen des *PML-RAR-alpha*-Fusionsgens führte in den Experimenten nicht zu einer Leukämie. Fügt man über einen Vektor eine Mutation des *FLT3*-Gens hinzu, kam es nach kurzer Latenzzeit mit hoher Penetranz zum Ausbruch einer akuten Leukämie (He et al. 1997; Dash and Gilliland 2001; Kelly, Kutok et al. 2002; Sohal et al. 2003).

Einige Mutationen konnten einer der beiden Klassen zugeordnet werden. Tabelle 1 enthält die in der vorliegenden Arbeit relevanten genetischen Veränderungen.

## **1.5 Klinik**

Die klinische Symptomatik der AML ist durch die hämatopoetische Insuffizienz und die Gewebeeinfiltration durch die leukämischen Blasten charakterisiert. Sie ist insgesamt unspezifisch, jedoch nahezu immer vorhanden.

Wie bei jeder malignen Erkrankung können allgemeine tumorspezifische Symptome wie Fieber ohne Keimnachweis, ungewollter Gewichtsverlust, Nachtschweiß oder Dyspnoe vorliegen.

Die leukämische Knochenmarksinfiltration führt zur Störung der gesunden Hämatopoese, nämlich Anämie, Granulozyto- und/oder Thrombozytopenie.

Die Anämie, die bei Diagnose fast immer vorliegt, manifestiert sich als Müdigkeit, Abgeschlagenheit und Blässe; der größte Teil der Patienten klagt bei Diagnose über allgemeines Schwächegefühl.

Die Granulozytopenie kann zu rezidivierenden, meist fieberhaften Infekten führen, die in ca. 40% der Fälle bei Erkrankungsbeginn vorliegen.

Der Mangel an Thrombozyten kann Hämorrhagien, petechiale Einblutungen der Haut (>90%) oder Schleimhäute (20-25%) sowie Epistaxis verursachen (5%).

Die infiltrative Komponente zeigt sich als Hepato- oder Splenomegalie (jeweils 15-25%), Lymphadenopathie (5-15%) oder Gingivahyperplasie (3-5%). Häufig finden sich auch

Leib- oder Gelenkschmerzen (15-20%), Knochenschmerzen (10-20%) sowie leukämische Infiltrationen der Haut oder des Zentralnervensystems (5-7%). Bei extrem hohen Leukozytenzahlen über 100.000/ $\mu$ l kann es selten zur Leukostase und nachfolgend auch zur Embolisation der Leukozytenagglutinate kommen. Entsprechende neurologische Symptome sind beispielsweise Apoplexien oder Amaurosen. Die prozentuale Verteilung aller dieser Symptome bei Diagnose ist noch einmal in Tabelle 2 zusammengefasst.

**Tabelle 2 Häufigkeiten der Symptome der akuten myeloischen Leukämie bei Erstdiagnose**

Anämie	99%
Petechiale Einblutungen der Haut	>90%
Granulozytopenie	40-50%
Petechiale Schleimhautblutungen	20-25%
Arthralgien	15-20%
Knochenschmerzen	10-20%
Lymphadenopathie	5-15%
Leukämische Infiltrate	5-7%
Epistaxis	5%

Im Labor finden sich bei den meisten Leukämieformen eine Erhöhung der BSG (Blutsenkungsgeschwindigkeit), eine proliferationsbedingte Erhöhung von LDH und Harnsäure sowie häufig eine gestörte Gerinnung.

In 75% der Fälle findet sich eine Thrombozytopenie unter 100.000/ $\mu$ l. Die Leukozytenzahl (Norm 4.000/ $\mu$ l-10.000/ $\mu$ l) ist bei einem Median von 15.000/ $\mu$ l in ca. 60% auf über 10.000/ $\mu$ l erhöht. In ca. 5% der Fälle sind bei Diagnosestellung Hyperleukozytosen über 100.000/ $\mu$ l und in ca. 20% Leukopenien unter 5.000/ $\mu$ l nachweisbar. Das Differentialblutbild zeigt in der Leukozytenreihe oft unreifzellige Blasten sowie reife und hypersegmentierte Granulozyten. Charakteristisch, aber nicht zwingend vorhanden ist das Fehlen der Zwischenstufen (Hiatus leukaemicus). (Angaben nach (Gross et al. 1968; Büchner 1999; Gökbuget et al. 2005; Wetzler et al. 2005)).

## **1.6 Diagnostik und Klassifikation**

Die Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (DGHO) empfiehlt in ihren Richtlinien zur Abklärung eines Verdachts eine standardisierte Routineerst Diagnostik.

Diese enthält neben der ausführlichen Anamnese und klinischen Untersuchung ein Standardlabor inklusive Gerinnung und Blutbild sowie ein mikroskopisches Differentialblutbild, und eine HLA-Typisierung (Gökbuget et al. 2005).

**Tabelle 3 WHO-Klassifikation der akuten myeloischen Leukämie, nach (Harris et al. 2000; Vardiman et al. 2002)**

**I. AML mit spezifischen zytogenetischen Translokationen**

AML mit Translokation t(8;21)(q22;q22), *CBFA2T1/RUNX*

Akute Promyelozytenleukämie (AML mit t(15;17)(q22;q11-12) , *PML/RAR-α* und Varianten, M3-AML)

AML mit abnormen Eosinophilen im Knochenmark (inv(16)(p13q22) oder t(16;16)(p13;q22), CBF-β/MYH 11X)

AML mit 11q23(MLL)-Abnormitäten

**II. AML mit Dysplasie verschiedener Zellreihen**

mit vorangegangenen myelodysplastischen Syndrom (s-AML)

ohne vorangegangenes myelodysplastisches Syndrom

**III. AML und myelodysplastische Syndrome, therapieassoziiert (t-AML)**

assoziiert mit alkylierenden Substanzen

assoziiert mit Epipodophyllotoxinen

andere Formen

**IV. nicht anders klassifizierte AML**

M0 AML mit minimaler Differenzierung: lichtmikroskopisch Peroxidase-negativ, aber elektronenmikroskopisch und immunologisch mit myeloischen Markern

M1 AML mit minimaler Ausreifung

M2 AML mit Ausreifung

M4 Akute myelomonozytäre Leukämie

M5 Akute monozytäre Leukämie

M6 Akute Erythroleukämie

M7 Akute megakaryozytäre Leukämie

Akute Basophilenleukämie

Akute Panmyelose mit Myelofibrose

Granulozytäres Sarkom

Abkürzungen:

**AML** akute myeloische Leukämie      **t(x,y)** Translokation      **inv(x)** Inversion

**CBF** core binding factor      **MLL** mixed lineage leukaemia gene

**CBFA2T1/RUNX, PML/RAR-α** Bezeichnung für bestimmte abnorme Gene

**M0-M7** Bezeichnung für morphologische AML-Typen nach FAB (French American British Group)

Maßgeblich für die Stellung der Diagnose einer AML ist der Nachweis myeloischer Blasten im Knochenmarksaspirat und/oder im peripheren Blut. Nach WHO-Definition liegt eine AML vor, wenn mindestens 20% myeloische Blasten im Knochenmarkaspirat oder im Differentialblutbild vorliegen oder (bei <20% Blasten) eine der spezifischen chromosomalen Aberrationen t(8;21), inv(16), t(16;16), t(15;17), Abnormitäten von

11q23 oder eine der spezifischen Mutationen (Tabelle 3.I) nachgewiesen werden kann. Nach den älteren Richtlinien der French-American-British Group liegen Leukämien erst ab 30% Blastenanteil vor, Leukämien nach WHO mit unter 30%-igem Blastenanteil gelten nach diesen Richtlinien als RAEB-T (refractory anemia with excess of blasts in transformation).

Die genauere Differenzierung der AML erfolgt morphologisch und zytochemisch nach Anfärbung unter dem Mikroskop. Zusätzlich erfolgt routinemäßig eine Immunphänotypisierung durch Durchflusszytometrie, in selteneren Fällen eine Immunhistologie.

Die historische FAB-Klassifikation (Bennett et al. 1976; Bennett et al. 1985; Bloomfield and Brunning 1985), die die AML nach morphologischen Gesichtspunkten in acht Subtypen (FAB-M0 bis FAB-M7) einteilt, ist abgelöst worden durch die feineren Kriterien der WHO (Harris et al. 2000; Vardiman et al. 2002). Die WHO-Klassifikation beruht auf zusätzlichen morphologischen, immunologischen und anamnestischen Gesichtspunkten (Tabelle 3). Je nach Karyo- oder Genotyp und Ätiologie wird die Leukämie einer der Typen unter I-III zugeordnet. Falls keine der unter I-III aufgeführten Bedingungen für die Leukämie zutrifft, wird in IV entsprechend der älteren FAB-Klassifikation morphologisch klassifiziert.

Abschnitt nach (Lowenberg et al. 1999; Appelbaum et al. 2001; Wetzler et al. 2005)

## **1.7 Therapie**

### **Phasen**

Die Behandlung der akuten myeloischen Leukämie mit normalem Karyotyp gliedert sich in zwei Phasen: Induktionsphase und Konsolidierungsphase. Innerhalb der Induktionsphase ist das Primärziel das Herbeiführen einer sogenannten kompletten Remission. Sie ist definiert durch einen Rückgang der malignen Blastenpopulation unter die lichtmikroskopische Nachweisgrenze (i.A. 5% Blasten) und die Rückbildung sämtlicher extramedullärer Manifestationen sowie die Regeneration der anderen hämatopoetischen Linien, die länger als einen Monat andauert.

Die Konsolidierungsphase, die an die Induktion anschließt, ist in der modernen AML-Therapie Standard, da sie die Rezidivrate drastisch senkt. Sie wird nach Erreichen einer

kompletten Remission, also zur Konsolidierung des Behandlungserfolges, durchgeführt und wird daher auch Postremissionstherapie genannt.

Parallel zu Induktions- und Konsolidierungstherapie wird eine sogenannte Supportivtherapie durchgeführt, deren Ziel es ist, auftretende Komplikationen wie opportunistische Infektionen oder Zytopenien zu verhindern oder abzuschwächen.

### **Induktionsphase**

Die Standardtherapie in der Induktionsphase besteht in der Applikation von Chemotherapeutika aus den Klassen der Nukleosidanaloga und/oder Anthrazykline. Zur Induktionstherapie der AML hat sich eine Kombination aus Cytosin-Arabinosid (Dillman et al. 1991) und einem Anthrazyklin als allen anderen Optionen als gleichwertig oder überlegen erwiesen (Berman et al. 1989; Arlin et al. 1990; Hansen et al. 1991; Wiernik et al. 1992). In drei Studien wurde außerdem gezeigt, dass bei zusätzlicher Gabe von Etoposid in der Induktionsphase bei Patienten unter 55 beziehungsweise 45 beziehungsweise 60 Jahren signifikant höhere Remissionsraten erzielt werden können (Bishop 1994; Farag et al. 2005). Es werden in der Regel ein bis zwei Induktionszyklen verabreicht. Die Induktionstherapie wurde im Hinblick auf Dosis, Substanzen und Zahl der Zyklen in mehreren Studien modifiziert. Eine weitere Verbesserung im Bezug auf Überleben und Remissionsrate des Gesamtkollektivs mit normalem Karyotyp konnte dabei bisher nicht erzielt werden (Buchner et al. 1999; Rowe et al. 2004).

Bei Patienten unter 60 Jahre kann mit der Standardtherapie bei 65% bis 75% eine komplette Remission erzielt werden (Lowenberg, Griffin et al. 2003; Tallman et al. 2005).

Bei Patienten über 60 Jahren ist die Remissionsrate allgemein und auch für normalen Karyotyp mit 50% wesentlich schlechter (Goldstone et al. 2001; Baer et al. 2002).

### **Konsolidierungsphase: zytostatische Chemotherapie**

In der Konsolidierungstherapie hat sich als Chemotherapie die Gabe von Hochdosis-Cytosin-Arabinosid, auch Hochdosis-Cytarabin genannt, in zwei bis vier Zyklen, als Standard etabliert. Sehr gut belegt ist die Überlegenheit von Hochdosis-Cytarabin gegenüber Standarddosis-Cytarabin in der Konsolidierungsphase in Bezug auf Gesamt- und rezidivfreies Überleben (Mayer et al. 1994; Weick et al. 1996; Fopp et al. 1997).

Außerdem gibt es Hinweise, dass drei oder mehr Zyklen Hochdosis-Cytarabin das Rezidivrisiko gegenüber einem einzigen Zyklus reduzieren (Farag et al. 2005). Betrachtet man risikostratifizierte Untergruppen, variiert nur die Signifikanz der Unterschiede (Byrd et al. 1999; Schlenk et al. 2003; Byrd et al. 2004).



### **Konsolidierungsphase: Transplantationen**

In der Konsolidierungsphase können neben Chemotherapie auch allogene und autologe Knochenmarks- und Blutstammzelltransplantationen (auch periphere Stammzelltransplantation genannt) durchgeführt werden.

Bei einer Knochenmarkstransplantation (BMSCT oder BMT) wird Knochenmark des Spenders oder des Patienten entnommen, bei einer Blutstammzelltransplantation (PBSCT oder PBST) werden nach Gabe von G-CSF (G-cell colony stimulating factor) in einem extrakorporalen Kreislauf Stammzellen aus dem peripheren Blut filtriert.

Man unterscheidet bei der allogenen Transplantation je nach Verwandtschaft des Spenders mit dem Empfänger die verwandt- und fremd-allogene Transplantation.

Jede dieser Transplantationsarten erfolgt meist nach einem bereits vorhergehenden Chemotherapiezyklus in der Konsolidierungsphase. Nach einer Konditionierung durch kombinierte Radiochemotherapie oder hochdosierte Chemotherapie erfolgt dann die zentralvenöse Verabreichung der Blutstammzellen.

### **Konsolidierungsphase: allogene Transplantation**

Als Therapiealternative zur Chemotherapie steht in erster Remission die allogene Transplantation von Knochenmark oder Blutstammzellen zur Verfügung. Signifikante Unterschiede bezüglich klinischer Endpunkte zwischen allogener Blutstammzell- und Knochenmarkstransplantation konnten in drei vergleichenden Studien nicht festgestellt werden (Champlin et al. 2000; Powles et al. 2000; Bensinger et al. 2001). Daher ist im Folgenden statt von allogener Stammzell- und Knochenmarkstransplantation allgemein nur von allogener Transplantation die Rede.

Eine eindeutige Überlegenheit der allogenen Transplantation gegenüber der klassischen Chemotherapie konnte in fünf Studien weder im Gesamtkollektiv noch für den normalen Karyotyp gezeigt werden (Zittoun et al. 1995; Harousseau et al. 1997; Cassileth et al. 1998; Burnett et al. 2002; Suciú et al. 2003). In einigen Studien wurde ein signifikant längeres rezidivfreies Überleben berichtet (Burnett et al. 2002; Suciú et al. 2003; Farag et al. 2005), in anderen Studien kein signifikanter Unterschied gefunden (Zittoun et al. 1995; Harousseau et al. 1997; Cassileth et al. 1998). Im Kollektiv mit normalem Karyotyp wurde in einigen Studien (Burnett et al. 2002; Suciú et al. 2003) auch ein verbessertes Gesamtüberleben gegenüber der Chemotherapie festgestellt.

Ein Vergleich dieser Ergebnisse untereinander ist nur schwer möglich, da diese Werte im Allgemeinen nicht auf einer intention-to-treat-Analyse nach genetischer Randomisation

beruhen und zudem die angewandten Chemotherapie- und Konditionierungsschemata unterschiedlich sind. Auch sind die einzelnen Studienkollektive nicht homogen, insbesondere unterscheidet sich das Altersspektrum der Studienpopulationen stark (siehe auch 4.1). Für eine endgültige Beurteilung sind daher noch weitere Studien notwendig.

### **Konsolidierungsphase: autologe Transplantation**

Eine weitere Therapiealternative in der Konsolidierungsphase ist die Durchführung einer autologen Stammzelltransplantation aus Knochenmark oder peripherem Blut in erster Remission. Zwischen autologer Blutstammzell- und Knochenmarkstransplantation konnte in prospektiven Studien ebenfalls kein Unterschied festgestellt werden (Reiffers et al. 1994; Giles et al. 2002; Suciú et al. 2003). In retrospektiven Studien wurde eine schnellere Erholung des hämatopoetischen Systems bei Blutstammzelltransplantation im Vergleich zur Knochenmarkstransplantation beobachtet (Korbling et al. 1991; Martin et al. 1998).

In mehreren nichtrandomisierten (Reiffers, Gaspard, Maraninchi and Michallet 1989; Reiffers, Gaspard, Maraninchi, Michallet et al. 1989; Sanz et al. 1993; Martin et al. 1998) und randomisierten Studien (Zittoun et al. 1995; Harousseau et al. 1997; Burnett et al. 2002) zeigte sich nach autologer Transplantation ein gegenüber der Chemotherapie signifikant längeres rezidivfreies Überleben im Gesamt-AML-Kollektiv. Im Kollektiv mit normalem Risiko sind in einer Studie bessere Gesamtüberlebensraten berichtet worden (Farag et al. 2005).

Ein signifikanter Unterschied zwischen autologer und allogener Transplantation wurde nicht in jeder Studie festgestellt; vereinzelt war in der Gesamtpopulation eine Überlegenheit der allogenen Transplantation gegenüber der autologen festgestellt worden (Burnett et al. 2002; Suciú et al. 2003). Auch hier sind die Ergebnisse nicht optimal im Hinblick auf ihre Vergleichbarkeit, da Studiendesigns und Studienkollektive nicht homogen sind. Von einer gesicherten Wertigkeitsaussage kann daher nicht ausgegangen werden.

### **Supportivtherapie**

Die Supportivtherapie umfasst sämtliche Maßnahmen, die die eigentliche Behandlung der Leukämie unterstützen. Obligatorisch sind adäquate hygienische Maßnahmen während der Chemotherapie sowie antibiotische, und antimykotische Behandlung bei Bedarf.

Ebenso erfolgt eine symptomatische Behandlung bei Allgemeinbeschwerden.

Bei Thrombopenien und thrombozytopenen Blutungen werden Thrombozytenkonzentrate substituiert, bei Anämien Erythrozytenkonzentrate. Kontrovers diskutiert wird der Einsatz

von G-CSF bei Granulo- und Neutropenien im Rahmen der Chemotherapie. Signifikant positive Effekte auf Gesamt- und rezidivfreies Überleben wurden bislang nicht eindeutig nachgewiesen: In zwei Studien wurde nur eine bessere Rekonstitution festgestellt (Heil et al. 2006; Visani et al. 2006), eine Studie zeigte einen signifikant positiven Einfluss auf das rezidivfreie Überleben und das Gesamtüberleben der Patienten mit normalem Karyotyp (Lowenberg, van Putten et al. 2003).

## 1.8 Prognostische Faktoren

### 1.8.1 Bedeutung der Zytogenetik

In rund der Hälfte der Fälle können bei der AML chromosomale Aberrationen nachgewiesen werden (Grimwade et al. 1998; Mrozek et al. 2001; Byrd et al. 2002). Diese stellen den wichtigsten Prognosefaktor dar (Slovak et al. 2000).

Chromosomale Aberrationen können mit prognostischen Vor- oder auch Nachteilen verbunden sein. Die die CBF-AML (Core binding factor AML) definierenden Translokationen t(16;16) bzw. inv(16) und t(8;21) gehen mit einer signifikant günstigeren Prognose einher, da sie wesentlich besser auf die Standard-Chemotherapie ansprechen. Bei der mit der APL assoziierten t(15;17) ist eine Chemotherapie Standard, die die Gabe von Retinsäure beinhaltet. Komplexe Chromosomenanomalien oder Anomalien der Chromosomen 5 und 7 oder 12 bedingen dagegen eine signifikant schlechtere Prognose und im Allgemeinen eine aggressivere Therapie.

Die Therapieentscheidung wird daher häufig nach erfolgter Risikostratifikation gefällt. Die Stratifikation erfolgt meistens in drei Risikogruppen, die Zuordnung der einzelnen Aberrationen zu einer Risikogruppe ist aber international nicht einheitlich. Diejenigen Karyotypen, über die mehrheitlich ein Konsens besteht, sind in Tabelle 4 aufgeführt.

**Tabelle 4 Prognostische Bedeutung des Karyotyps: Einteilung der Karyotypen in drei Risikoklassen. Aufgelistet sind nur diejenigen Karyotypen, über die international Konsens besteht.**

Niedriges Risiko	Mittleres Risiko	Hohes Risiko
t(8;21) t(15;17) inv(16)	Normaler Karyotyp	Abnormalitäten der Chromosomen 5, 7, 12 und 17

t(x,y) Translokation      inv(x) Inversion

Für die Zuordnung anderer Karyotypen und der übrigen Patienten gibt es keine einheitliche Vorgehensweise.

Obwohl die Gruppe mit mittlerem Risiko bezüglich ihrer Prognose sehr inhomogen ist, war diese Inhomogenität bislang nicht durch Merkmale fassbar. In der vorliegenden Arbeit wird daher die Gruppe der Patienten mit normalem Karyotyp untersucht und unter anderem eine Risikoeinteilung dieser Gruppe hoher Trennschärfe entwickelt.

### **1.8.2 Klinische Prognosefaktoren**

Die Prognose der AML ist multifaktoriell beeinflusst. In Tabelle 3 sind einige Prognosefaktoren der AML mit normalem Karyotyp für Gesamtüberleben und rezidivfreies Überleben sowie für das Ansprechen in der Induktionsphase aufgeführt (Farag et al. 2005). Das Ansprechen auf die Induktionstherapie ist selbst ein positiver Prädiktor für das Überleben.

**Tabelle 5 Prognostisch relevante Faktoren für das klinische Ergebnis der akuten myeloischen Leukämie; nach (Farag et al. 2005)**

<b>Negative Prognosefaktoren</b>	<b>Positive Prognosefaktoren</b>
Hochrisikokaryotyp	Niedrigrisikokaryotyp
Hohes Alter	Gutes Ansprechen auf Induktion
Leukozytose >30.000/ $\mu$ l	Leukozytose <30.000/ $\mu$ l
>20% Blasten im Knochenmark	5-20% Blasten im Knochenmark
Hepato- oder Splenomegalie	Hautinfiltrationen
	Lymphadenopathie

Die meisten der Prognosefaktoren haben nicht in jeder Studie einen signifikanten Einfluss auf das Ergebnis. Diejenigen Faktoren, die regelmäßig prognostische Relevanz besitzen und über die Konsens besteht, sind (nach Wichtigkeit absteigend geordnet), die Folgenden: Das vom Karyotyp bestimmte Risikoprofil, das Ansprechen auf die Induktionstherapie und das Alter.

Die prognostische Wertigkeit der Klassifikation der FAB ist in mehreren, auch prospektiven Studien untersucht worden (Zittoun et al. 1995; Harousseau et al. 1997; Burnett et al. 1998; Cassileth et al. 1998; Burnett et al. 2002; Suciú et al. 2003; Farag et al. 2005). Mit Ausnahme der FAB-M3 ist sie prognostisch irrelevant.

Eine prospektive Validierung der WHO-Klassifikation steht noch aus.

### **1.8.3 Prognostische Bedeutung molekularer Marker bei der AML mit normalem Karyotyp**

In den letzten 10 Jahren konnten prognostisch relevante molekulare Marker für die AML identifiziert werden, die eine Risikoabstufung auch im Kollektiv mit normalem Karyotyp ermöglichen. Im Folgenden werden diejenigen Marker vorgestellt, die in der vorliegenden Arbeit näher untersucht werden.

Mutationen des *FLT3* (FMS-like tyrosine kinase 3 = CD135) wie die in ca. 33% der Fälle vorhandene interne Tandemduplikation *FLT3*-ITD sind ein negativer prognostischer Faktor (Fröhling, Schlenk et al. 2002). Mutationen des *FLT3* wie die *FLT3*-ITD gehören vermutlich zu den Klasse-I-Mutationen mit proliferativem Vorteil (Kelly, Liu et al. 2002). Sie sind signifikant assoziiert mit einem schlechteren Ansprechen auf Induktionstherapie, einem schlechteren Gesamt- und rezidivfreien Überleben bei konventioneller Chemotherapie und allogener Transplantation (Nakao et al. 1996; Kiyoi et al. 1999; Abu-Duhier et al. 2000; Rombouts et al. 2000; Kottaridis et al. 2001; Whitman et al. 2001; Fröhling, Schlenk et al. 2002; Thiede et al. 2002). *FLT3*-D835-Mutationen, auch als *FLT3*-TKD-Mutationen (*FLT3* tyrosine kinase domain) bezeichnet, treten unabhängig von *FLT3*-ITD-Mutationen bei ca. 15% der Patienten mit normalem Karyotyp auf. Die prognostische Bedeutung der *FLT3*-TKD ist unklar: Zwei Studien beschreiben eine signifikant schlechtere Prognose (Abu-Duhier et al. 2001; Yamamoto et al. 2001), in einer Studie (Mead et al. 2007) wurde ein positiver prognostischer Einfluss berichtet.

Die häufig auch beim Gesunden nachweisbare partielle Tandemduplikation des *MLL*-Gens (Mixed Lineage Leukemia-Gen bzw. *ALL1*-Gen), die oft mit chromosomalen Aberrationen des Chromosoms 11 assoziiert ist, tritt bei ca. 10% der Patienten mit normalem Karyotyp auf (Caligiuri et al. 1994). Sie ist eine Klasse-II-Mutation mit Differenzierungsstopp (Dorrance et al. 2006). Bei Patienten mit normalem Karyotyp verkürzt sie die Remissionsdauer nach Chemotherapie signifikant (Döhner et al. 2002). Auf das Gesamtüberleben ist bislang jedoch kein Effekt nachgewiesen worden (Caligiuri et al. 1998; Döhner et al. 2002).

Mutationen des *C/EBPα*-Gens (CCAAT/Enhancer-binding Protein Alpha, im Folgenden *CEBPA*) sind als Mutationen mit Differenzierungsstop der Klasse II zuzurechnen (Wang et al. 1995). Sie gehen bei Patienten mit normalem Karyotyp mit einer besseren Prognose einher und sind in ca. 15% der Fälle nachweisbar. Sie ist assoziiert mit dem Subtyp FAB-M1 und bedingt ein signifikant längeres rezidivfreies Überleben sowie ein besseres Gesamtüberleben. Es gibt Hinweise, dass gleichzeitiges Vorhandensein einer *FLT3*-ITD die Prognose verschlechtert, bezüglich der prognostischen Bedeutung weiterer kooperierender Mutationen sind die Angaben in der Literatur jedoch widersprüchlich (Pabst et al. 2001; Gombart et al. 2002; Preudhomme et al. 2002; Barjesteh van Waalwijk van Doorn-Khosrovani et al. 2003; Fröhling et al. 2004).

Eine weitere Klasse molekularer Marker sind Mutationen des Nucleophosmin 1 (*NPM1*). Diese liegen bei ca. 50% der Patienten mit einer AML vor und zählen zu den Klasse-II-Mutationen mit Differenzierungsstop (Grisendi et al. 2005). Das Vorhandensein einer *NPM1*-Mutation ist in den meisten Analysen ein günstiger prognostischer Faktor sowohl für das Ansprechen auf die Induktionstherapie als auch für das Gesamt- und rezidivfreie Überleben. Mutationen des *NPM1*-Gens sind signifikant mit Mutationen des *FLT3*-Gens und invers mit *CEBPA*-Mutationen assoziiert. Beim Kollektiv mit *NPM1*-Mutationen neutralisieren vorliegende *FLT3*-ITD die günstigen prognostischen Effekte. Im Kollektiv mit *NPM1*-Mutationen ohne Mutationen des *FLT3*-Gens (*NPM1+FLT3-*) ist der günstige prognostische Effekt im Vergleich zur *NPM1*-positiven Gesamtpopulation signifikant größer (Döhner et al. 2005; Falini et al. 2005; Schnittger et al. 2005; Verhaak et al. 2005; Heidel et al. 2006). Insbesondere stellt im Kollektiv mit normalem Karyotyp die *NPM1*-positive und *FLT3*-ITD-negative Subpopulation eine Gruppe mit signifikant günstigerer Prognose dar.

In vielen retrospektiv durchgeführten explorativen Analysen waren die oben behandelten molekularen Marker von prognostischer Relevanz. In einer Studie wurde sogar eine Interaktion mit der durchgeführten Postremissionstherapie festgestellt (Döhner et al. 2005).

Das und die neuen Entwicklungen im Verständnis der Pathogenese motivieren die Untersuchung des Einflusses der molekularen Marker auf Prognose und Therapieoptionen.

## **1.9 Fragestellungen**

Die Fragestellungen dieser Arbeit setzen sich zusammen aus den confirmatorischen Fragestellungen der AML-HD98-A-Studie, eingeschränkt auf den normalen Karyotyp, und daran anschließende explorativen Analysen mit besonderem Fokus auf den molekularen Markern.

### Fragestellungen aus der AML-HD98-A-Studie

1. Untersuchung der Wertigkeit der Postremissionstherapie bei nicht refraktären Patienten. Die Subpopulationen der Postremissionstherapie werden nach dem intent-to-treat-Prinzip folgendermaßen definiert: Nach Ansprechen auf die Induktionstherapie erfolgt eine genetische Randomisation zur verwandt-allogenen Transplantation, danach eine statistische Randomisation zwischen autologer Transplantation und Chemotherapie.
2. Untersuchung der Wertigkeit der Postremissionstherapie bei refraktären Patienten. Die Subpopulationen der Postremissionstherapie werden nach dem intent-to-treat-Prinzip folgendermaßen definiert: Nach Ansprechen auf die Induktionstherapie erfolgt eine genetische Randomisation zwischen verwandt-allogener und fremd-allogener Transplantation.
3. Machbarkeit der autologen und allogenen Stammzelltransplantation

### Explorative Fragestellungen

4. Untersuchung verschiedener Variablen und deren Interaktionen auf prognostische Wertigkeit bezüglich des Ansprechens in der Induktionsphase.
5. Untersuchung verschiedener Variablen und deren Interaktionen auf prognostische Wertigkeit bezüglich des Gesamtüberlebens und des rezidivfreien Überlebens und prädiktive Wertigkeit bezüglich der Postremissionstherapie.

## **2 Material und Methoden**

### ***2.1 Studiendesign***

Die AML-HD98-A-Studie [ASH Schlenk #14, [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)], eine multizentrische prospektive Phase III-Studie unter Leitung der Klinik für Innere Medizin III der Universität Ulm, wurde nach positivem Ethikvotum der Universitäten Heidelberg vom 15.07.1998 und Ulm vom 29.11.1999 durchgeführt. An 24 Behandlungszentren wurden im Zeitraum Juli 1998 bis August 2004 insgesamt n=954 Patienten registriert, davon n=74 mit einer akuten Promyelozytenleukämie, die in einem separaten Behandlungsarm des Protokolls behandelt wurden. 14 Patienten wurden wegen des Nichterfüllens der Einschlusskriterien im Nachhinein ausgeschlossen. Von den verbleibenden n=868 Patienten wiesen n=384 einen normalen Karyotyp auf, die als Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit zugrunde liegen. 7 Patienten wurden im Rahmen einer Upfront-Randomisation dem Standardarm einer Studie der German AML Intergroup zugeordnet, sodass sie nicht in die Auswertung der Endpunkte aufgenommen wurden.

Gemäß dem AML-HD98-A-Studienprotokoll sollten alle Patienten zunächst einen Induktionszyklus ICE erhalten. Bei kompletter Remission war ein zweiter Zyklus ICE vorgesehen, bei Refraktärität ein Zyklus A-HAM. Die darauffolgende Postremissionstherapie erfolgte stratifiziert nach Zytogenetik und Chemosensibilität. Patienten mit normalem Karyotyp wurden zwischen zwei Zyklen HAM, einem Zyklus HAM mit folgender verwandt-allogener Transplantation und einem Zyklus HAM mit folgender autologer Transplantation randomisiert. Bei Patienten, die auf den ersten Zyklus ICE refraktär waren, wurde eine allogene Transplantation angestrebt.

#### **2.1.1 Einschluss- und Ausschlusskriterien der AML-HD98-A-Studie**

Im Folgenden sind die Ein- und Ausschlusskriterien der AML-HD98-A-Studie aufgeführt. Zu den Analysen der vorliegenden Arbeit war ferner das Vorliegen eines normalen Karyotyps Einschlussbedingung.

##### Einschlusskriterien

- Vorliegen einer De-Novo-AML, einer AML nach MDS, einer therapieinduzierten AML mit abgeheiltem Primärmalignom oder einer RAEB-T



- morphologisch, zytologisch und immunphänotypisch gesicherte Diagnose
- Alter zwischen 16 und 60 Jahren
- Rechtswirksame Aufklärung über die Studie und mögliche Risiken und Folgen, unterschriebene Einverständniserklärung des Patienten oder des rechtswirksam Bevollmächtigten

#### Ausschlusskriterien

- von der Grunderkrankung unabhängiges Vorliegen einer schweren Erkrankung
- zusätzlich zur AML Vorliegen eines Sekundärmalignoms
- Schwangerschaft
- Bereits eine durchgeführte AML-Therapie in der Vorgeschichte oder Teilnahme an einer anderen klinischen Studie zum Diagnosezeitpunkt

#### **2.1.2 Definition der Risikogruppen**

Im Protokoll ist eine Risikostratifizierung der behandelten Patienten vorgesehen, die je nach Risiko eine andere Therapie erhalten. Die Risikogruppen werden auf Grundlage zytogenetischer Veränderungen in Niedrig-, Standard- und Hochrisikogruppen unterteilt.

Niedrig-Risiko	t(8;21) t(15;17)
Standard-Risiko	normaler Karyotyp inv(16) t(11q23) sonstige chromosomale Veränderungen, Anzahl <3
Hoch-Risiko	abn(3q), 5q-, 7q-, abn(12p), abn(17p), mehr als 2 der oben aufgeführten chromosomalen Veränderungen, Refraktärität auf 1. Induktionszyklus

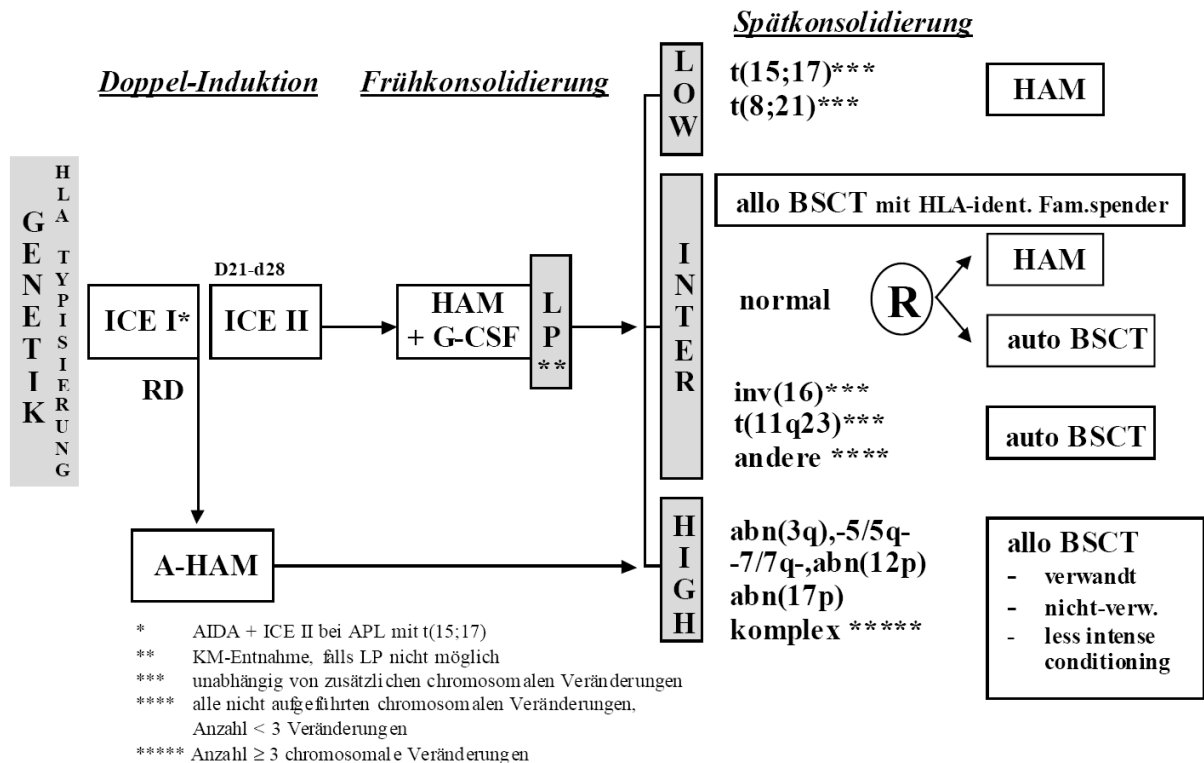
Patienten mit normalem Karyotyp besitzen demnach a priori mittleres Risiko. Im Falle einer Refraktärität auf den 1. Induktionszyklus wechseln sie in die Hochrisikogruppe.

## 2.2 Behandlungsplan

Nach erfolgter Diagnosestellung und Risikostratifizierung wurde die Behandlung jedes Patienten im entsprechenden Behandlungsarm angestrebt.

### 2.2.1 Therapieablauf

Der Ablaufplan der gesamten Studie findet sich in Abbildung 2:



**ICE** Chemotherapiezyklusschema: Idarubicin, Cytarabin, Etoposid

**HAM** Chemotherapiezyklusschema: Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone

**A-HAM** Chemotherapiezyklusschema: Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone, All-Trans-Retinsäure

**RD** refraktäre Erkrankung

**G-CSF** granulocyte-colony stimulating factor

**LP** Leukapherese

**BSCT** Blutstammzelltransplantation

**t(x,y)** Translokation

**inv(x)** Inversion

**HLA** Human leukocytic antigen

**auto** autolog

**allo** allogene

**APL** akute Promyelozytenleukämie

**abn(x)** Abnormalität

**R** Randomisation

**verw.** Verwandt

**ident. Fam.spender** identischer Familienspender

**KM** Knochenmark

**LOW** Niedrigrisiko

**INTER** mittleres Risiko

**HIGH** hohes Risiko

Abbildung 2 Aufbau der AML HD98-A-Studie, gemäß Studienprotokoll (AMLSG-Ulm 2000), Seite 5

Patienten mit normalem Karyotyp wurden vor Therapiebeginn sämtlich als Normalrisiko eingestuft. Im Rahmen der Induktionsphase sollte jeder aufgenommene Patient (nach eventuell erfolgter Vorphase) den ersten Induktionszyklus nach dem ICE-Schema (ICE I) so bald wie möglich nach Diagnosestellung erhalten. Refraktäre Patienten mit einer RD

sollten darauf einen Zyklus A-HAM erhalten, gefolgt von der Hochrisiko-Konsolidierungstherapie, in der eine allogene Stammzelltransplantation angestrebt wurde. Patienten, die auf den ersten Zyklus ICE eine PR oder CR erreicht hatten, sollten danach einen zweiten Zyklus ICE erhalten. Patienten mit einer PR oder RD nach dem zweiten ICE sollten im Hochrisiko-Arm der Konsolidierung weiterbehandelt werden, Patienten mit einer CR oder CRi sollten die Konsolidierungstherapie für Normalrisikopatienten erhalten.

Diese sah zunächst eine Stratifikation nach dem Vorhandensein eines HLA-kompatiblen Familienspenders vor. Patienten mit Familienspender sollten einen Zyklus HAM gefolgt von einer verwandt-allogenen Stammzelltransplantation erhalten, Patienten ohne Familienspender sollten gleichverteilt in zwei Behandlungsarme randomisiert werden: Der A-Arm sollte einen Zyklus HAM mit G-CSF erhalten, gefolgt von einem weiteren Zyklus HAM, der B-Arm einen Zyklus HAM mit G-CSF, gefolgt von einer autologen Stammzelltransplantation nach erfolgter Leukapherese.

### **2.2.2 Induktion**

Es folgen die Dosierungen der Medikamente und Chemotherapeutika in den einzelnen Behandlungszyklen (die Namen der einzelnen Zyklusschemata sind jeweils die Abkürzungen für die eingesetzten Medikamente).

#### **ICE**

Idarubicin	12 mg/m <sup>2</sup>	i.v.	Tag 1,3,5	über 2h
Cytarabin	100 mg/m <sup>2</sup>	i.v.	Tag 1-7	kontinuierlich
Etoposid	100 mg/m <sup>2</sup>	i.v.	Tag 1-3	über 1h

Der Zweite Induktionszyklus sollte zwischen d21 und d28 beginnen. Patienten mit CR oder PR sollten einen erneuten Zyklus ICE erhalten, Patienten mit RD einen Zyklus A-HAM.

#### **A-HAM**

Cytarabin	3g/m <sup>2</sup>	i.v.	Tag 1,2,3	über 3h
Mitoxantrone	12mg/m <sup>2</sup>	i.v.	Tag 2,3	über 15min
ATRA	45mg/m <sup>2</sup>	p.o.	Tag 3-5	
ATRA	15mg/m <sup>2</sup>	p.o.	Tag 6-28	

### **2.2.3 Konsolidierung**

Jeder Patient, der auf die Doppelinduktion angesprochen und mittleres Risiko hatte, sollte als ersten Konsolidierungszyklus einen Zyklus HAM erhalten. Dieser sollte 14 bis 21 Tage nach Abschluss der Rekonstitutionsphase der Induktionstherapie beginnen.

#### **HAM**

Mitoxantrone	3g/m <sup>2</sup>	i.v.	Tag 1, 2	über 15min
Cytarabin	12mg/m <sup>2</sup>	i.v.	Tag 1-3	über 3h

Gleichzeitig sollten alle Patienten ohne vorhandenen kompatiblen Familienspender zu einer allogenen Stammzelltransplantation einen Zyklus G-CSF bis zur dann stattfindenden Leukapherese erhalten.

#### **G-CSF**

G-CSF	10µg/m <sup>2</sup>	s.c.	jeden Tag von Tag 9 bis zur Leukapherese	
-------	---------------------	------	------------------------------------------	--

Wurde eine Leukapherese angestrebt, so sollte bei den entsprechenden Patienten ab einer Leukozytenzahl von 5G/l ein Monitoring der zur Apherese in Frage kommenden Zellen durchgeführt werden. Für ein Transplantat waren mindestens 2.5M/kg KG Zellen als erforderlich angesetzt. Im Falle einer nicht ausreichenden Leukapherese wurde etwa zwei Wochen darauf eine Knochenmarkentnahme angestrebt.

Als Spätkonsolidierung sollte entweder ein weiterer Zyklus HAM, eine allogene oder eine autologe Stammzelltransplantation durchgeführt werden. Bei Patienten mit vorhandenem Familienspender wurde immer eine allogene Transplantation angestrebt, der Rest wurde gleichverteilt zwischen HAM und der autologen Stammzelltransplantation randomisiert. Für die Transplantationen waren folgende zwei Konditionierungsschemata vorgesehen:

Cyclophosphamid	120mg/kg	i.v.	absolut über 2 Tage	
-----------------	----------	------	---------------------	--

plus entweder

Busulfex	0.8mg/kg	i.v.	4x/d über 4 Tage	
----------	----------	------	------------------	--

oder

Ganzkörperbestrahlung (Total body irradiation) hyperfraktioniert, 12Gy über 3 Tage

Patienten, die nicht auf die Doppelinduktion ansprechen, sollten bei dem Fehlen von Kontraindikationen in jedem Fall nach mindestens einem Konsolidierungszyklus eine allogene Stammzelltransplantation erhalten. Bei vorhandenem Familienspender wurde das Transplantat von diesem entnommen, ansonsten wurde die Suche nach einem möglichst HLA-kompatiblen Fremdspender initiiert. Zur Konditionierung waren neben obigen Schemata auch experimentelle Schemata erlaubt.

## **2.3 Daten**

### **2.3.1 Erhobene Daten und Evaluation**

Von den Patienten wurden im Rahmen der AML-HD98-A-Studie vorliegende Daten analysiert.

Die Daten wurden an den 21 an der Studie teilnehmenden Behandlungszentren in Deutschland und Österreich mittels Dokumentationsbögen erfasst und an die Ulmer Studienzentrale versandt. Dort wurde eine formelle und inhaltliche Datenvalidierung durchgeführt, bei Unvollständigkeit oder Inkonsistenzen erfolgte eine gegebenenfalls wiederholte Nachforderung und Korrektur der Daten. Die validierten Daten wurden schließlich in eine interne Datenbank eingetragen.

Aus dieser Datenbank wurden für die Patienten mit normalem Karyotyp im Rahmen der vorliegenden Arbeit auswertungsbezogene Daten extrahiert:

#### Therapiebezogene Variablen

- Alter
- Geschlecht
- Ätiologie der AML (de novo, S-AML, T-AML)
- Vorliegen einer Hepato- oder Splenomegalie
- Vorliegen von extramedullären Manifestationen
- Initiales Differentialblutbild incl. Hb, Leukozytenzahl, Thrombozytenzahl, peripherer Blastenanteil
- Initiales Standardlabor incl. LDH, BSG
- Knochenmarkszytologie incl. zytochemischer Untersuchung (PAS, Esterase, POX) mit FAB-Klassifizierung, Blastenanteil im Knochenmark

- zytogenetische Analyse
- Vorhandensein von Mutationen des *NPM1*, *C/EBP $\alpha$* , *MLL*, Vorhandensein von *FLT3*-ITD und *FLT3*-D835
- Ereigniszeitpunkte: Tod, Rezidiv, Studienende, Zensur, erste CR
- Behandlungsablauf incl. Ansprechen auf Zyklen

### **2.3.2 Remissionskriterien**

Verwendet wurden die Standard-Statuskriterien nach (Cheson et al. 2003):

#### **Komplette Remission (CR):**

- normozelluläres Knochenmark mit einem Blastenanteil von weniger als 5%
- keine nachweisbaren Blasten im peripheren Blut
- keine nachweisbaren Auer-Stäbchen in den Blasten
- regenerierte Hämatopoese mit  $>100\text{G/l}$  Thrombozyten und  $>1,5\text{G/l}$  Granulozyten, keine transfusionspflichtige Anämie
- alle initial beobachteten extramedullären Manifestationen nicht mehr nachweisbar

Besteht eine komplette Remission weniger als einen Monat lang, so wird diese als partielle Remission gewertet.

#### **Komplette Remission mit inkompletter Regeneration der Hämatopoese (CRi):**

Eine CRi liegt vor genau dann, wenn alle Kriterien einer kompletten Remission erfüllt sind bis auf die Regeneration der Hämatopoese, d.h. es besteht eine Thrombopenie von  $<100\text{G/l}$ , eine Granulopenie von  $<1,5\text{G/l}$  oder eine transfusionspflichtige Anämie.

Eine CRi nach dem ersten Induktionszyklus wird als PR gewertet, nach Doppelinduktion als CR.

#### **Partielle Remission (PR):**

- Blastenanteil im Knochenmark zwischen 5% und 25% betragen, jedoch weniger als initial,  
oder Blastenanteil im Knochenmark im Vergleich zum initialen Wert um mindestens 50% gesunken
- keine nachweisbaren Blasten im peripheren Blut

- regenerierte Hämatopoese mit  $>100\text{G/l}$  Thrombozyten und  $>1,5\text{G/l}$  Granulozyten, keine transfusionspflichtige Anämie besteht,
- alle initial beobachteten extramedullären Manifestationen nicht mehr nachweisbar
- der Patient befand sich nach Therapiebeginn noch nicht in kompletter Remission (CR oder CRi)

Eine partielle Remission nach Doppelinduktion wird als Refraktärität gewertet.

#### **Refraktäre AML/Resistant Disease (RD):**

- der Patient befand sich nach Therapiebeginn noch nicht in kompletter Remission (CR oder CRi) und
- weder CR, CRi noch PR liegen vor

#### **Rezidiv:**

- nach Vorliegen einer länger als einen Monat dauernder CR oder CRi Blasten im peripheren Blut oder mehr als 5% Blasten im Knochenmark nachweisbar und
- bei einem Knochenmarks-Blastenanteil von unter 20% Bestätigung dieser Diagnose durch mindestens eine zusätzliche Knochenmarkspunktion im Abstand etwa einer Woche

#### **Early Death/Früh Todesfall (ED):**

Jeder Todesfall während des ersten Chemotherapiezyklus oder spätestens sieben Tage nach Abschluss desselben.

#### **Hypoplastic Death/Tod in Hypoplasie (HD):**

Jeder Todesfall, der kein ED ist und vor dem zweiten Chemotherapiezyklus stattfindet.

### **2.3.3 Endpunkte der Analyse**

Aus den Ereigniszeitpunkten für Tod (T), Rezidiv (R), Zeitpunkt der Zensur (Z), Zeitpunkt der ersten kompletten Remission (C) und dem Zeitpunkt des Studienbeginns (S) errechnen sich die (stetigen) Endpunkte für die Auswertung. Betrachtet wurden zum einen das Gesamtüberleben (abgekürzt OS bzw. GÜ) und das rezidivfreie Überleben (abgekürzt RFS bzw. RFÜ). Gesamtüberleben bezeichnet den Zeitraum zwischen Studienbeginn und Tod ( $\text{OS}=\text{T}-\text{S}$ ). Rezidivfreies Überleben bezeichnet den Zeitraum zwischen erster CR und

erstem Rezidiv bzw. dem Tod ( $RFS = \min(R-C, T-C)$ ). Weiterhin wurde das verbleibende Überleben ( $V\ddot{U}$ ) nach dem ersten Rezidiv betrachtet, dieses ist die Zeit vom ersten Rezidiv bis zum Tod ( $V\ddot{U} = T-R$ ); die Definition ist daher nur für rezidierte Patienten sinnvoll.

Lag in der vorliegenden Arbeit der jeweils letzte dieser Zeitpunkte zum Zeitpunkt der Zensur nicht vor, d.h.  $Z < R$ ,  $Z < S$  oder  $Z < C$ , wurden die Zeitabstände in der vorliegenden Arbeit nach der Methode von Kaplan-Meier geschätzt.

In der Induktionstherapie war außerdem das Ansprechen (binär: ja vs. nein) auf die Induktion ein Endpunkt.

## **2.4 Biometrie und statistische Methoden**

Das globale Signifikanzniveau wurde auf  $p=0.05$  festgelegt.

Zur Analyse der Fragestellungen wurden der exakte Fisher-Test und der Chi-Quadrat-Test nach Pearson (Chernoff and Lehmann 1954) sowie Test nach Kruskal und Wallis verwendet (Kruskal and Wallis 1952). In den dargestellten Ergebnissen wurde immer der zweiseitige Test verwendet.

Zur Schätzung der Überlebenskurven wurde die Methode nach Kaplan und Meier verwendet (Kaplan and Meier 1958), zur Bestimmung eines signifikanten Unterschieds zwischen Familien von Kaplan-Meier-Schätzern der G-Rho-Test nach Harrington und Fleming (Harrington and Fleming 1982), vorwiegend im Spezialfall als Logrank-Test nach Mantel und Hänsel oder Peto&Peto-Wilcoxon-Test (Wilcoxon 1945). Falls im Text nicht anders vermerkt, wurde der Logrank-Test verwendet. Bei Vergleichen mehrerer Kurven wurde, wenn nicht anders vermerkt, der Gesamtttest verwendet, bei paarweisen oder tupelweisen Vergleichen auf Basis gleicher Schätzer wurden die Signifikanzniveaus nach Bonferroni angepasst (Bland and Altman 1995; Morgan 2007).

Für die multivariate Analyse wurde für diskrete und ordinale Zielgrößen die logistische Regression verwendet (Hall and Round 1994; Bender and Grouven 1997), für die Überlebenszeitanalysen die Proportional-Hazards-Regression nach Cox (Cox 1972). Die Selektion signifikanter Variablen erfolgte nach sukzessiver Rückwärtselektion entsprechend des Signifikanzniveaus.

Der Vergleich randomisierter Behandlungsstrategien erfolgte sowohl im Sinne einer intention-to-treat- als auch einer As-Treated-Analyse.



Im Vergleich zur As-Treated-Analyse (auch treatment-recvied) ist die intention-to-treat-Analyse (auch intent-to-treat) nicht anfällig für bestehende Korrelationen zwischen der Behandlung und der totalen Behandlungcompliance (Fisher 1990; Soares and Carneiro 2002; Heritier et al. 2003). Da in der intention-to-treat Analyse im Allgemeinen die Unterschiede zwischen den Randomisationsarmen geringer sind, je höher die Malcompliance-Rate ist, wurde zur Ergänzung auch die As-Treated-Analyse durchgeführt.

Sämtliche statistischen Berechnungen wurden mit der Open-Source Software R v2.1 (<http://www.r-project.org>) durchgeführt.

Im Text wird für die Darstellung von Fließkommazahlen gerundete Dezimalschreibweise verwendet. Bei p-Werten wird für p-Werte über 0,0001 der auf vier Nachkommastellen gerundete p-Wert angegeben, für p-Werte unter 0,0001 wird die Abkürzung  $<0,0001$  verwendet. Gelegentlich wird auch die Notation  $a \cdot 10^n$  benutzt, wobei n eine ganze Zahl und a eine Fließkommazahl mit  $1 \leq a < 10$  ist.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 *Patientenkollektiv*

An 24 Behandlungszentren wurden im Zeitraum Juli 1998 bis August 2004 insgesamt n=954 Patienten registriert, davon n=74 mit einer akuten Promyelozytenleukämie, die in einem separaten Behandlungsarm des Protokolls behandelt wurden. 12 Patienten wurden wegen des Nichterfüllens der Einschlusskriterien im Nachhinein ausgeschlossen. Von den verbleibenden n=868 Patienten wiesen n=384 einen normalen Karyotyp auf, die als Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit zugrunde liegen. 7 Patienten wurden im Rahmen einer Upfront-Randomisation dem Standardarm einer Studie der German AML Intergroup zugeordnet, sodass sie nicht in die Auswertung der Endpunkte aufgenommen wurden.

Die Verteilung der klinischen Parameter bei Studienbeginn ist in Tabelle 5 bis 8 aufgeführt. Stetige Variablen werden nach dem Schema Median (Minimum-Maximum) angegeben, diskrete Variablen nach dem Schema Absolutanzahl (Relativanteil, hochgerechnet auf die Patienten, für die die Ausprägung der jeweiligen Variable bekannt war).

**Tabelle 6 Klinische Parameter bei Diagnosestellung im Studienkollektiv; Darstellung Anteil absolut (relativ) bei diskreten, Mittelwert (Minimum-Maximum) bei stetigen Parametern**

<b>Parameter</b>	<b>Wert</b>
<b>Geschlecht</b>	
männlich	<b>166 (43%)</b>
weiblich	<b>218 (57%)</b>
<b>AML-Typ</b>	
De-novo-AML	<b>305 (79%)</b>
S-AML	<b>56 (15%)</b>
T-AML	<b>8 (2%)</b>
NA	<b>15 (4%)</b>

<b>Parameter</b>	<b>Wert</b>
<b>Typ nach FAB</b>	
M0	<b>23 (6%)</b>
M1	<b>59 (15%)</b>
M2	<b>93 (24%)</b>
M3	<b>2 (1%)</b>
M4	<b>97 (25%)</b>
M5	<b>45 (12%)</b>
M6	<b>11 (3%)</b>
NA	<b>54 (14%)</b>
<b>Hepatomegalie</b>	<b>74 (19%)</b>
<b>Splenomegalie</b>	<b>98 (26%)</b>
<b>Extramedulläre Manifestation</b>	<b>114 (30%)</b>
<b>Familienspender vorhanden</b>	<b>100 (26%)</b>
<b>Alter (Jahre)</b>	<b>48,56 (16,32-60,93)</b>
<b>Hämoglobin (g/dl)</b>	<b>9,2 (3,1-17,6)</b>
NAs	<b>15</b>
<b>Leukozyten (G/l)</b>	<b>13,9 (0,2-372)</b>
NAs	<b>15</b>
<b>Thrombozyten (G/l)</b>	<b>65 (4-746)</b>
NAs	<b>15</b>
<b>Knochenmarks-Blastenanteil (%)</b>	<b>76 (0-100)</b>
NAs	<b>36</b>
<b>Peripherer Blastenanteil (%)</b>	<b>36 (0-99)</b>
NAs	<b>32</b>
<b>LDH (U/l)</b>	<b>441 (79-6676)</b>
NAs	<b>20</b>

**AML** akute myeloische Leukämie

**S-/T- AML** sekundäre/therapieinduzierte AML

**NA** Merkmalsausprägung unbekannt

**LDH** Laktatdehydrogenase

**FAB** French-American-British Group; Klassifikation der AML in M0-M6

**G** Giga = 1.000.000.000

**d** dezi = 0,1

**l** Liter

**U** Unit

**g** Gramm

Tabelle 7 Verteilung der molekularen Marker im Studienkollektiv; Darstellung absolut(relativ)

	Wert		Wert		Wert
<b><i>CEBPA</i></b>		<b><i>FLT3-ITD</i></b>		<b><i>FLT3-D835</i></b>	
mutiert	41 (14%)	mutiert	99 (32%)	mutiert	29 (10%)
unmutiert	253 (86%)	unmutiert	214 (68%)	unmutiert	271 (90%)
NA	90	NA	71	NA	84
<b><i>MLL</i></b>		<b><i>NPM1</i></b>			
mutiert	26 (9%)	mutiert	150 (50%)		
unmutiert	276 (91%)	unmutiert	150 (50%)		
NA	82	NA	84		

***CEBPA*** CCAAT-Enhancer binding protein alpha

***FLT3-ITD*** Interne Tandemduplikation des *FLT3*

***MLL*** Mixed lineage leukemia gene

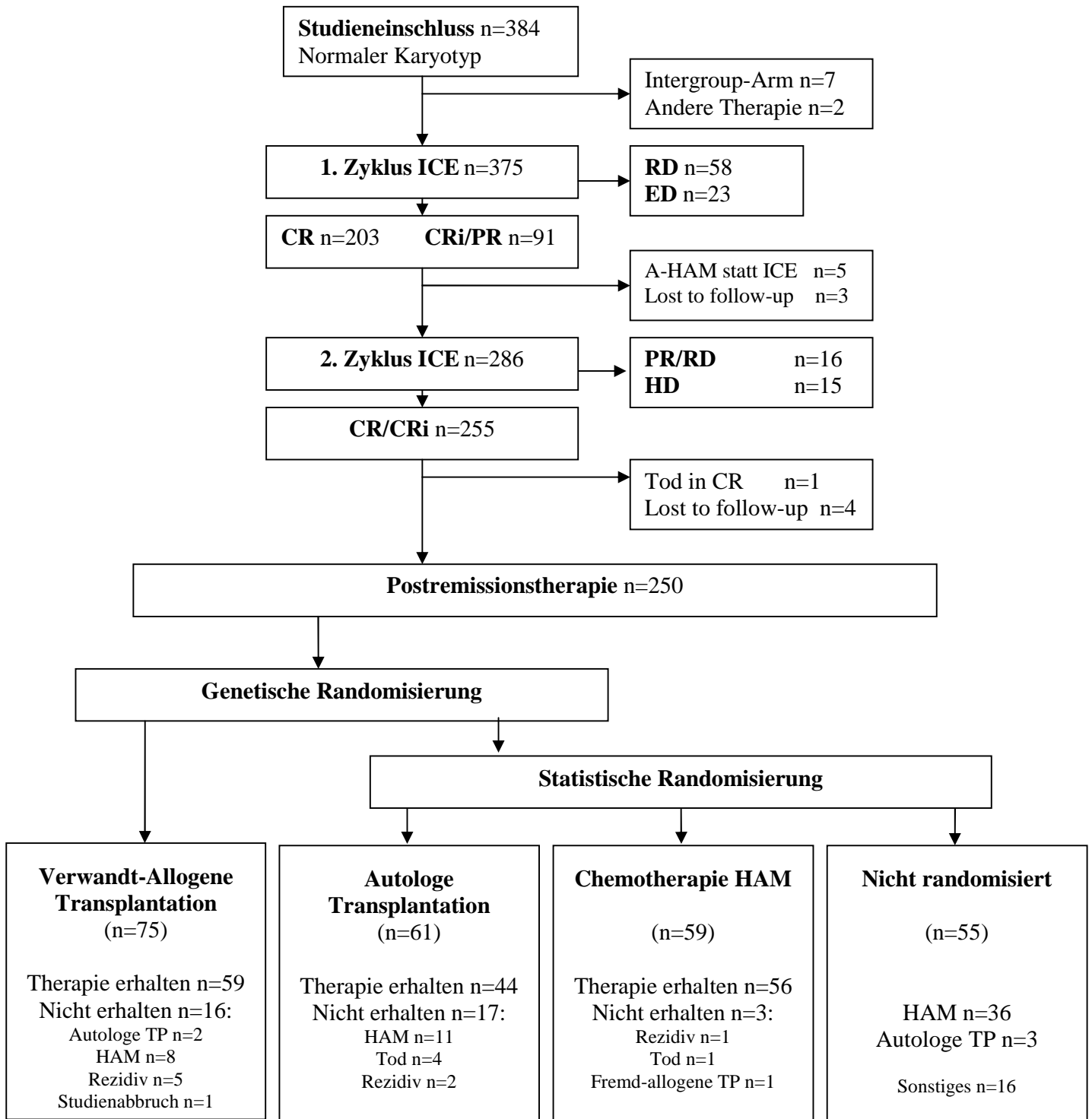
**NA** Merkmalsausprägung unbekannt

***FLT3*** FLT-like tyrosin kinase 3

***FLT3-D835*** Bestimmte Mutation des *FLT3*

***NPM1*** Nucleophosmin 1

### 3.2 Flussdiagramm für das Studienkollektiv



**ICE** Chemotherapiezyklusschema: Idarubicin, Cytarabin, Etoposid

**CRi** Komplette Remission mit incompletter Regeneration

**ED/HD** Früh Todesfall/später Todesfall (in Hypoplasie)

**HAM** Chemotherapiezyklusschema: Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone

**A-HAM** Chemotherapiezyklusschema: Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone, All-Trans-Retinsäure

**CR** Komplette Remission

**PR** Partielle Remission

**RD** Refraktäre Erkrankung

**TP** Transplantation

Abbildung 3 Flussdiagramm der Patienten mit normalem Karyotyp in der AML-HD98-A-Studie

In Abbildung 3 ist der Behandlungsablauf für das Studienkollektiv (Patienten mit normalem Karyotyp) dargestellt. In jedem Teil des Diagramms ist angegeben, wie viele Patienten in einem bestimmten Teil des Protokolls in Behandlung waren und welches Ergebnis sie erzielten.

384 Patienten mit normalem Karyotyp wurden in die Studie eingeschlossen. 7 Patienten erhielten im Rahmen einer Upfront-Randomisation eine Behandlung nach einem anderen Protokoll, 2 Patienten ohne Randomisation. 375 Patienten erhielten protokollgerecht einen 1. Zyklus ICE I. 58 Patienten waren nach diesem refraktär, 23 starben, 294 sprachen zumindest teilweise an. Von diesen wurde bei 286 der zweite Zyklus ICE begonnen. Von diesen erreichten 255 Patienten eine komplette Remission (CR oder CRi) in diesem Zyklus. Von diesen wiederum starb ein Patient in CR, 4 gingen dem Follow-up verloren, sodass insgesamt 250 die Postremissionstherapie erreichten und somit zur genetischen und statistischen Randomisation vorgesehen waren.

Nach dem Protokoll sollten alle Patienten mit Familienspender eine verwandt-allogene Transplantation erhalten, die übrigen zwischen HAM und autologer Transplantation randomisiert werden.

Die tatsächlich erhaltene Therapie für alle 250 Patienten, die die Konsolidierung erreichten, ist aufgeschlüsselt nach dem Randomisationsergebnis in Tabelle 11 aufgeführt.

**Tabelle 8 Vergleich Intention-to vs. As-Treated für das Kollektiv in der Spätkonsolidierung. Darstellung Amteoöe absolut (relativ), Relativanteile beziehen sich immer auf die geplante Therapie, d.h. As-Treated/Intention-to.**

<i>Intention-to/ Randomisation</i>	<i>As-Treated/erhaltene Therapie</i>			
	<b>Verwandt- Allogene TP</b>	<b>Autologe TP</b>	<b>HAM</b>	<b>Sonstiges/ andere Therapie</b>
n=250	n=59	n=49	n=111	n=31
<b>Verwandt-Allogene TP</b> n=75	n=59 (78,7%)	n=2 (2,7%)	n=8 (10,7%)	Rezidiv n=5 Studienabbruch n=1
<b>Autologe TP</b> n=61	n=0 (0%)	n=44 (72,1%)	n=11 (18,0%)	Tod n=4 Rezidiv n=2
<b>HAM</b> n=59	n=0 (0%)	n=0 (0%)	n=56 (94,9%)	Rezidiv n=1 Tod n=1 fremd-allogene TP n=1
<b>Nicht Randomisiert</b> n=55	n=0	n=3	n=36	n=16

**HAM** Chemotherapiezyklusschema: Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone      **TP** Transplantation

Fünf Patienten, die eine verwandt-allogene Transplantation erhalten sollten, erlitten vor Transplantationsbeginn ein Rezidiv und konnten daher nicht protokollgerecht behandelt

werden, ein Patient brach die Behandlung ab. Vier Patienten, die eine autologe Transplantation erhalten sollen, starben im Rahmen der Konditionierung, zwei erlitten ein Rezidiv. Von den Patienten, die zu HAM randomisiert waren, erhielten drei nicht die zuge dachte Behandlung: Ein Patient erlitt ein Rezidiv vor Abschluss der Konsolidierung, ein Patient starb, und ein Patient erhielt protokollabweichend eine fremd-allogene Transplantation. 55 Patienten ohne vorhandenen Familienspender wurden nicht randomisiert; von diesen erhielten 3 Patienten eine autologe Transplantation, 36 eine Chemotherapie nach HAM. Die 16 verbliebenen Patienten dieser Gruppe erhielten verschiedenste Chemotherapien.

Der Gesamtanteil der Patienten, die in der Konsolidierungsphase tatsächlich die ihnen zuge dachte Therapie erhielten, belief sich damit auf 81,5%. Es ist zu bemerken, dass dieser Anteil bei den Patienten, die HAM erhalten sollten, mit 94,9% am höchsten war. Bei der autologen Transplantation war dieser mit 72,1% und bei der allogenen Transplantation mit 78,7% niedriger. Ebenso waren die Anteile vor Erhalt der Therapien rezidivierter oder verstorbener Patienten bei den Transplantationen vergleichsweise höher.

### 3.3 Genetische Mutationen und deren Interaktionen

In diesem Kapitel wird die Interaktion der molekularen Marker zu anderen Variablen untersucht. Die Verteilung der Mutationen ist noch einmal in Tabelle 9 aufgeführt.

**Tabelle 9 Verteilung der molekularen Marker im Studienkollektiv;  
Darstellung Anteil absolut (relativ)**

	Wert		Wert		Wert
<b><i>CEBPA</i></b>		<b><i>FLT3-ITD</i></b>		<b><i>FLT3-D835</i></b>	
mutiert	41 (14%)	mutiert	99 (32%)	mutiert	29 (10%)
unmutiert	253 (86%)	unmutiert	214 (68%)	unmutiert	271 (90%)
NA	90	NA	71	NA	84
<b><i>MLL</i></b>		<b><i>NPM1</i></b>			
mutiert	26 (9%)	mutiert	150 (50%)		
unmutiert	276 (91%)	unmutiert	150 (50%)		
NA	82	NA	84		

*CEBPA* CCAAT-Enhancer binding protein alpha

*FLT3-ITD* Interne Tandemduplikation des *FLT3*

*MLL* Mixed lineage leukemia gene

NA Merkmalsausprägung unbekannt

*FLT3* FLT-like tyrosin kinase 3

*FLT3-D835* Bestimmte Mutation des *FLT3*

*NPM1* Nucleophosmin 1

Da in unseren Modellen alle diese Marker gleichzeitig betrachtet werden, erscheint es sinnvoll, insbesondere die in der Literatur beschriebenen Interaktionen (siehe 1.7.3) zu berücksichtigen. Dazu wurden sämtliche zweidimensionalen Kontingenztafeln über den Variablen aus Tabelle 11 auf Signifikanz überprüft. Von den 15 möglichen Kombinationen sind diejenigen in Tabelle 12 aufgeführt, bei denen ein signifikanter Zusammenhang nachweisbar war. Für jede Interaktion wird die jeweilige Odds Ratio, der p-Wert sowie das 95%-ige Konfidenzintervall (95%-CI) aufgeführt.

Die Mutationen des *NPM1* sind signifikant häufiger zusammen mit Mutationen des *FLT3*-Gens anzutreffen. Zu sämtlichen anderen Mutationen besteht eine inverse Assoziation von *NPM1*, die außer bei *FLT3*-D835 stets signifikant ist. *CEBPA* ist signifikant mit Abwesenheit von *FLT3*-ITD und mit dem FAB-Typen M4 und M5 assoziiert. In (Döhner et al. 2005) wurde die Stratifikation nach kombinierten Subgruppen im Bezug auf *FLT3* und *NPM1* vorgeschlagen, insbesondere diejenige der *FLT3*-unmutierten und *NPM1*-



mutierten Subgruppe. Diese Betrachtung der Kontingenztabel (Tabelle 11) beider Merkmale ergibt eine signifikante Interaktion zwischen beiden Merkmalen.

**Tabelle 10 Signifikante Interaktionen zwischen molekularen Markern in der Studienpopulation**

<b>Interaktion</b>	<b>Odds Ratio</b>	<b>p-Wert</b>	<b>95%-CI</b>
<i>NPM1</i> – <i>MLL</i>	0,072	<0,0001	[0,008; 0,299]
<i>NPM1</i> – <i>CEBPA</i>	0,254	0,0003	[0,102; 0,574]
<i>NPM1</i> – <i>FLT3-ITD</i>	2,912	<0,0001	[1,708; 5,037]
<i>NPM1</i> – <i>FLT3-D835</i>	2,137	0,1	[0,874; 5,611]
<i>NPM1</i> – <i>FAB M4/5</i>	0,394	0,0003	[0,228; 0,671]
<i>CEBPA</i> – <i>FLT3-ITD</i>	0,326	0,01	[0,108; 0,825]
<i>CEBPA</i> – <i>FAB M4/5</i>	2,612	0,02	[1,118; 6,553]

*CEBPA* CCAAT-Enhancer binding protein alpha

*FLT3-ITD* Interne Tandemduplikation des *FLT3*

*MLL* Mixed lineage leukemia gene

**CI** Konfidenzintervall

**FAB** French-American-British Group; Klassifikation der AML in M0-M6

*FLT3* FLT-like tyrosin kinase 3

*FLT3-D835* Bestimmte Mutation des *FLT3*

*NPM1* Nucleophosmin 1

**Tabelle 11 Kontingenztabelle *FLT3-ITD* und *NPM1* für die Studienpopulation; Fisher-p<0,0001. Daten unbekannt bei 86 Patienten**

<i>NPM1</i>	<i>FLT3-ITD</i>	
	<b>Ja</b>	<b>Nein</b>
<b>Mutiert</b>	65	82
<b>Unmutiert</b>	32	118

*FLT3* FLT-like tyrosin kinase 3

*FLT3-ITD* Interne Tandemduplikation des *FLT3*

*NPM1* Nucleophosmin 1

Um weitere Interaktionen zu identifizieren, wurden sämtliche untersuchten Parameter nominalisiert und auf gegenseitige Interaktion untersucht. In Tabelle 12 sind Odds Ratio und Signifikanzniveau für diejenigen Paarkontingenzen angegeben, die im zweiseitigen Fisher-Test mit  $p < 0,05$  signifikant sind, ferner ist farblich gekennzeichnet, ob die Interaktion **positiv** (grün) oder **negativ** (rot) ist. „↑“ bedeutet, dass der Wert über dem Median des Gesamtkollektivs liegt.

**Tabelle 12 Korrelationsdiagramm: Tabellarische Darstellung der Odds Ratio und des p-Wertes der Korrelation dichotomer Merkmale im Fisher-Test; vorhandene Mutationen sind mit +, über den Median erhöhte stetige Variablen mit ↑ gekennzeichnet. Notation der p-Werte in der Form  $a \times 10^{-b}$**

Odds Ratio p-Wert	<i>CEBPA</i> +	<i>FLT3-D835</i> +	<i>FLT3-ITD</i> +	<i>MLL</i> +	<i>NPM1</i> +	<i>FAB-M4/5</i> +	Alter↑	♂	Manifest.+	Hb↑	Leukos↑	Thrombos↑	Peri.Blasten↑	KM-Blasten↑	LDH↑
<i>CEBPA</i> +			0,33 1e-2		0,25 3e-4	0,38 4e-5			0,28 6e-3			0,37 1e-2			
<i>FLT3-D835</i> +											2,44 5e-2		3,01 2e-2		
<i>FLT3-ITD</i> +					2,91 4e-5			0,57 2e-2			4,27 6e-8		2,21 2e-3	2,86 1e-4	5,60 1e-9
<i>MLL</i> +					0,07 4e-6						0,42 4e-2				
<i>NPM1</i> +						2,54 3e-4		0,58 3e-2	3,18 1e-5		3,49 3e-7			1,99 5e-3	3,40 6e-7
<i>FAB-M4/5</i> +									3,10 3e-6		2,07 2e-3	2,10 1e-3	0,59 3e-2	1,61 4e-2	
Alter↑														0,63 3e-2	0,53 3e-3
♂										1,55 4e-2	0,61 2e-2				
Manifest.+											2,99 3e-6				1,91 6e-3
Hb↑												1,72 1e-2	1,70 1e-2		
Leukos↑												0,64 4e-2	7,09 1e-9	3,98 1e-9	6,93 1e-9
Thrombos↑													0,44 1e-4		0,60 2e-2
peri.Blasten↑														7,14 1e-9	4,10 1e-9
KM-Blasten↑															3,03 6e-7
LDH↑															

*CEBPA* CCAAT-Enhancer binding protein alpha  
*FLT3-ITD* Interne Tandemduplikation des *FLT3*  
*MLL* Mixed lineage leukemia gene  
**peri. Blasten** peripherer Blastenanteil  
**Hb** Hämoglobin      **Leukos** Leukozyten  
♂ männliches Geschlecht      **Manifest.** Vorliegen extramedullärer Manifestationen bei Diagnose  
**FAB** French-American-British Group; Klassifikation der AML in M0-M6  
**LDH** Leukozytendehydrogenase

*FLT3* FLT-like tyrosin kinase 3  
*FLT3-D835* Bestimmte Mutation des *FLT3*  
*NPM1* Nucleophosmin 1  
**KM-Blasten** Blastenanteil im Knochenmark  
**Thrombos** Thrombozyten

Die Tabelle ist aufgrund der Symmetrie des Fisher-Testes ebenfalls symmetrisch; die Darstellung besitzt explorativen Charakter und ist daher im Gegensatz zu einer Kovarianzmatrix nur als qualitativ anzusehen.

Auffallend sind die starken Interaktionen zwischen den molekularen Markern. Gruppiert man nach negativer Korrelation mit hoher Signifikanz (unter  $p=0,001$ ), sodass Marker mit negativen Korrelationen zueinander in der gleichen und Marker mit positiven Korrelationen zueinander in verschiedenen Gruppen liegen, lassen sich *CEBPA*, *MLL* und *NPM1* in eine und *FLT3-ITD* in eine weitere Gruppe einordnen. Die Zugehörigkeit von *FLT3-D835* in eine dieser Gruppen oder in eine dritte ist aufgrund der vorliegenden Daten unklar; insgesamt ist das aber in Übereinstimmung mit der Einteilung in Klasse-I- und Klasse-II-Mutationen.

Um die Interaktionen zwischen den molekularen Markern zu berücksichtigen, wurden die Patienten auf Grundlage der Marker in vier ähnlich große Gruppen eingeteilt. Es stellte sich im Rahmen der Analysen heraus, dass *FLT3-D835* und *MLL* keinen Einfluss auf die Prognose hatten. Die Prognose in den durch die drei anderen Variablen definierten Subgruppen ist in Tabelle 13 aufgeführt.

**Tabelle 13 Qualitative Prognose in Abhängigkeit vom vorliegenden Genotyp; Karnaugh-Diagramm nach dichotomen Variablen *CEBPA*, *FLT3-ITD* und *NPM1* in der abhängigen Variable „Prognose“ (gut für 5-Jahres-Rezidivfreiheit oder 5- Jahresüberleben über Median, schlecht für 5-Jahres-Rezidivfreiheit und 5-Jahresüberleben unter Median des Studienkollektivs)**

Prognose	<i>FLT3-ITD+</i>		<i>FLT3-ITD-</i>	
	<i>NPM1+</i>	<i>NPM1-</i>	<i>NPM1-</i>	<i>NPM1+</i>
<i>CEBPA+</i>	gut	gut	gut	gut
<i>CEBPA-</i>	schlecht	schlecht	schlecht	gut

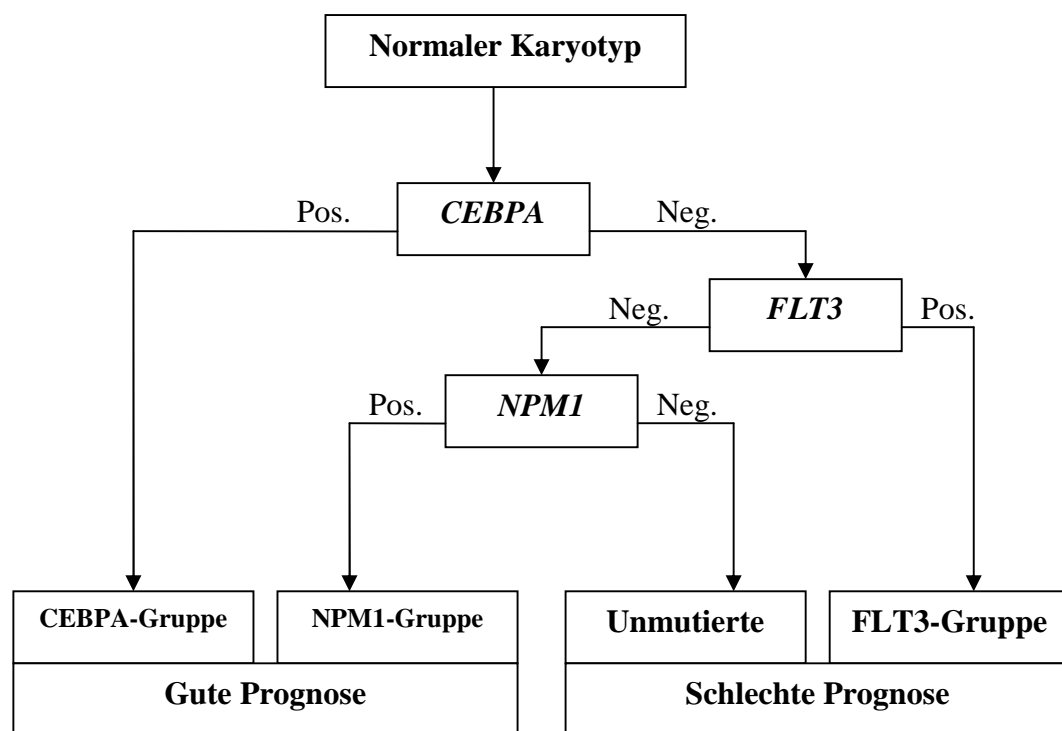
*CEBPA* CCAAT-Enhancer binding protein alpha  
*MLL* Mixed lineage leukemia gene  
**X+** Mutation (von) X vorhanden

*FLT3* FLT-like tyrosin kinase 3  
*NPM1* Nucleophosmin 1  
**X-** Mutation (von) X nicht vorhanden

Man erhält diese Tabelle, indem man zunächst explorativ in jeder der  $32=2^5$  durch die fünf initialen Marker definierten Subkollektive eine qualitative Betrachtung der Prognose (5-Jahres-Überleben und 5-Jahres-Rezidivfreiheit) im Studienkollektiv vornimmt, die entsprechende Tabelle aufstellt und mit dem aus der Informatik bekannten Karnaugh-Verfahren reduziert. Daraus erhält man eine logische Formel in den drei verbliebenen Markern, die als Entscheidungsdiagramm in Abbildung 6 dargestellt ist. Die genaue

Einteilung ist die Folgende (das Vorliegen einer Mutation wird dabei Folgenden mit + bezeichnet, das Nichtvorliegen oder der Wildtyp, je nach Marker, mit -):

- Falls ein Patient eine *CEBPA*-Mutation, also Genotyp *CEBPA*+ aufweist, wird er unabhängig von anderen Mutationen in die *CEBPA*-Gruppe klassifiziert.
- Bei Vorliegen einer *FLT3*-ITD ohne *CEBPA*-Mutation, also des Genotyps *CEBPA*- *FLT3*-ITD+, wird in die *FLT3*-ITD-Gruppe eingeordnet.
- Die verbleibenden Patienten zerfallen in die zwei Gruppen ohne Mutationen, also mit Genotyp *CEBPA*- *FLT3*-ITD- *NPM1*-, und in die Gruppe mit lediglich *NPM1*-Mutation mit Genotyp *CEBPA*- *FLT3*-ITD- *NPM1*+



*CEBPA* CCAAT-Enhancer binding protein alpha  
*MLL* Mixed lineage leukemia gene  
 Pos. Positiv (Mutation liegt vor)

*FLT3* FLT-like tyrosin kinase 3  
*NPM1* Nucleophosmin 1  
 Neg. negativ (Mutation nicht vorhanden)

Abbildung 4 Vorgeschlagene Einteilung des Kollektivs mit normalem Karyotyp in genetische Risikogruppen

Tabelle 14 Häufigkeitsverteilung der Markergruppen im Studienkollektiv;  
 Darstellung Anteil absolut (relativ)

Gruppe	CEBPA	NPM1	Unmutierte	FLT3	Unbekannt
Anzahl	40 (14,2%)	70 (24,9%)	86 (30,6%)	85 (30,2%)	103

*CEBPA* CCAAT-Enhancer binding protein alpha  
*MLL* Mixed lineage leukemia gene

*FLT3* FLT-like tyrosin kinase 3  
*NPM1* Nucleophosmin 1

Diese Einteilung ist in dem Sinne minimal, dass in jeder anderen ähnlichen Einteilung die Anzahl der Verzweigungen und der verwendeten Marker gleich bleibt oder größer wird (d.h. die Komplexität der booleschen Formel gleich bleibt oder steigt). Sie ist nicht eindeutig in dem Sinne, dass das die einzige solche mögliche Einteilung ist; jedoch ist sie diejenige Einteilung, bei denen die Größen der vier Gruppen einander am ähnlichsten sind.

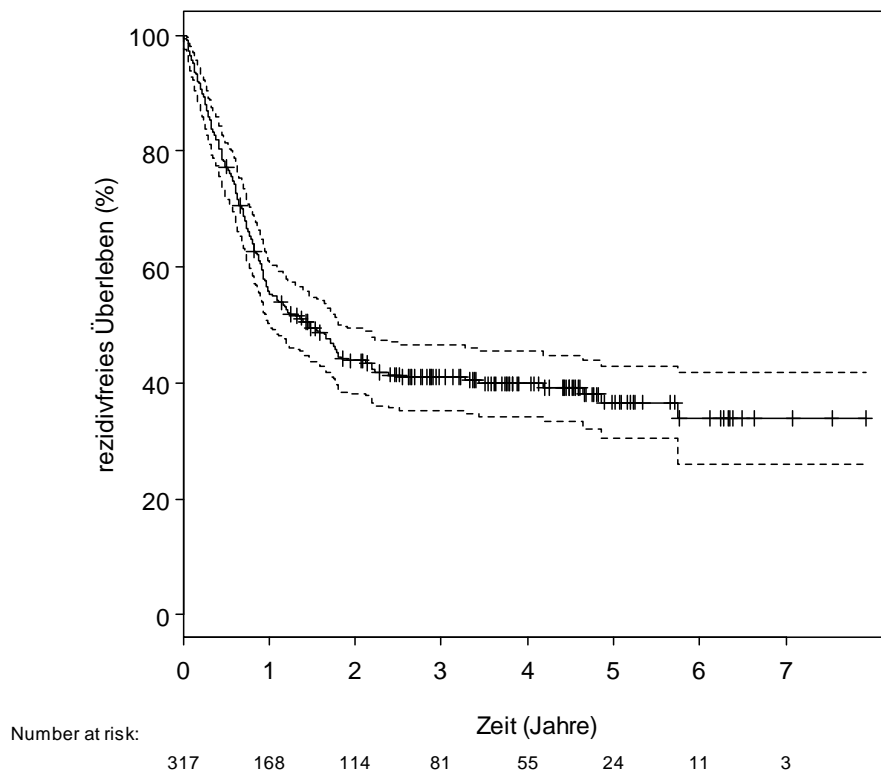
Durch diese Gruppeneinteilung sind auch sämtliche relevanten Interaktionen zwischen den drei zugrunde liegenden Markern beseitigt, ihre prognostische und prädiktive Signifikanz wird in den folgenden Kapiteln durch statistische Analysen untersucht. Die Häufigkeitsverteilung für diese genotypisch determinierten Gruppen ist in Tabelle 14 aufgeführt.

Als „unbekannt“ gelten dabei diejenigen Individuen, für die der Status eines molekularen Markers bei mindestens einer Verzweigung im Diagramm aus Abbildung 6 unbekannt ist. Eine Interaktion der nominalen Variable „Markergruppe“ mit *FLT3-D835* ist nicht gegeben ( $p=0,14$ ), die *NPM1*-Gruppe ( $OR=8,32$ ;  $p=0,01$ ) und die unmutierte Gruppe ( $OR=0,23$ ;  $p=8e-4$ ) korrelieren jedoch stark mit dem Genotyp *MLL+*; eine weitere Unterteilung ist allerdings wegen der geringen Größe des entsprechenden Kollektivs ( $n=8$ ) nicht sinnvoll.

### 3.4 Überleben der Auswertungsgesamtheit

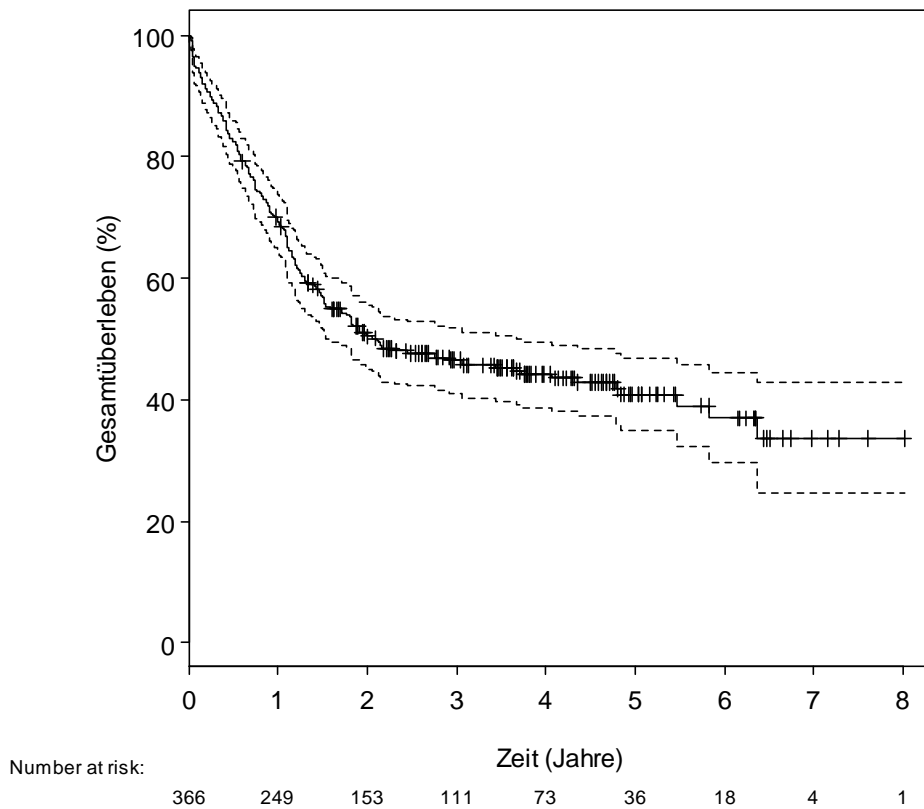
Abbildung 5 und 6 zeigen das Gesamtüberleben und das rezidivfreie Überleben des Auswertungskollektivs (n=366). Das rezidivfreie Überleben bezieht sich auf das Subkollektiv, welches eine Remission erreichte (n=317).

Das mediane Follow-up ab Diagnosestellung betrug im Auswertungskollektiv 5,81 Jahre.



**Abbildung 5 Rezidivfreies Überleben im Kollektiv, das eine Remission erreichte; Kaplan-Meier-Schätzer mit 90%-Konfidenzintervallen und Number at risk in Jahresabständen**

Im Auswertungskollektiv erreichten 317 Patienten (86,6%) eine Remission. Die mediane Rezidivfreiheit betrug 1,46 Jahre, die 4-Jahres-Rezidivfreiheit 38% (95%-CI 33%-44%), die 5-Jahres-Rezidivfreiheit 34% (95%-CI 28%-41%).



**Abbildung 6 Gesamtüberleben des Auswertungskollektivs;  
Kaplan-Meier-Schätzer mit 90%-Konfidenzintervallen und Number at risk in Jahresabständen**

Das mediane Gesamtüberleben betrug 2,05 Jahre, das 4-Jahres-Überleben 43% (95%-CI 38%-49%), das 5-Jahres-Überleben 39% (95%-CI 33%-46%).

### 3.5 Einflussgrößen auf die Doppelinduktion

In diesem Kapitel werden die Induktionsphase und Einflussgrößen auf das Ansprechen in dieser Phase untersucht.

#### Univariate Analyse

Von den 384 in die Studie aufgenommenen Patienten wurde bei 375 protokollgerecht mit der Doppelinduktion begonnen. In Tabelle 15 und 16 sind die absoluten und relativen Häufigkeitsverteilungen der Remissionsstatus nach den beiden Induktionszyklen angegeben.

**Tabelle 15 Remission des Patientenkollektivs nach dem 1. Zyklus;  
Darstellung Anteil absolut (relativ)**

Remission nach ICE1	CR	PR	RD	ED
<b>Anzahl (n=375)</b>	203 (54,1%)	91 (24,3%)	58 (15,5%)	23 (6,1%)

ICE Chemotherapiezyklusschema: Idarubicin, Cytarabin, Etoposid    CR Komplette Remission  
PR Partielle Remission    RD Refraktäre Erkrankung    ED Frühodesfall nach 1. Zyklus

**Tabelle 16 Remission des refraktären Patientenkollektivs nach dem 2. Zyklus;  
Darstellung Anteil absolut (relativ)**

Remission nach ICE2/A-HAM	CR	RD	HD
<b>Standard (n=286)</b>	255 (89,1%)	16 (5,6%)	15 (5,2%)
<b>Refraktäre (n=58)</b>	19 (32,6%)	38 (66,5%)	1 (1,7%)

ICE Chemotherapiezyklusschema: Idarubicin, Cytarabin, Etoposid    CR Komplette Remission  
RD Refraktäre Erkrankung    HD Todesfall    A-HAM Chemotherapiezyklusschema:  
All-Trans-Retinolsäure, Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone

Patienten mit CR und PR nach ICE1 sollten einen 2. Zyklus ICE erhalten, alle anderen überlebenden einen Zyklus A-HAM. 8 Patienten mit CR/PR erhielten jedoch fälschlicherweise einen Zyklus A-HAM. Der Rest wurde protokollgemäß behandelt.

Im Protokoll wurde eine CRi nach dem 2. Zyklus als CR und PR nach dem 2. Zyklus als RD gewertet.

**Tabelle 17 Ansprechen des Studienkollektivs auf die Induktionsphase;  
Darstellung Anteil absolut (relativ)**

Remission nach Induktion	CR	RD	ED/HD	Dropout
<b>Anzahl (n=384)</b>	281 (76,6%)	45 (12,3%)	17 (4,6%)	17

CR Komplette Remission    RD Refraktäre Erkrankung    ED/HD Todesfall

Bei den als rezidiert aufgeführten Patienten musste die Therapie aufgrund von Komorbidität verschoben werden, sodass bei allen vor Beginn des nächsten



Konsolidierungszyklus ein Rezidiv eintrat. Tabelle 17 zeigt das Ansprechen auf die gesamte Doppelinduktion.

Als Zielgröße der weiteren Betrachtungen wurde die dichotome Variable CR/keine CR gewählt. Zunächst wurden univariate Korrelationsanalysen mit sämtlichen oben beschriebenen Variablen durchgeführt. Signifikante Interaktionen sind in Tabelle 18 dargestellt.

**Tabelle 18 Univariate Prädiktoren für das Ansprechen des Studienkollektivs auf die Induktionsphase im Kruskal-Wallis-Test**

Gruppe	Odds Ratio	p-Wert	95%-CI
<b><i>FLT3</i>-ITD positiv</b>	0,447	0,003	[0,259; 0,772]
<b><i>NPM1</i>-Gruppe</b>	4,131	0,0001	[1,838; 10,53]
<b><i>FLT3</i>-ITD-Gruppe</b>	0,458	0,006	[0,257; 0,818]
<b>CR nach ICE I</b>	9,150	<0,0001	[5,106; 17,16]
<b>PR nach ICE I</b>	1,103	0,79	[0,633; 1,968]
<b>RD nach ICE I</b>	0,160	<0,0001	[0,084; 0,300]

*CEBPA* CCAAT-Enhancer binding protein alpha      *FLT3* FLT-like tyrosin kinase 3  
*MLL* Mixed lineage leukemia gene      *NPM1* Nucleophosmin 1  
**CR** Komplette Remission      **RD** Refraktäre Erkrankung      **ED/HD** Todesfall  
**ICE** Chemotherapiezyklusschema: Idarubicin, Cytarabin, Etoposid      **CR** Komplette Remission  
**95%-CI** 95%-Konfidenzintervall

Das Vorliegen einer RAEB-t (20-30% Blastenanteil im Knochenmark) nach alter FAB-Klassifikation hatte keinen signifikanten Einfluss auf das Ansprechen.

### Multivariates Modell

Für die Induktionsphase wurde ein multivariates Modell mittels logistischer Regression auf die binäre Zielvariable CR nach Doppelinduktion erstellt. Das nach Rückwärtsselektion errechnete Modell findet sich in Tabelle 19. Neben den errechneten Koeffizienten und dem p-Wert werden auch die errechneten Odds aufgeführt.

**Tabelle 19 Multivariates logistisches Modell für das Ansprechen in Induktionsphase**

Einflussgröße	Koeffizient	p-Wert	Odds
<b><i>FLT3</i>-ITD positiv</b>	-0,92	0,007	0,399
<b><i>NPM1</i> mutiert</b>	0,78	0,022	2,177

*FLT3* FLT-like tyrosin kinase 3      *NPM1* Nucleophosmin 1

Die anderen Einflussgrößen waren nach Rückwärtsselektion im Modell nicht mehr enthalten.

### 3.6 Prognosekriterien für Refraktäre

In diesem Kapitel wird das auf Doppelinduktion refraktäre Kollektiv untersucht. Dieses umfasst n=48 Patienten, die entweder nach dem ersten Zyklus eine RD oder nach dem zweiten eine PR oder RD aufwiesen. 25 Patienten in diesem Kollektiv erreichten eine erste Remission.

#### 3.6.1 Rezidivfreies Überleben

Dieser Abschnitt enthält die Einflussgrößen auf das rezidivfreie Überleben des refraktären Kollektivs. Die signifikanten univariaten positiven Prädiktoren sind in Tabelle 20 aufgeführt.

**Tabelle 20 Positive univariate Prädiktoren für das Gesamtüberleben im refraktären Kollektiv im Logrank-Test**

Merkmals	p-Wert
<i>FLT3</i> -ITD negativ	0,004
<i>NPM1</i> unmutiert	0,02.

*FLT3* FLT-like tyrosin kinase 3

*NPM1* Nucleophosmin 1

*FLT3*-ITD interne Tandemduplikation des *FLT3*

Bei den refraktären Patienten war das Vorliegen einer Mutation des *NPM1* im Gegensatz zu der nicht refraktären Gruppe mit einem schlechteren Überleben assoziiert. Das kann durch einen Selection Bias in der Induktionsphase erklärt werden: Die *NPM1*-positiven Patienten waren beinahe alle *FLT3*-ITD positiv, gehören also der *FLT3*-Gruppe an.

Das Vorliegen einer RAEB-t hatte bei einer leicht negativ prognostischen Tendenz keinen signifikanten Einfluss auf das Überleben.

Schließlich wurde die Therapie als Einflussgröße auf das rezidivfreie Überleben untersucht. Von den 25 Patienten, die eine erste Remission erreichten, erhielten 13 Patienten trotz Refraktärität keinen Zyklus A-HAM. 4 Patienten wurden verwandt-allogen, 4 fremd-allogen und 2 haploident-allogen transplantiert. 4 Patienten erhielten nach A-HAM verschiedene Chemotherapien ohne anschließende Transplantation.

Die verwandt-allogene Transplantation war im Logrank-Test einer Chemotherapie ohne A-HAM mit  $p=0,003$  signifikant überlegen. Zur haploidenten Transplantation ( $p=0,02$ ) und zur fremd-allogenen Transplantation ( $p=0,12$ ) konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Insgesamt sind die Ergebnisse bei geringer Gruppengröße ( $n=48$ ) jedoch nicht sehr aussagekräftig.

### 3.6.2 Gesamtüberleben

Alle signifikanten positiven Korrelationen zum Gesamtüberleben im Logrank-Test für das refraktäre Kollektiv sind in Tabelle 21 aufgeführt.

**Tabelle 21 Positive univariate Prädiktoren für das Gesamtüberleben im refraktären Kollektiv im Logrank-Test**

<b>Merkmal</b>	<b>p-Wert</b>
<b><i>FLT3-ITD</i> nicht vorhanden</b>	0,04
<b>Leukozyten&lt;9,6=2.Q</b>	0,02
<b>Peripherer Blastenanteil&lt;41%=2.Q</b>	<0,001
<b>LDH&lt;435=2.Q</b>	0,002

*FLT3-ITD* interne Tandemduplikation der FLT-like tyrosin kinase 3  
**LDH** Leukozytendehydrogenase                      **Q** Quartil

Patienten mit hoher initialer Leukozytenzahl oder peripheren Blasten wiesen ein signifikant höheres Todesrisiko auf. Es ist zu beachten, dass die Korrelation von vorliegender *FLT3-ITD* mit hohen Leukozyten bzw. Blasten mit  $p<0,001$  bzw.  $p=0,001$  signifikant ist. Hohes LDH korreliert signifikant mit schlechterer Prognose, jedoch ebenso unter  $p<0,001$  mit *FLT3-ITD*. Das Vorliegen einer RAEB-t hat bei einer leicht negativ prognostischen Tendenz keinen signifikanten Einfluss auf das Überleben.

Schließlich wurde die Wahl der Therapie als Einflussgröße auf das Gesamtüberleben untersucht. Von den 48 Patienten erhielten 20 trotz Refraktärität kein A-HAM. 6 Patienten wurden nach A-HAM und Konditionierung verwandt-allogen transplantiert, 6 fremd-allogen und 2 nur haploident-allogen. 10 Patienten erhielten A-HAM und danach eine Chemotherapie ohne Transplantation.

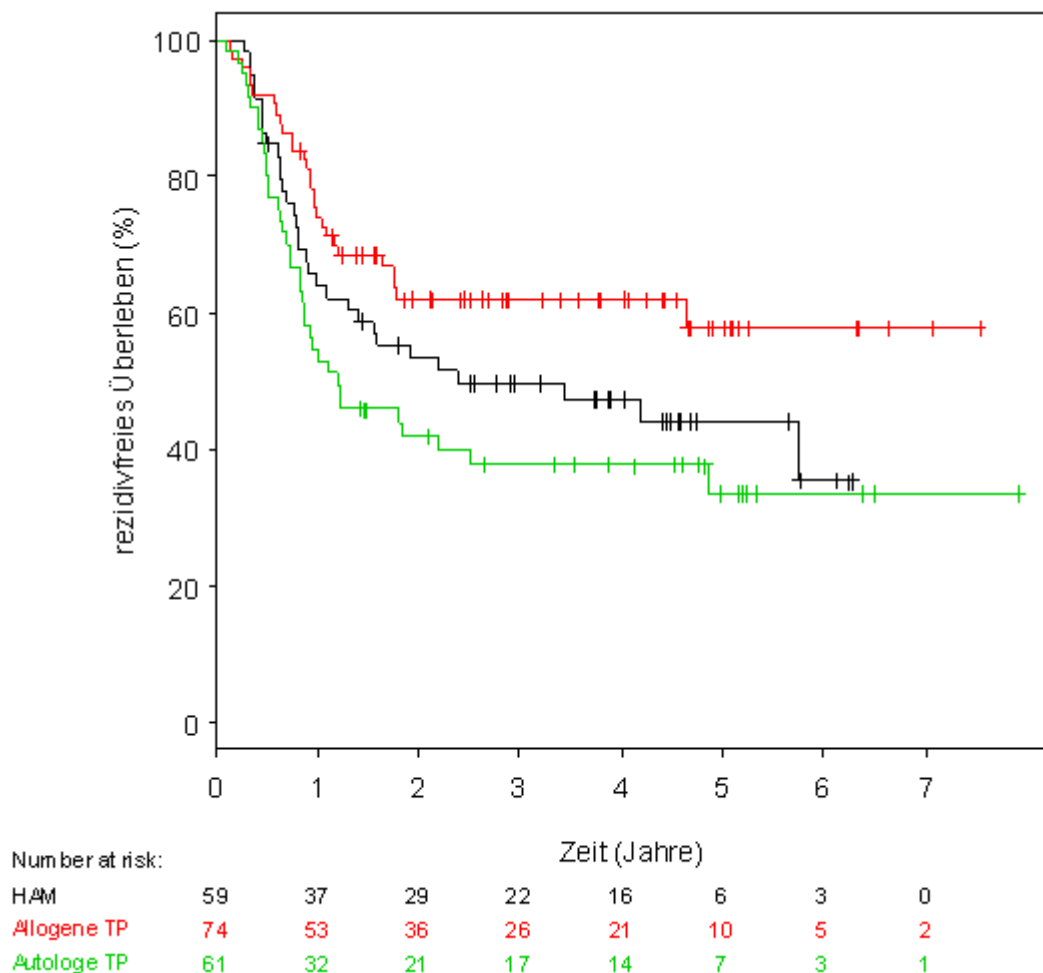
Die verwandt-allogene Transplantation erwies sich mit  $p=0,02$  nahezu sämtlichen anderen Optionen überlegen, lediglich zur fremd-allogenen Transplantation ließ sich kein signifikanter Unterschied feststellen ( $p=0,24$ ).

### 3.7 Prognosekriterien im Konsolidierungskollektiv

In diesem Kapitel sind die Einflussgrößen auf das Gesamt- und rezidivfreie Überleben in der Konsolidierungsphase dargestellt. An erster Stelle steht die Behandlung der konfirmatorischen Fragestellungen, danach folgen die explorativen Analysen. Als Analysekollektiv wurden die Patienten, die die Remission erreicht haben, zugrundegelegt. Bei den explorativen Analysen wurden 7 Dropouts ausgeschlossen.

#### 3.7.1 Postremissionstherapie

Dieser Abschnitt behandelt den Einfluss der durchgeführten Postremissionstherapie (HAM, autologe oder allogene Transplantation) in der Spätconsolidierung auf das Gesamtüberleben und das rezidivfreie Überleben.

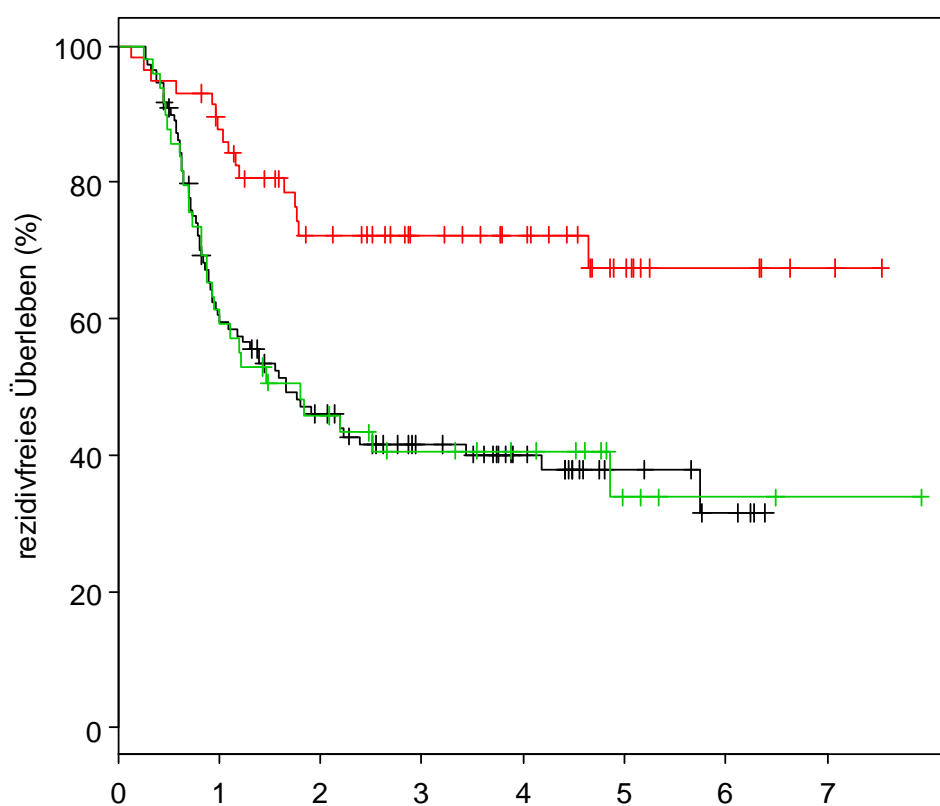


**HAM** Chemotherapiezykluschema: Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone      **TP** Transplantation

**Abbildung 7 Rezidivfreies Überleben für das Kollektiv in Spätconsolidierung. Intention-to-Treat-Analyse für die Therapieoptionen HAM, verwandt-allogene und autologe Transplantation (Logrank-p=0,02). Kaplan-Meier-Schätzer mit Number at risk in Jahresabständen, farbcodiert.**

Abbildung 7 zeigt das rezidivfreie Überleben in Abhängigkeit von der geplanten Therapieoption (intend-to-treat-Analyse).

Der Unterschied im Globaltest zwischen allen drei Behandlungsstrategien war mit  $p=0,02$  signifikant. Die Einzeltests jeweils zwischen HAM und einer der beiden Transplantationen dagegen waren nicht signifikant. Das heißt, die allogene Transplantation war der autologen Transplantation signifikant überlegen, eine Überlegenheit der allogenen Transplantation gegenüber der Chemotherapie nach HAM konnte aber nicht festgestellt werden.

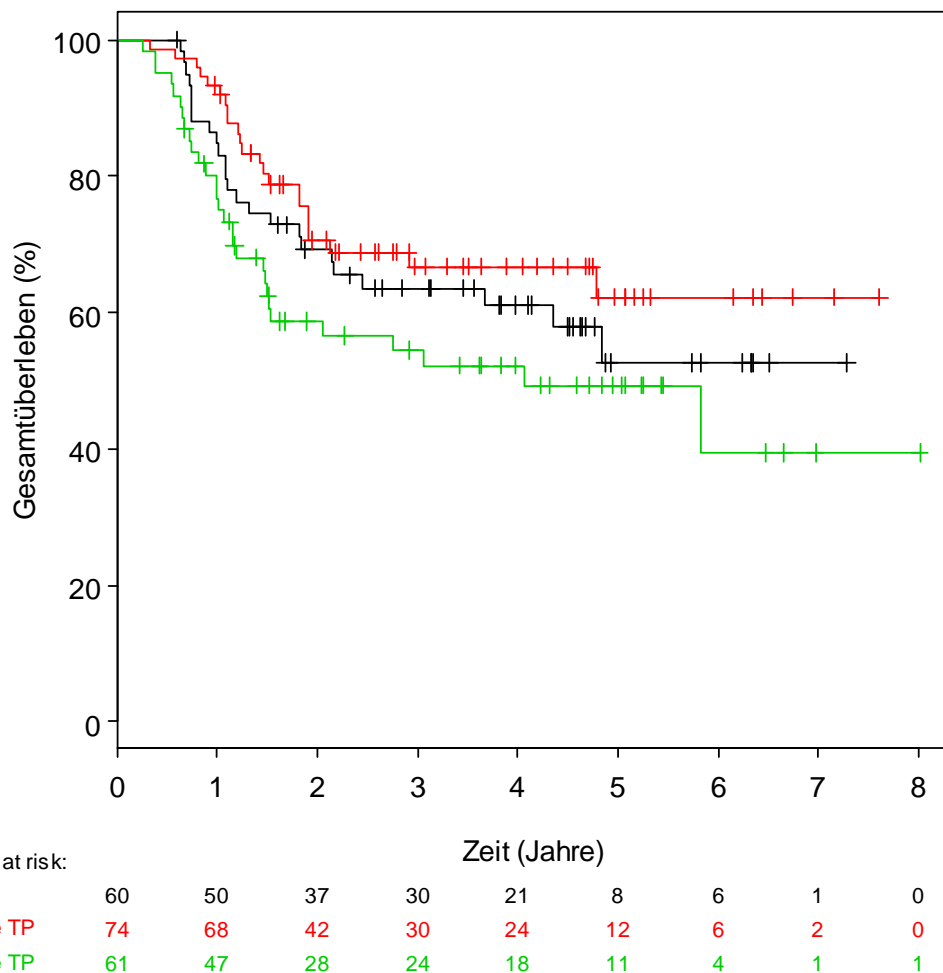


	Zeit (Jahre)							
Number at risk:	0	1	2	3	4	5	6	7
HAM	110	61	43	29	19	8	4	0
Allogene TP	58	49	34	25	20	10	5	2
Autologe TP	49	30	19	14	11	4	2	1

**HAM** Chemotherapiezykluschema: Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone      **TP** Transplantation

**Abbildung 8 Rezidivfreies Überleben für das Kollektiv in Spätkonsolidierung. As-Treated-Analyse für die Therapieoptionen HAM, verwandt-allogene und autologe Transplantation (Logrank- $p=0,0004$ ). Kaplan-Meier-Schätzer mit Number at risk in Jahresabständen, farbcodiert.**

In Abbildung 8 ist das rezidivfreie Überleben in Abhängigkeit von der tatsächlich durchgeführten Postremissionstherapie aufgetragen (As-Treated-Auswertung). In der As-Treated-Analyse konnte ein deutlicherer Unterschied zwischen der allogenen Transplantation und den anderen Therapieoptionen festgestellt werden: Die allogene transplantierte Gruppe besaß ein ca. halb so hohes Rezidivrisiko wie die HAM-Gruppe ( $p=0,0001$ ) und die autolog transplantierte Gruppe ( $p=0,0006$ ). Die allogene Transplantation war somit auch nach Bonferroni-Korrektur den beiden anderen Therapieoptionen überlegen. Zwischen den autolog transplantierten Patienten, und denen, die HAM erhielten, war kein Unterschied nachzuweisen ( $p=0,98$ ).

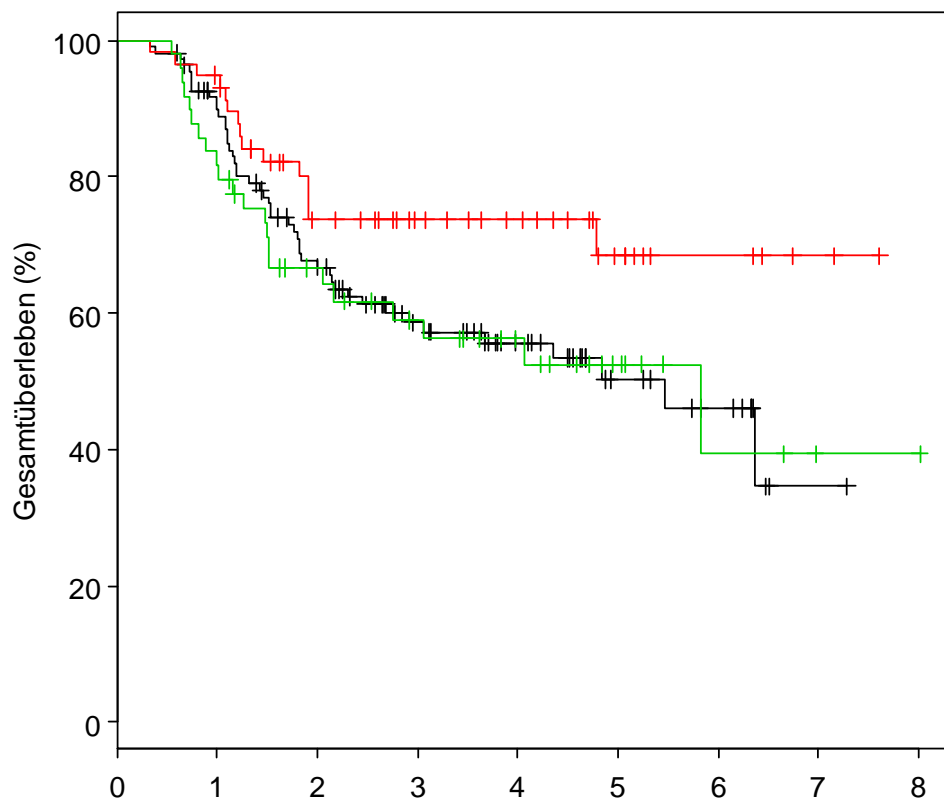


**HAM** Chemotherapiezyklusschema: Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone      **TP** Transplantation

**Abbildung 9 Gesamtüberleben für das Kollektiv in Spätkonsolidierung. Intention-to-Treat-Analyse für die Therapieoptionen HAM, verwandt-allogene und autologe Transplantation (Logrank- $p=0,10$ ). Kaplan-Meier-Schätzer mit Number at risk in Jahresabständen, farbcodiert.**

Abbildung 9 zeigt das Gesamtüberleben in Abhängigkeit von der geplanten Therapieoption (intend-to-treat-Analyse).

Signifikante Unterschiede waren im Gesamtvergleich nicht feststellbar; im paarweisen Vergleich waren die Unterschiede zwischen autologer und allogener Transplantation mit  $p=0,03$  ebenfalls nicht signifikant. Für das Gesamtüberleben in Abhängigkeit von der tatsächlich durchgeführten Postremissionstherapie (As-Treated-Auswertung) ergab sich in Abbildung 10 ein ähnliches Bild.

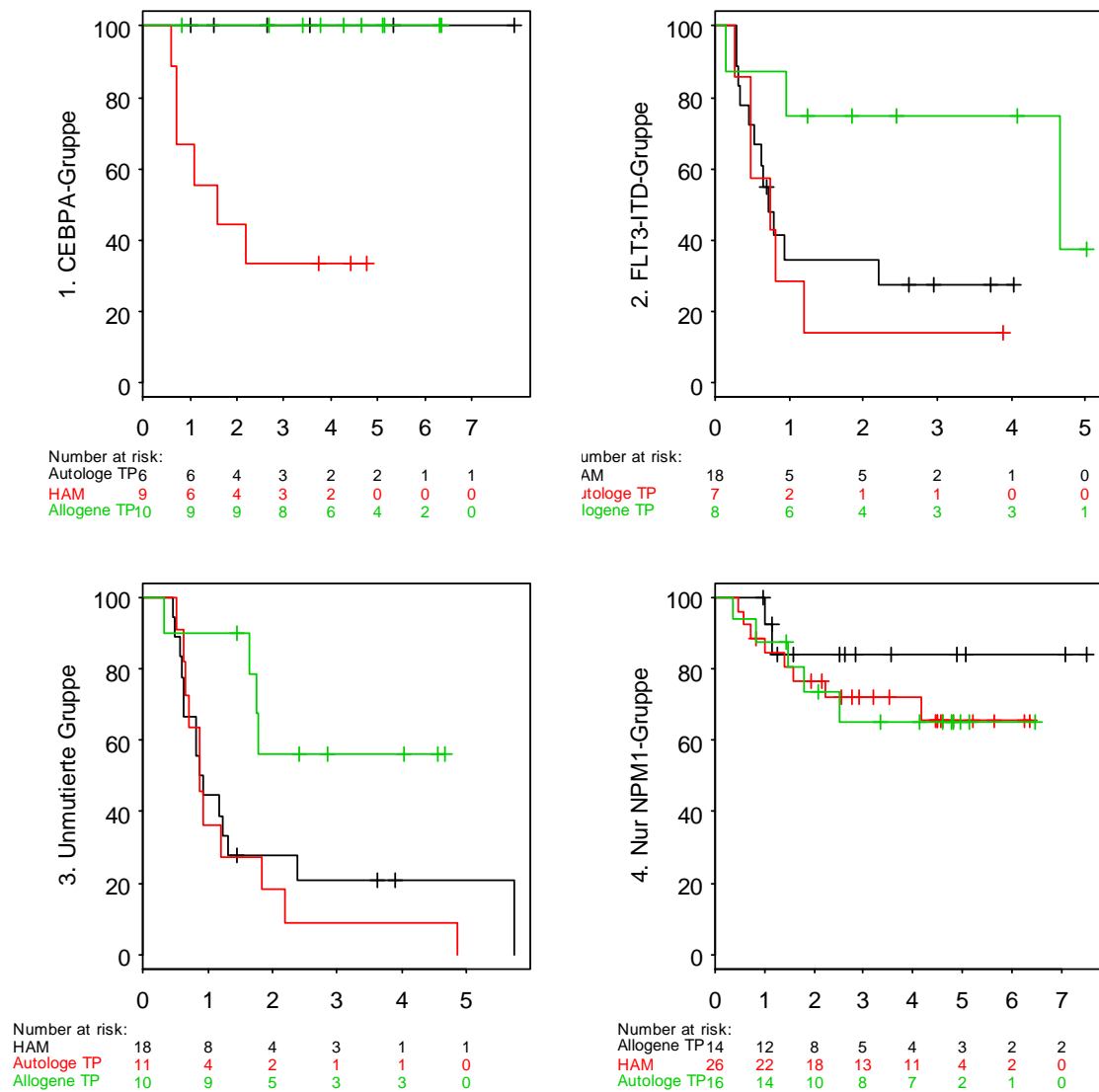


Number at risk:	Zeit (Jahre)									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
HAM	110	94	65	43	28	14	9	1	0	
Allogene TP	58	54	34	26	21	11	5	2	0	
Autologe TP	49	41	27	21	15	8	3	1	1	

**HAM** Chemotherapiezyklusschema: Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone      **TP** Transplantation

**Abbildung 10 Gesamtüberleben für das Kollektiv in Spätkonsolidierung. As-Treated-Analyse für die Therapieoptionen HAM, verwandt-allogene und autologe Transplantation (Logrank- $p=0,10$ ). Kaplan-Meier-Schätzer mit Number at risk in Jahresabständen, farbcodiert.**

Der Gesamtvergleich aller drei Therapieoptionen war nicht signifikant. Der Vergleich der einzelnen Populationen im Logrank-Test ergab  $p=0,03$  für HAM vs. Allogene Transplantation sowie  $p=0,05$  für autologe vs. allogene Transplantation; das heißt, es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Therapieoptionen festgestellt werden.

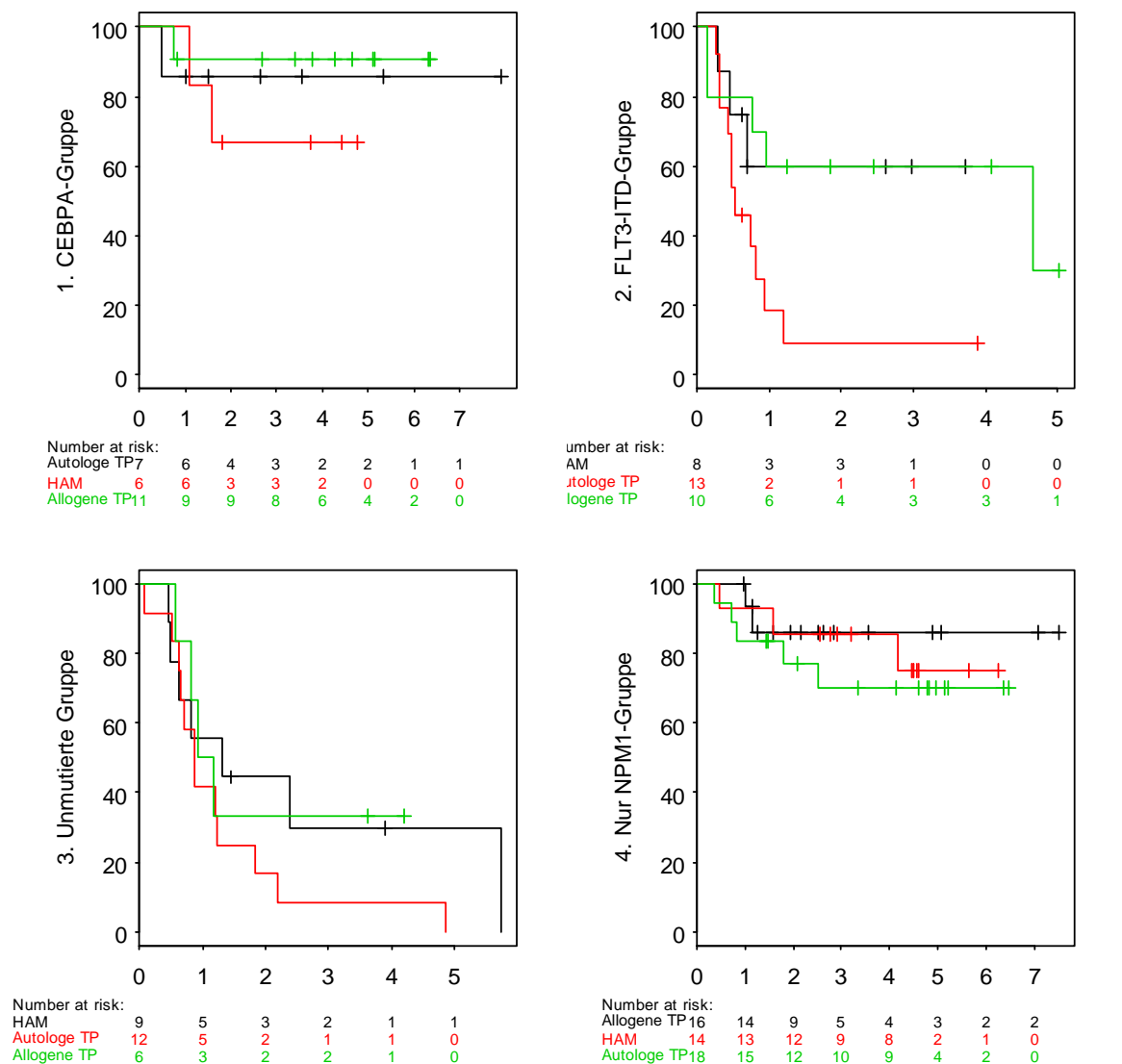


**CEBPA** CCAAT-Enhancer binding protein alpha  
**FLT3-ITD** interne Tandemduplikation der FLT-like tyrosin kinase 3  
**MLL** Mixed lineage leukemia gene  
**NPM1** Nucleophosmin 1  
**HAM** Chemotherapiezyklusschema: Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone  
**TP** Transplantation

**Abbildung 11** Rezidivfreies Überleben für das Kollektiv in Spätkonsolidierung, aufgeschlüsselt nach den definierten Markergruppen CEBPA (*CEBPA+*), FLT3-ITD (*CEBPA- FLT3-ITD+*), NPM1 (*CEBPA- FLT3-ITD- NPM1+*) und Unmutierte (*CEBPA- FLT3-ITD- NPM1-*). As-Treated-Analyse für die Therapieoptionen HAM, verwandt-allogene und autologe Transplantation (Logrank-p für CEBPA  $p=0,0009$ ; FLT3-ITD  $p=0,07$ ; unmutiert  $p=0,04$ ; NPM1  $p=0,64$ ). Kaplan-Meier-Schätzer mit Number at risk in Jahresabständen, farbcodiert.



In den Abbildungen 11 und 12 ist das rezidivfreie Überleben je nach geplanter bzw. durchgeführter Postremissionstherapie dargestellt, aufgeschlüsselt nach den durch die einzelnen Markergruppen definierten Kollektiven.



**CEBPA** CCAAT-Enhancer binding protein alpha  
**FLT3-ITD** interne Tandemduplikation der FLT-like tyrosin kinase 3  
**MLL** Mixed lineage leukemia gene  
**NPM1** Nucleophosmin 1  
**HAM** Chemotherapiezyklusschema: Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone  
**TP** Transplantation

**Abbildung 12** Rezidivfreies Überleben für das Kollektiv in Spätkonsolidierung, aufgeschlüsselt nach den definierten Markergruppen CEBPA (*CEBPA*+), FLT3-ITD (*CEBPA*- *FLT3-ITD*+), NPM1 (*CEBPA*- *FLT3-ITD*- *NPM1*+) und Unmutierte (*CEBPA*- *FLT3-ITD*- *NPM1*-). Intention-to-Analyse für die Therapieoptionen HAM, verwandt-allogene und autologe Transplantation (Logrank-p für CEBPA p=0,55; FLT3-ITD p=0,05; unmutiert p=0,36; NPM1 p=0,64). Kaplan-Meier-Schätzer mit Number at risk in Jahresabständen, farbcodiert.

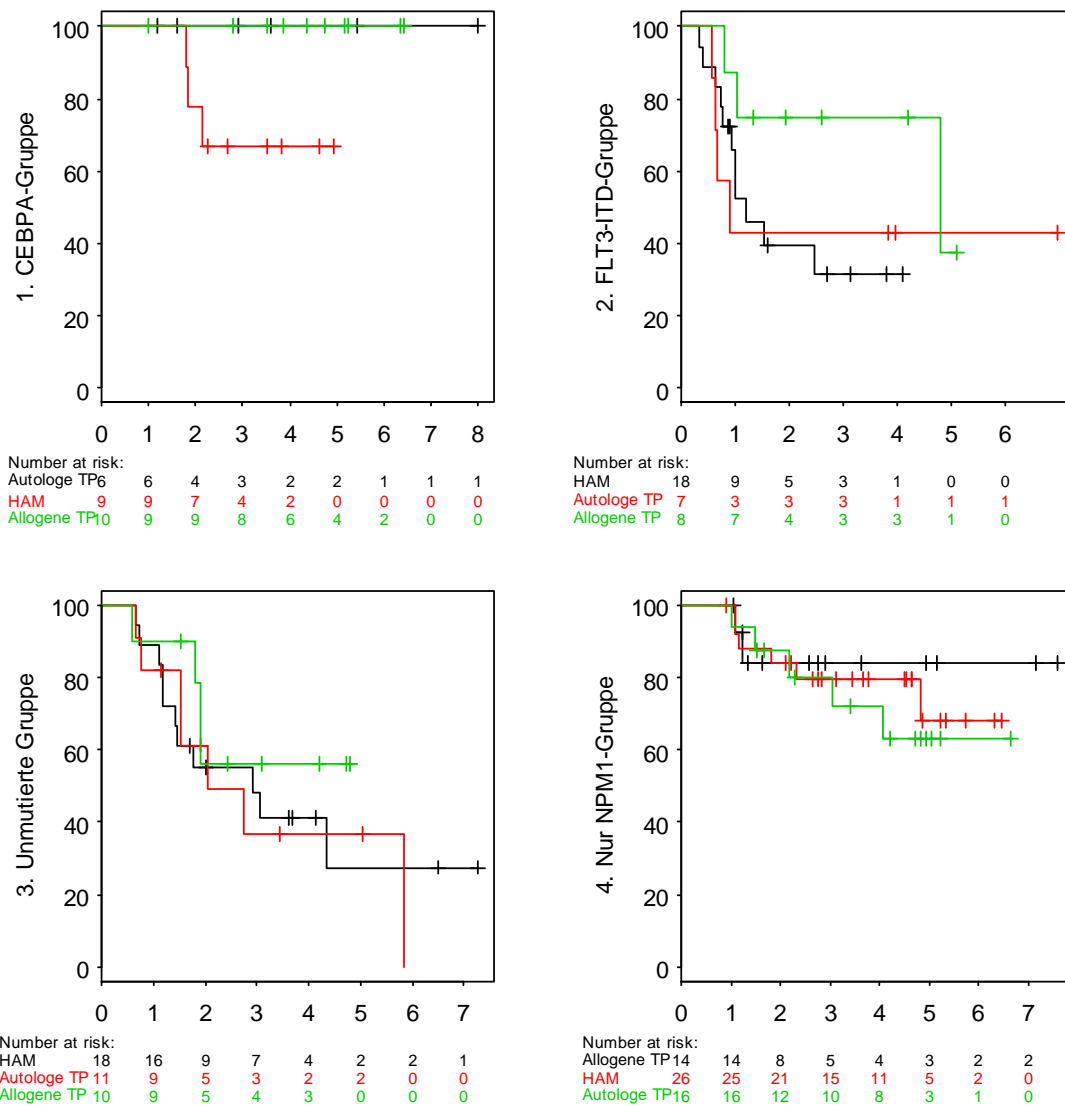
Für die CEBPA-Gruppe ergab sich in der As-Treated-Analyse ein signifikanter Unterschied zwischen den Therapieoptionen: Die autologe Transplantation war im Hinblick auf Gesamtüberleben allen anderen Therapieoptionen überlegen (jeweils  $p=0,02$ ). Des Weiteren ist zu bemerken, dass in der CEBPA-Gruppe keiner der Patienten, die eine autologe Transplantation erhielten, rezidierte. Nach intention-to-Kriterien war kein Unterschied zwischen den Therapieoptionen zu bemerken.

Dieser Effekt war in der anderen Gruppe mit günstiger Prognose, der NPM1-Gruppe, nicht bemerkbar. Hier war in keiner der beiden Auswertungen ein signifikanter Unterschied zu erkennen.

In der *FLT3*-ITD-Gruppe konnte in der Intention-to-Analyse ein signifikanter Unterschied zwischen den Therapiemodalitäten nachgewiesen werden: Die autologe Transplantation war signifikant schlechter als die allogene Transplantation und HAM.

In der unmutierten Gruppe konnte dagegen in der As-Treated-Auswertung ein signifikanter Unterschied festgestellt werden: Die allogene Transplantation war signifikant besser als autologe Transplantation und HAM. Bei grenzwertigem p-Wert und kleinen Kollektiven kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, ob diese Signifikanzen durch einen Fehler 1. Art verursacht wurden.

In den Abbildungen 13 und 14 ist das rezidivfreie Überleben je nach geplanter bzw. durchgeführter Postremissionstherapie dargestellt, aufgeschlüsselt nach den durch die einzelnen Markergruppen definierten Kollektiven.

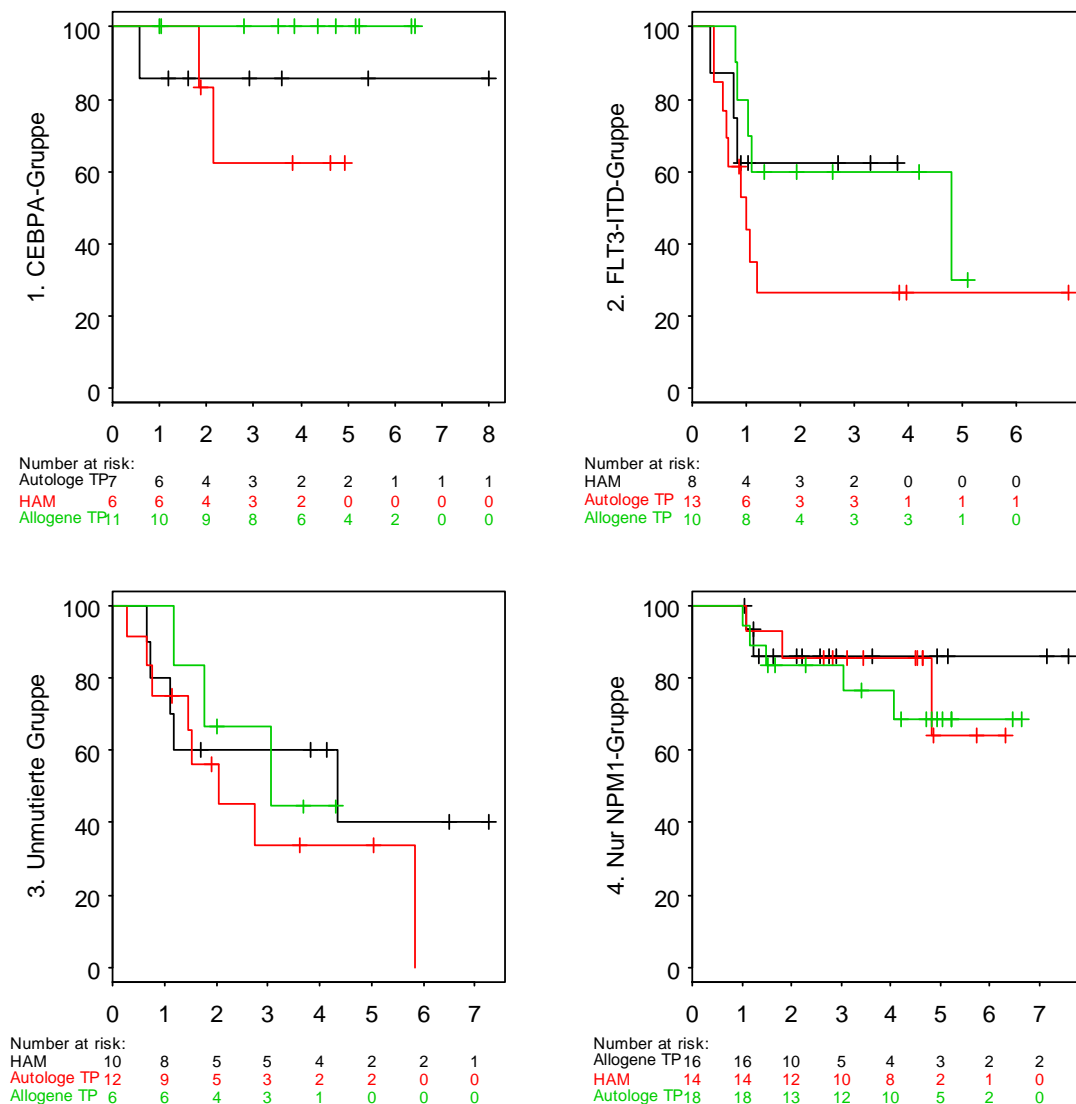


**CEBPA** CCAAT-Enhancer binding protein alpha  
**FLT3-ITD** interne Tandemduplikation der FLT-like tyrosin kinase 3  
**MLL** Mixed lineage leukemia gene  
**NPM1** Nucleophosmin 1  
**HAM** Chemotherapiezyklusschema: Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone  
**TP** Transplantation

**Abbildung 13 Gesamtüberleben für das Kollektiv in Spätkonsolidierung, aufgeschlüsselt nach den definierten Markergruppen CEBPA (CEBPA+), FLT3-ITD (CEBPA- FLT3-ITD+), NPM1 (CEBPA- FLT3-ITD- NPM1+) und Unmutierte (CEBPA- FLT3-ITD- NPM1-). As-Treated-Analyse für die Therapieoptionen HAM, verwandt-allogene und autologe Transplantation (Logrank-p für CEBPA p=0,08; FLT3-ITD p=0,32; unmutiert p=0,61; NPM1 p=0,76). Kaplan-Meier-Schätzer mit Number at risk in Jahresabständen, farbcodiert.**

In keiner der Markergruppen unterschieden sich die drei Therapiemodalitäten signifikant voneinander. Lediglich in der CEBPA-Gruppe war eine Tendenz zu Gunsten der beiden Transplantationen zu erkennen, die beim rezidivfreien Überleben bereits festzustellen

war. Bei einem Subkollektiv mit n=25 Patienten ist hier jedoch auch ein Fehler 2. Art möglich.



**CEBPA** CCAAT-Enhancer binding protein alpha  
**FLT3-ITD** interne Tandemduplikation der FLT-like tyrosin kinase 3  
**MLL** Mixed lineage leukemia gene  
**NPM1** Nucleophosmin 1  
**HAM** Chemotherapiezyklusschema: Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone  
**TP** Transplantation

**Abbildung 14** Gesamtüberleben für das Kollektiv in Spätkonsolidierung, aufgeschlüsselt nach den definierten Markergruppen CEBPA (*CEBPA*+), FLT3-ITD (*CEBPA*- *FLT3-ITD*+), NPM1 (*CEBPA*- *FLT3-ITD*- *NPM1*+) und Unmutierte (*CEBPA*- *FLT3-ITD*- *NPM1*-). Intention-to-Analyse für die Therapieoptionen HAM, verwandt-allogene und autologe Transplantation (Logrank-p für CEBPA p=0,19; FLT3-ITD p=0,31; unmutiert p=0,63; NPM1 p=0,78). Kaplan-Meier-Schätzer mit Number at risk in Jahresabständen, farbcodiert.

### 3.7.2 Univariate Prädiktoren

Sämtliche betrachteten Variablen wurden mittels G-rho-Tests, im Allgemeinen Logrank-Tests, auf Unterschiede im Gesamt- und rezidivfreien Überleben verglichen.

Alle signifikanten positiven Korrelationen sind in Tabelle 22 und 23 aufgeführt. Bei dichotomen Merkmalen ist das prognostisch positive, bei Merkmalen mit mehreren Ausprägungen die Reihenfolge bezüglich positiver Prognose aufgeführt. Dargestellt sind die Signifikanzen im Logrank-Test für das Kollektiv, welches die Konsolidierung erreichte. Die Quartile (1,2,3,4.Q) beziehen sich sämtlich auf dieses Kollektiv.

**Tabelle 22 Positive univariate Prädiktoren für das rezidivfreie Überleben im Konsolidierungs-Kollektiv im Logrank-Test**

Merkmalsname	p-Wert
<b>CEBPA mutiert</b>	0,02
<b>FLT3-ITD nicht vorhanden</b>	<0,0001
<b>NPM1 mutiert</b>	0,007
<b>MLL unmutiert</b>	0,05
<b>Alter&lt;3.Q</b>	0,02
<b>LDH&lt;425=2.Q</b>	0,02

*CEBPA* CCAAT-Enhancer binding protein alpha

*MLL* Mixed lineage leukemia gene

*LDH* Leukozytendehydrogenase

*FLT3* FLT-like tyrosin kinase 3

*NPM1* Nucleophosmin 1

Q Quartil

**Tabelle 23 Positive univariate Prädiktoren für das Gesamtüberleben im Konsolidierungs-Kollektiv im Logrank-Test**

Merkmalsname	p-Wert
<b>CEBPA mutiert</b>	0,003
<b>FLT3-ITD nicht vorhanden</b>	<0,0001
<b>NPM1 mutiert</b>	0,04
<b>Alter&lt;3.Q</b>	0,004
<b>LDH&lt;425=2.Q</b>	0,03

*CEBPA* CCAAT-Enhancer binding protein alpha

*NPM1* Nucleophosmin 1

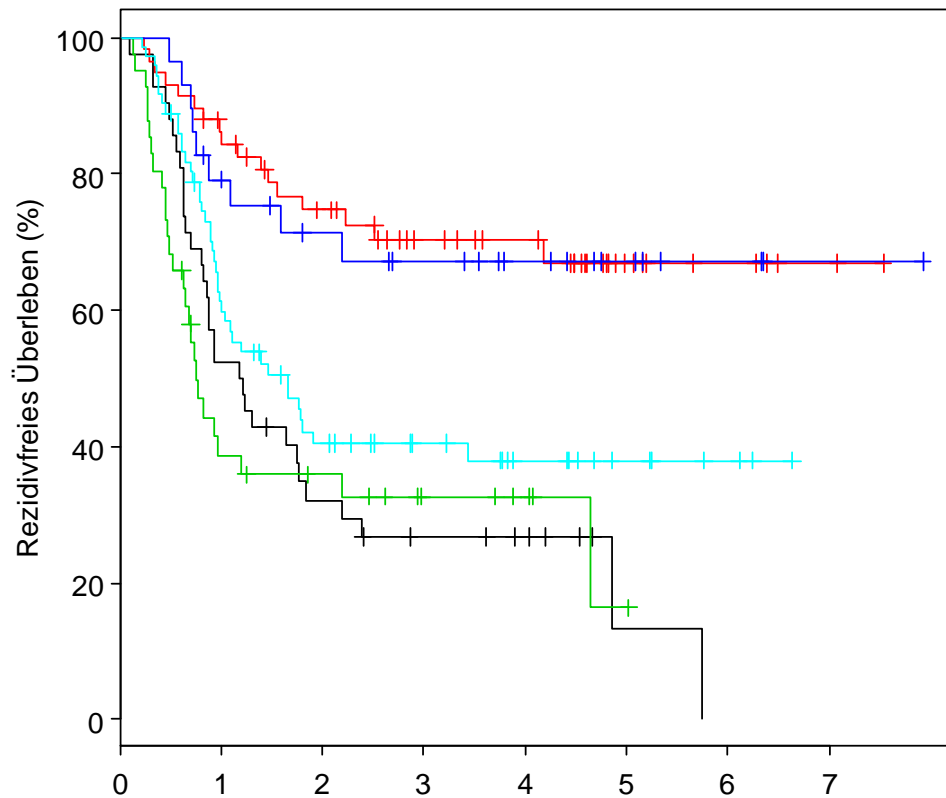
*LDH* Leukozytendehydrogenase

*FLT3* FLT-like tyrosin kinase 3

Q Quartil

Das Alter wurde quartilsweise geteilt, da in einigen Publikationen nur im obersten Quartil über signifikant schlechtere Prognose berichtet wird. Zwischen den jüngsten drei Quartilen bestand hinsichtlich des Gesamtüberlebens kein signifikanter Unterschied.

Das Vorliegen einer *FLT3*-D835 besaß keinen nachweisbaren Einfluss auf das Gesamtüberleben oder auf das rezidivfreie Überleben, während das Vorliegen eines mutierten *MLL* mit einem besseren rezidivfreie Überleben assoziiert war. Das Vorliegen einer RAEB-t besaß keinen signifikanten Einfluss auf das Überleben.



Number at risk:	Zeit (Jahre)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
unmutiert	42	22	12	8	6	1	0	0
Nur NPM1	58	48	36	26	22	9	5	2
FLT3-ITD	41	14	11	6	4	1	0	0
CEBPA	29	22	17	14	10	6	3	1
unbekannt	72	41	24	17	11	6	3	0

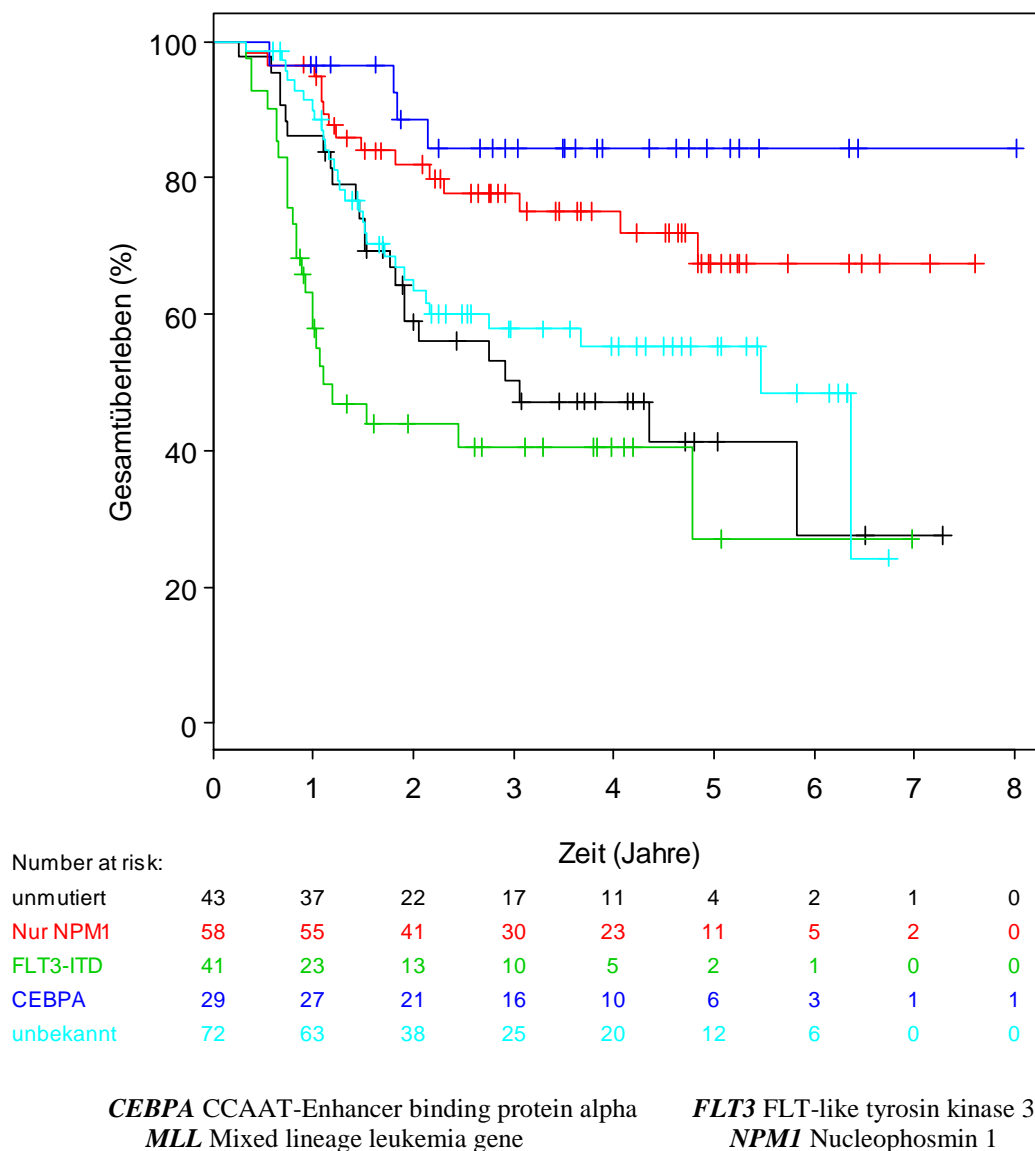
*CEBPA* CCAAT-Enhancer binding protein alpha  
*MLL* Mixed lineage leukemia gene

*FLT3* FLT-like tyrosin kinase 3  
*NPM1* Nucleophosmin 1

**Abbildung 15** Rezidivfreies Überleben für das Kollektiv in Konsolidierung, stratifiziert nach den genetischen Gruppen *CEBPA* (*CEBPA*+), *FLT3*-ITD (*CEBPA*- *FLT3*-ITD+), *NPM1* (*CEBPA*- *FLT3*-ITD- *NPM1*+), sowie nach unbekannter Gruppenzugehörigkeit (Logrank- $p < 0,0001$ ). Kaplan-Meier-Schätzer mit Number at risk in Jahresabständen, farbcodiert.

Die Einflüsse der einzelnen Mutationen und ihre bekannten Interaktionen legen nahe, nach den oben definierten Markergruppen zu stratifizieren. In Abbildung 15 und 16 sind

die Kaplan-Meier-Schätzer für das Gesamtüberleben und das rezidivfreie Überleben im Konsolidierungs-Kollektiv stratifiziert nach den oben definierten Markergruppen dargestellt.



**Abbildung 16 Gesamtüberleben für das Kollektiv in Konsolidierung, stratifiziert nach den genetischen Gruppen CEBPA (*CEBPA*+), FLT3-ITD (*CEBPA*- *FLT3*-ITD+), NPM1 (*CEBPA*- *FLT3*-ITD- *NPM1*+), sowie nach unbekannter Gruppenzugehörigkeit (Logrank- $p < 0,0001$ ). Kaplan-Meier-Schätzer mit Number at risk in Jahresabständen, farbcodiert.**

Das Kollektiv zerfällt in Gruppen mit guter und mit schlechter Prognose. Individuen in den CEBPA- und NPM1-Gruppen hatten im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen

eine signifikant besseres rezidivfreies Überleben und ein signifikant besseres Gesamtüberleben.

Stellt man das Kollektiv mit unbekannter Gruppe sämtlichen anderen gegenüber, kann man sehen, dass bei insignifikantem  $p=0,68$  der durch das nachträgliche Typisieren entstandene Selection Bias auf diese Analyse nur geringe Auswirkungen besitzt.



### 3.7.3 Multivariate Modelle

Für das Gesamtüberleben und das rezidivfreie Überleben des in Konsolidierung befindlichen Kollektivs wurden Proportional-Hazards-Modelle erstellt. Zuvor wurden mittels additiver Regression Imputationen (Predictive mean matching) für die nicht vorhandenen Daten erstellt.

Für die Modellierung der molekularen Marker wurden zunächst die ungeclusterten Variablen verwendet. Nach Rückwärtsselektion ergaben sich die dargestellten Modelle für das rezidivfreie Überleben in Tabelle 24 und das Gesamtüberleben in Tabelle 25. Merkmale mit mehreren Ausprägungen entsprechen hierbei Hazardvariablen mit ebenso vielen Ausprägungen.

**Tabelle 24 Proportional-Hazards-Modell nach Cox für das rezidivfreie Überleben im Konsolidierungs-Kollektiv, Verwendung der ursprünglichen Markervariablen**

<b>Einflussgröße</b>	<b>Koeffizient</b>	<b>Standardfehler</b>	<b>p-Wert</b>	<b>Hazard Ratio</b>
<b>Intention-to-treat:</b>				
<b>HAM</b>	0,57	0,29	0,05	1,77
<b>Autologe Transplantation</b>	0,66	0,31	0,03	1,94
<b>Allogene Transplantation</b>	0	0	0	1
<b>Leukozyten</b>	0,006	0,003	0,05	1,006
<b>CEBPA unmutiert</b>	1,11	0,423	0,009	3,04
<b>FLT3-ITD negativ</b>	-0,82	0,25	0,0008	0,44
<b>NPM1 unmutiert</b>	1,02	0,24	<0,0001	2,77

*CEBPA* CCAAT-Enhancer binding protein alpha      *NPM1* Nucleophosmin 1  
*FLT3-ITD* interne Tandemduplikation der FLT-like tyrosin kinase 3  
 HAM Chemotherapiezyklusschema: Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone

**Tabelle 25 Proportional-Hazards-Modell nach Cox für das Gesamtüberleben im Konsolidierungs-Kollektiv, Verwendung der ursprünglichen Markervariablen**

<b>Einflussgröße</b>	<b>Koeffizient</b>	<b>Standardfehler</b>	<b>p-Wert</b>	<b>Hazard Ratio</b>
<b>Alter</b>	0,035	0,012	0,02	1,032
<b>Leukozyten</b>	0,010	0,003	0,002	1,003
<b>CEBPA unmutiert</b>	1,33	0,63	0,03	1,88
<b>FLT3-ITD negativ</b>	-0,85	0,32	0,008	1,38
<b>NPM1 unmutiert</b>	0,76	0,28	0,007	1,32

*CEBPA* CCAAT-Enhancer binding protein alpha      *NPM1* Nucleophosmin 1  
*FLT3-ITD* interne Tandemduplikation der FLT-like tyrosin kinase 3

Da die tatsächlich erhaltene Therapie im Voraus unbekannt war, wurde die Postremissionstherapie jeweils nur im intention-to-Sinne in das Hazard-Modell einbezogen. Für das Gesamtüberleben war die geplante Therapie nach Rückwärtsselektion nicht signifikant.

Für dieses Modell wurden jedoch hochsignifikante Interaktionen zwischen den einzelnen molekularen Markern ( $p < 0,001$ ) festgestellt. Zur Vermeidung dieser Interaktionen wurden die miteinander interagierenden Merkmale daher nominal geclustert und in einem zweiten Modell betrachtet (Tabelle 26 und 27). Dazu wurde die bereits vorgestellte Einteilung in die Markergruppen verwendet, die ihre Wertigkeit bereits in den univariaten Analysen gezeigt hat.

**Tabelle 26 Proportional-Hazards-Modell nach Cox für das rezidivfreie Überleben im Konsolidierungs Kollektiv, Verwendung der geclusterten Markergruppen CEBPA (*CEBPA+*), FLT3-ITD (*CEBPA-FLT3-ITD+*), NPM1 (*CEBPA-FLT3-ITD-NPM1+*) und Unmutierte (*CEBPA-FLT3-ITD-NPM1-*)**

<b>Einflussgröße</b>	<b>Koeffizient</b>	<b>Standardfehler</b>	<b>p-Wert</b>	<b>Hazard Ratio</b>
<b>Intention-to-treat:</b>				
<b>HAM</b>	0,56	0,27	0,04	1,76
<b>Autologe Transplantation</b>	0,69	0,30	0,02	1,99
<b>Allogene Transplantation</b>	0	0	0	1
<b>Markergruppe:</b>				
<b><i>CEBPA</i></b>	0	0	0	1
<b><i>FLT3-ITD</i></b>	1,63	0,51	0,001	5,10
<b>Unmutiert</b>	1,69	0,49	<0,001	5,44
<b><i>NPM1</i></b>	0,003	0,53	0,99	1,003
<b>Alter</b>	0,023	0,012	0,05	1,02
<b>Leukozyten</b>	0,006	0,003	0,04	1,006

*CEBPA* CCAAT-Enhancer binding protein alpha      *NPM1* Nucleophosmin 1  
*FLT3-ITD* interne Tandemduplikation der FLT-like tyrosin kinase 3

**Tabelle 27 Proportional-Hazards-Modell nach Cox für das Gesamtüberleben im Konsolidierungs-Kollektiv, Verwendung der geclusterten Markergruppen CEBPA (*CEBPA*+), FLT3-ITD (*CEBPA*-*FLT3-ITD*+), NPM1 (*CEBPA*-*FLT3-ITD*-*NPM1*+) und Unmutierte (*CEBPA*-*FLT3-ITD*-*NPM1*-)**

<b>Einflussgröße</b>	<b>Koeffizient</b>	<b>Standardfehler</b>	<b>p-Wert</b>	<b>Hazard Ratio</b>
<b>Markergruppe:</b>				
<i>CEBPA</i>	0	0	0	1
<i>FLT3-ITD</i>	1,95	0,63	0,002	7,02
<b>Unmutiert</b>	1,74	0,62	0,005	5,72
<i>NPM1</i>	0,44	0,65	0,49	1,56
<b>Alter</b>	0,040	0,014	0,004	1,040
<b>Leukozyten</b>	0,009	0,003	0,004	1,001

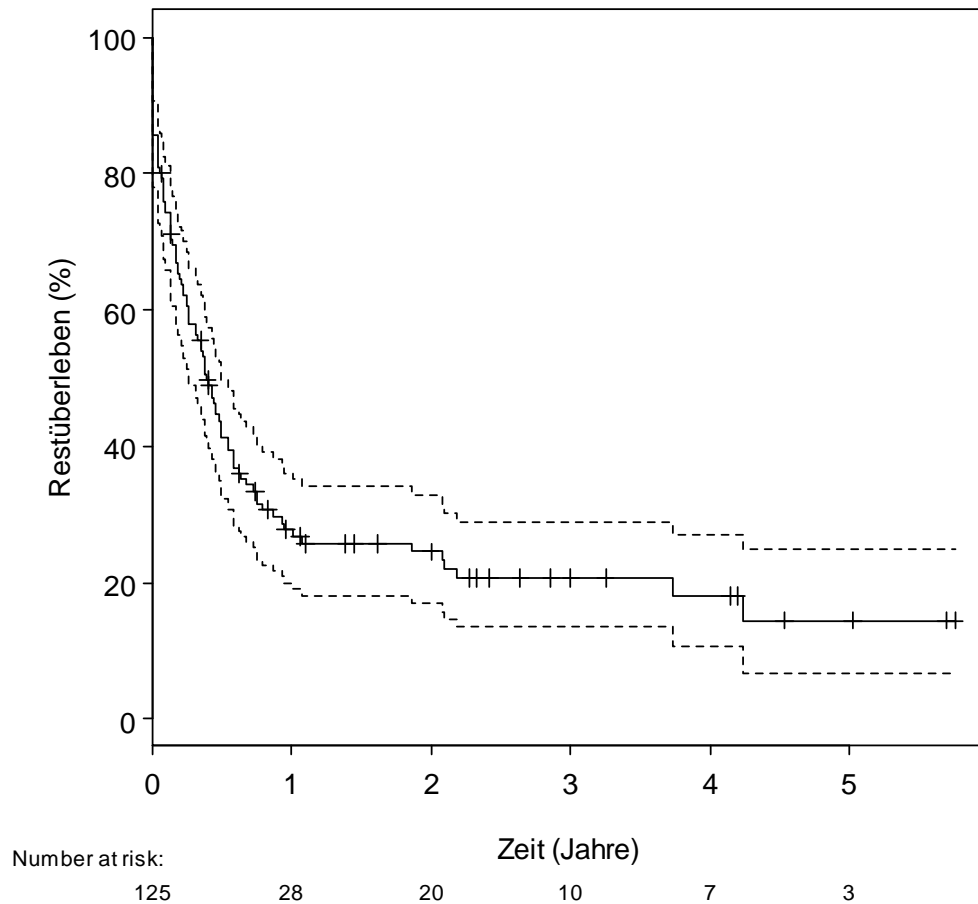
*CEBPA* CCAAT-Enhancer binding protein alpha      *NPM1* Nucleophosmin 1  
*FLT3-ITD* interne Tandemduplikation der FLT-like tyrosin kinase 3

Patienten, die für eine allogene Transplantation randomisiert waren, besaßen demnach ein signifikant niedrigeres Rezidivrisiko als Patienten, die eine andere Therapie erhalten sollten. Im Konsolidierungskollektiv war das Gesamtüberleben nicht signifikant mit der geplanten Therapie assoziiert. Mit einem niedrigeren Ereignisrisiko korrelierte auch ein niedriges Alter und eine niedrige Leukozytenzahl.

Von den Genotypen waren vor allem *CEBPA*+ und *CEBPA*-*FLT3-ITD*-*NPM1*+ mit einer signifikant günstigeren Prognose assoziiert; diese beiden Genotypen besaßen ein ca. 6- bis 7-mal niedrigeres Rezidiv- und Todesrisiko als die anderen Genotypen.

### 3.8 Prognosekriterien im Rezidiv

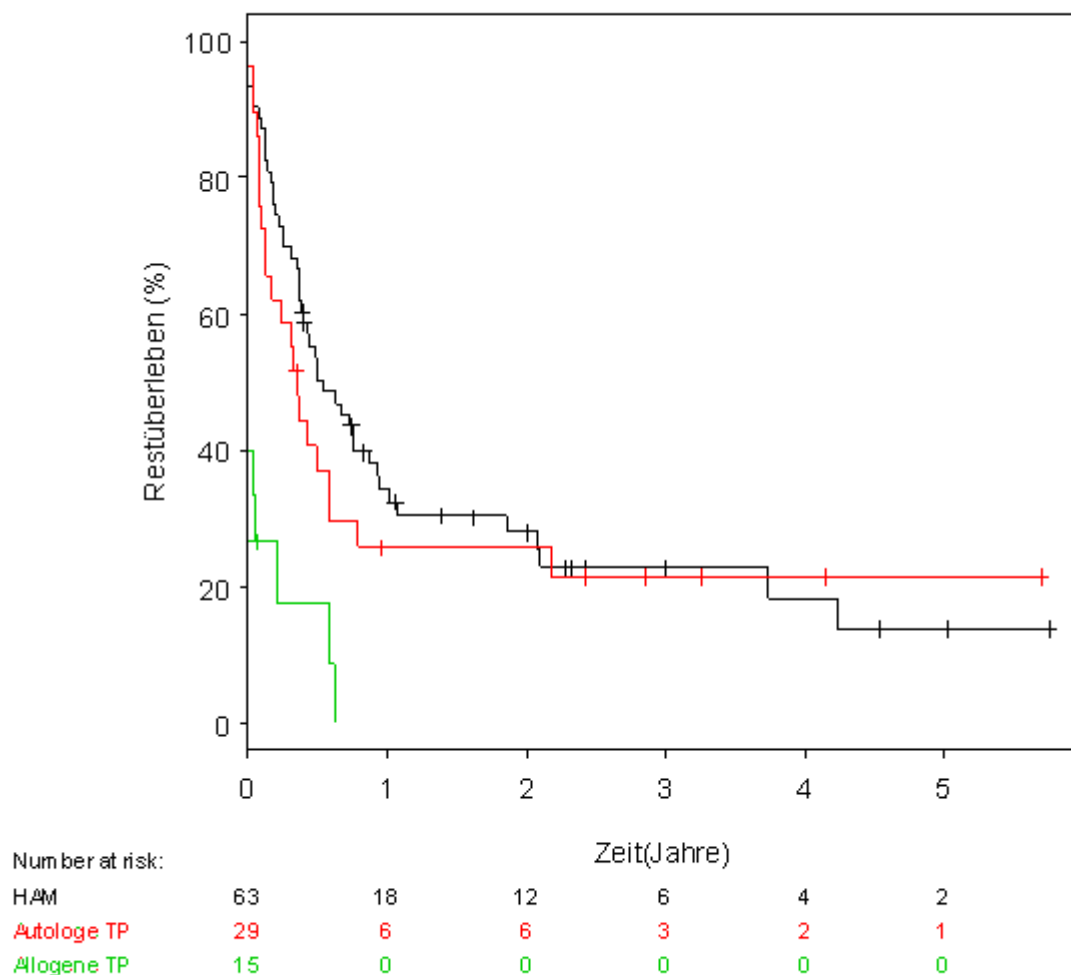
In diesem Kapitel wird das Kollektiv betrachtet, welches nach Konsolidierung ein Rezidiv erlitt. Von den 250 Patienten, die die Konsolidierung erreichten, erlitten 126 ein Rezidiv in der Nachbeobachtungszeit. Das verbleibende Überleben nach diesem Rezidiv ist in Abbildung 17 aufgetragen.



**Abbildung 17** Verbleibendes Überleben nach dem Rezidiv für das Kollektiv, welches nach Erreichen der Konsolidierungsphase rezidierte. Kaplan-Meier-Schätzer mit Number at risk in Jahresabständen, farbcodiert.

Das 4-Jahres-Restüberleben betrug 14,7%, das mediane Restüberleben 0,38 Jahre.

Abbildung 18 zeigt das verbleibende Überleben nach dem ersten Rezidiv, aufgeschlüsselt nach der Therapie, die die Patienten zuvor erhalten hatten.



HAM Chemotherapiezyklusschema: Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone TP Transplantation

**Abbildung 18** Verbleibendes Überleben nach dem Rezidiv für das Kollektiv, welches nach Erreichen der Konsolidierungsphase rezidierte, stratifiziert nach erhaltener Postremissionstherapie/Treated-as (Logrank-p<0,0001). Kaplan-Meier-Schätzer mit Number at risk in Jahresabständen, farbcodiert.

Keiner der Patienten, die eine allogene Transplantation erhielten, überlebte nach erlittenem Rezidiv das erste Jahr. Die allogene Transplantation war mit einem signifikant schlechteren Überleben nach dem ersten Rezidiv assoziiert als die autologe Transplantation und HAM. Die autologe Transplantation unterschied sich in dieser Hinsicht von HAM nicht signifikant. Dies bedeutet bei ähnlichem Gesamtüberleben, dass

Patienten nach allogener Transplantation länger ohne Ereignis blieben als nach anderen Therapien, aber schneller verstarben.

Die univariaten Prädiktoren für das Kollektiv, welches nach Erreichen der Konsolidierungsphase rezidierte, sind in Tabelle 28 aufgeführt.

**Tabelle 28 Positive univariate Prädiktoren für das verbleibende Überleben im Kollektiv, welches nach Erreichen der Konsolidierungsphase rezidierte, im Logrank-Test**

Merkmals	p-Wert
<i>NPM1</i> unmutiert	0,04
Peripherer Blastenteil<33%=2.Q	0,03
Blastenteil im Knochenmark<70,5%=2.Q	0,01

*NPM1* Nucleophosmin 1 Q Quartil

### 3.9 Prognosekriterien für das Gesamtkollektiv

Da in einigen Studien das Gesamtkollektiv als Ausgangsbasis für die Analysen gewählt wird, wurden die univariaten Analysen ergänzend auch für das ganze Studienkollektiv durchgeführt, um eine bessere Vergleichbarkeit zu gewährleisten.

In Tabelle 29 und Tabelle 30 sind die positiven Prädiktoren für rezidivfreies und Gesamtüberleben im Logrank-Einzeltest aufgelistet.

**Tabelle 29 Positive univariate Prädiktoren für das rezidivfreie Überleben im Studienkollektiv, Logrank-Einzeltests**

Merkmals	p-Wert
<i>CEBPA</i> mutiert	0,001
<i>FLT3</i> -ITD nicht vorhanden	<0,0001
<i>NPM1</i> mutiert	<0,0001
<i>MLL</i> unmutiert	0,03
Genotypen <i>CEBPA</i> + oder <i>NPM1</i> + <i>FLT3</i> -	<0,0001
Alter<3.Q	<0,0001
LDH<440=2.Q	0,02

*CEBPA* CCAAT-Enhancer binding protein alpha

*MLL* Mixed lineage leukemia gene

ITD interne Tandemduplikation Q Quartil

*FLT3* FLT-like tyrosin kinase 3

*NPM1* Nucleophosmin 1

LDH Leukozytendehydrogenase

**Tabelle 30 Positive univariate Prädiktoren für das Gesamtüberleben im Studienkollektiv, Logrank-Einzeltests**

<b>Merkmal</b>	<b>p-Wert</b>
<b><i>CEBPA</i> mutiert</b>	0,002
<b><i>FLT3</i>-ITD nicht vorhanden</b>	<0,0001
<b>Genotypen <i>CEBPA</i>+ oder <i>NPM1</i>+<i>FLT3</i>-</b>	<0,0001
<b>Alter&lt;3.Q</b>	<0,0001
<b>Peripherer Blastenanteil&lt;36=2.Q</b>	0,003
<b>LDH&lt;440=2.Q</b>	0,03

***CEBPA*** CCAAT-Enhancer binding protein alpha

***MLL*** Mixed lineage leukemia gene

**ITD** interne Tandemduplikation      **Q** Quartil

***FLT3*** FLT-like tyrosin kinase 3

***NPM1*** Nucleophosmin 1

**LDH** Leukozytendehydrogenase

Im Vergleich zur Auswertung über dem kleineren Kollektiv in Konsolidierung sind die p-Werte aufgrund des größeren Kollektivs kleiner. Zusätzlich besteht eine signifikant positive Korrelation von einem niedrigen peripheren Blastenanteil zu einem besseren Gesamtüberleben.

Da jedoch das Studienprotokoll vielschichtig war und die Zuordnung dieser Befunde zu einzelnen Teilkollektiven nicht eindeutig möglich ist, werden diese Werte nur deskriptiv verwendet.

## 4 Diskussion

### 4.1 *Ergebnisse*

#### 4.1.1 Vergleich mit aktuellen randomisierten Studien

Tabelle 31 Vergleich der Ergebnisse der AML-HD98-A-Studie mit denen der wichtigsten aktuellen randomisierten Studien zum Vergleich verschiedener Postremissionstherapien bei der akuten myeloischen Leukämie; Zahlen ohne Klammern beziehen sich auf die Gesamtheit aller drei Risikogruppen, Zahlen in Klammern nur auf das Normalrisikokollektiv.

Studie	Zeitraum	Anzahl Patienten	Resmissionsrate auf CR	4-Jahres-Überleben	4-Jahres-Rezidivfreiheit
AMLSG Ulm AML HD93 (Schlenk et al. 2003)	1993- 1998	n=221	80%	(51%)	(40%)
AMLSG Ulm AML HD98-A (vorliegende Arbeit)	1998- 2004	n=1163 (n=384)	(73%)	(59%)	(48%)
CALGB/ECOG/SWOG Intergroup (Cassileth et al. 1998)	1990- 1995	n=740	70% (74%)	48%	38%
CALGB 8461 (Farag et al. 2005)	1984- 1999	n=490	(82%)	5 Jahre: (34%)	5 Jahre: (35%)
EORTC-GIMEMA AML-8 (Zittoun et al. 1995)	1986- 1991	n=941	66%	54%	45%
EORTC-GIMEMA AML-10 (Suciu et al. 2003)	1993- 1999	n=2038	71%	54%	49% (48%)
GOELAM (Harousseau et al. 1997)	1993- 1999	n=517	71% (76,5%)	52% (48%)	42% (35%)
MRC AML-10 (Burnett et al. 1998)	1988- 1996	n=1966	83%		

AML akute myeloische Leukämie

AML HD93 Name einer AML-Studie

AML HD98-A Name einer AML-Studie

AMLSG Ulm AML-Studiengruppe Ulm

CALGB Cancer and Leukemia Group B

ECOG Eastern Cooperative Oncology Group

EORTC European Organisation for Research and Treatment of Cancer

GIMEMA Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto

GOELAM Groupe Ouest-Est Leucémies Aigues Myeloblastiques

MRC AML-10 Name einer AML-Studie

SWOG Southwest Oncology Group



Als erstes wird die AML HD98-A-Studie im Bezug auf die Endpunkte mit der Vorgängerstudie, der AML HD93-Studie der AMLSG Ulm (Schlenk et al. 2003), und den wichtigsten randomisierten Studien zur Evaluation der Postremissionstherapie verglichen. Ein tabellarischer Überblick findet sich in Tabelle 31 und Tabelle 32.

**Tabelle 32 Vergleich der Einschlusskriterien der AML HD98-A-Studie mit denen der wichtigsten aktuellen randomisierten Studien zum Vergleich verschiedener Postremissionstherapien bei der akuten myeloischen Leukämie**

<b>Einschlusskriterien</b> <b>Studie</b>	<b>Alter in Jahren</b>	<b>erlaubte Ätiologie</b>	<b>Blasten im Knochenmark</b>	<b>Besonderheiten</b>
<b>AMLSG Ulm AML HD93</b>	16-60	Primär, Sekundär	>30%	
<b>AMLSG Ulm AML HD98-A</b>	16-60	Primär, Sekundär	>20% (RAEB-t)	APL-Arm
<b>CALGB/ECOG/SWOG Intergroup</b>	16-55	Primär, Sekundär	>30%	
<b>CALGB 8461</b>	16-59	Primär, Sekundär	>30%	Nur normaler Karyotyp
<b>EORTC-GIMEMA AML-8</b>	10-45 46-59	Primär, Sekundär	Nicht gemessen; Diag. nach FAB	Im Alter von 46-59 nur ausgewählte Pat.
<b>EORTC-GIMEMA AML-10</b>	<60	Primär	>30%	
<b>GOELAM</b>	15-50	Primär	>30%	
<b>MRC AML-10</b>	<56	Primär, Sekundär	>30%	

**AML** akute myeloische Leukämie

**AML HD93** Name einer AML-Studie

**AML HD98-A** Name einer AML-Studie

**AMLSG Ulm** AML-Studiengruppe Ulm

**CALGB** Cancer and Leukemia Group B

**ECOG** Eastern Cooperative Oncology Group

**EORTC** European Organisation for Research and Treatment of Cancer

**GIMEMA** Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto

**GOELAM** Groupe Ouest-Est Leucémies Aigues Myeloblastiques

**MRC AML-10** Name einer AML-Studie

**SWOG** Southwest Oncology Group

**Diag.** Diagnose **RAEB-t** refractory anemia with excess of blasts in transformation

**Pat.** Patienten **FAB** (Kriterien zur Diagnose einer AML der) French-American-British Group

Zur besseren Vergleichbarkeit der Angaben in Tabelle 31 sind in Tabelle 32 die Einschlusskriterien aufgeführt, die das Kollektiv definieren, welches der jeweiligen Studie

zugrundelag. Patienten mit schweren Vor- und Nebenerkrankungen wurden in keine der Studien aufgenommen. Die Studien unterscheiden sich im Wesentlichen nur im Alter des Patientenkollektivs sowie in der Aufnahme von Patienten mit einem Knochenmarksblastenanteil zwischen 20%-30% (nach der früheren WHO-Klassifikation RAEB-T) oder Patienten mit sekundär- und tertiär-AML (beides wird in Tabelle 31 unter sekundär subsumiert). In der AML HD98-A-Studie gab es im Gegensatz zu den anderen aufgeführten Studien einen gesonderter Behandlungsarm für die APL.

Im Induktionskollektiv der HD98-A-Studie sprachen 76,6% der Patienten mit normalem Karyotyp auf die Doppelinduktion an. Im Vergleich zu den 80% der HD93-Studie ist dieser Unterschied (im Fisher-Test) nicht signifikant. Für das in Konsolidierung befindliche Kollektiv betrug das 5-Jahresüberleben 53,8%, die 5-Jahres-Rezidivfreiheit 43,1%. Gegenüber den 51% bzw. 40% der HD93-Studie ist auch das kein signifikanter Unterschied.

Das 4-Jahres-Gesamtüberleben aller eingeschlossenen Patienten der HD98-A-Studie mit normalem Karyotyp betrug 43%, die 4-Jahres-Rezidivfreiheit 38%. Verglichen mit den 49% bzw. 40% der HD93-Studie ist dieser Unterschied ebenfalls nicht signifikant. Im Gesamtvergleich zu den anderen Studien ist ebenfalls kein signifikanter Unterschied feststellbar.

Eine vollständige Vergleichbarkeit zwischen den Studien ist aber nicht gegeben:

Erstens wurde in der vorliegenden Auswertung der HD98-A-Studie im Gegensatz zu den meisten anderen Studien nur das Kollektiv mit normalem Karyotyp untersucht, das heißt, Patienten mit einer APL wurden nicht in die Statistik aufgenommen. Da APL-Patienten bei entsprechender Therapie eine überdurchschnittlich gute Prognose haben, sinkt dadurch rein statistisch die Prognose der übrigen Patienten im Vergleich zu den Studien, in denen nicht geclustert wurde.

Ebenso wurden im Gegensatz zu den anderen Studien Patienten mit 20-30%-igem Blastenanteil in die HD98-A-Studie aufgenommen. Die vorliegenden Analysen zeigen jedoch, dass dieses Subkollektiv bezüglich keiner Zielgröße statistisch signifikante Abweichungen aufweist.

Schließlich ist die Altersverteilung der anderen Studien teilweise wesentlich verschieden von der der HD98-A-Studie. Insbesondere bei der GOELAM-Studie (Harousseau et al. 1997) und der EORTC AML-8-Studie (Zittoun et al. 1995) ist das Patientenkollektiv

wesentlich jünger. Dies verfälscht den Vergleich der Ergebnisse, da jüngere Patienten eine bessere Prognose besitzen.

Darüber hinaus unterscheiden sich die in den einzelnen Publikationen vorgestellten Ergebnisse hinsichtlich ihres Evidenzgrades. Da eine Diskussion aufgrund ihres Umfangs den Rahmen der vorliegenden Arbeit sprengen würde und nicht zu ihren Zielen gehört, soll darauf verzichtet werden. Insgesamt kann jedoch gesagt werden, dass es auf Grundlage einer Metaanalyse der aufgeführten Studien keine Hinweise gibt, dass eine oder mehrere der Protokolle den anderen hinsichtlich der Endpunkte signifikant überlegen wären.

Eine detaillierte Diskussion der Ergebnisse im Hinblick auf die Postremissionstherapie findet sich in Abschnitt 4.1.5.

#### **4.1.2 Prognosekriterien**

Im Folgenden wird der Einfluss der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Merkmale auf die prognostischen Endpunkte untersucht. Die über die HD98-A-Studie gemachten Aussagen beziehen sich sämtlich auf das Kollektiv mit normalem Karyotyp. Falls Merkmale mit stetiger Ausprägung als dichotomes Merkmal verwendet werden, bedeutet das eine Clusterung der Patienten in zwei Gruppen nach der Höhe des Parameters, getrennt am Median.

##### **4.1.2.1 „Klassische“ Prädiktoren**

Es ist bekannt, dass die Ausprägung der Parameter bei Diagnose eine prognostische Abschätzung des Krankheitsverlaufes erlauben (Lowenberg et al. 1999; Lowenberg 2001). Die in dieser Arbeit vorliegenden Merkmale wurden in univariaten Analysen auf ihre prognostische Signifikanz überprüft, die Ergebnisse wurden dann im Literaturkontext gewertet.

Ein höheres Alter ist beispielsweise mit signifikant schlechterem Ansprechen auf Doppelinduktion sowie höherem Todes- und Rezidivrisiko assoziiert (Büchner 1999; Wetzler et al. 2005).

Das konnte in dieser Arbeit bestätigt werden: Bei der Trennung am Median war der Unterschied zwar nicht signifikant ( $p=0,09$ ). Jedoch hatten Patienten über dem dritten Quartil, also 55 Jahren ein signifikant erhöhtes Todesrisiko ( $p<0,0001$ ) und Rezidiv ( $p<0,0001$ ), während die anderen drei Quartile sich bezüglich der Prognose voneinander nicht signifikant unterschieden. Diese Beobachtungen trafen auch für das Patientenkollektiv in Konsolidierung (RFÜ  $p=0,004$ ; GÜ  $p=0,02$ ) zu. Ebenso war das Alter

als Kofaktor in jedem der multivariaten Modelle vertreten, was diese Beobachtungen ebenfalls stützt.

(Cassileth et al. 1998) beschrieben eine negative Korrelation von Hepato- oder Splenomegalie und vorhandener extramedullären Manifestationen bei Diagnosebeginn auf das Ansprechen in der Doppelinduktion und das Gesamtüberleben insgesamt. In dieser Arbeit jedoch konnte kein prognostischer Effekt des Vorliegens einer Hepato- oder Splenomegalie oder extramedullärer Manifestationen bei Diagnosebeginn festgestellt werden.

Oftmals beschrieben wurde auch ein negativer Einfluss hoher Leukozyten- und Blastenzahlen auf das Ansprechen auf die Induktionsphase und globales Mortalitäts- und Rezidivrisiko. Für das Ansprechen auf Doppelinduktion konnte kein Zusammenhang nachgewiesen werden. Hohe Leukozytenzahlen waren zwar nur im refraktären Subkollektiv direkt mit einem schlechteren Überleben assoziiert ( $p=0,02$ ). In den multivariaten Modellen für Gesamt- und rezidivfreies Überleben war die Leukozytenzahl neben dem Alter und dem Genotyp jedoch der einzige prognostische Faktor und negativ mit der Prognose assoziiert.

Der periphere Blastenanteil war im Studienkollektiv mit einem schlechteren Gesamtüberleben assoziiert ( $p=0,003$ ), ebenso im Subkollektiv der refraktären Patienten ( $p<0,0001$ ). Nach dem Rezidiv waren hohe Blastenzahlen im peripheren Blut ( $p=0,03$ ) und im Knochenmark ( $p=0,01$ ) mit einem niedrigeren Lebensdauer korreliert.

Schließlich wurde auch berichtet, dass eine erhöhte Aktivität der Laktatdehydrogenase bei Diagnosebeginn ebenfalls einen schlechten prognostischen Effekt besitzt, sowohl auf das Ansprechen in der Induktionsphase als auch auf das Gesamtüberleben und das rezidivfreie Überleben. Das konnte im Studienkollektiv (RFÜ 0,02; GÜ 0,02) und im Konsolidierungs-Kollektiv (RFÜ 0,02; GÜ 0,03) bestätigt werden. Ein Einfluss auf das Ansprechen in der Doppelinduktion war jedoch nicht festzustellen.

(Wheatley et al. 1999) berichteten außerdem, dass neben dem Karyotyp auch das Ansprechen nach dem ersten Induktionszyklus ein positiver prognostischer Faktor sei ( $p=0,0001$ ). Im vorliegenden Patientenkollektiv konnte kein signifikanter prognostischer Unterschied festgestellt werden. Betrachtet man statt der Variable „Ansprechen/Nichtansprechen“ das Teilkollektiv, dass nach dem 2. Zyklus eine RD aufwies, ist der Unterschied zwar hochsignifikant ( $p<0,0001$ ); jedoch besteht eine starke Interaktion mit den anderen Faktoren, die ein schlechtes Ansprechen auf Doppelinduktion bedingen, da das Ansprechen auf den ersten Zyklus bei Mitbetrachtung anderer Größen

offensichtlich keine unabhängige Einflussgröße ist. Daher wurde diese Variable auch nicht in die multivariaten Modelle aufgenommen.

#### **4.1.2.2 Molekulare Marker**

Dieser Abschnitt fasst speziell die Ergebnisse in Hinblick auf die molekularen Marker *CEBPA*, *FLT3-ITD*, *FLT3-D835*, *MLL* und *NPM1* zusammen. Absolute und relative Mengenangaben beziehen sich immer auf diejenigen Patienten, bei denen die Ausprägung des jeweiligen Merkmals bekannt war.

##### **Mutationen des *CEBPA***

In 41 von 294 Fällen (14%) wurde eine Mutation des *CEBPA*-Gens festgestellt. Das entspricht den 15% (36/236) von (Fröhling et al. 2004) beziehungsweise den 11% (15/135) von (Preudhomme et al. 2002) im Rahmen der Signifikanz. Zu beachten ist, dass bei Preudhomme auch Niedrig- und Hochrisikopatienten in die Auswertung miteinbezogen waren. Außerdem ist zu beachten, dass die Analysen von Fröhling auf einem größtenteils identischem Patientenkollektiv wie dem der vorliegenden Arbeit beruhen.

Für das mutierte *CEBPA* wurde eine negative Assoziation zum Vorliegen einer *FLT3-ITD* festgestellt (OR=0,33; p=0,01). Das ist im Einklang mit den Beobachtungen von Fröhling. Ferner hatten Patienten mit *CEBPA*-Mutationen eine signifikant niedrigere Thrombozytenzahl (OR 0,37; p=0,01) und weniger extramedulläre Manifestationen bei Diagnosebeginn (OR 0,23; p<0,0001), auch das entspricht den Beobachtungen von Fröhling et al. Ein erniedrigter Hb-Wert oder eine positive Assoziation mit peripheren Blasten wie bei Fröhling konnte in den vorliegenden Analysen jedoch nicht festgestellt werden. Dagegen wurde eine negative Assoziation mit *NPM1*-Mutationen (OR 0,25; p=0,0003) sowie mit myelomonozytären FAB-Typen (OR 0,38; p<0,0001) nachgewiesen. In Übereinstimmung mit Fröhling und Preudhomme findet sich kein Einfluss des Vorliegens einer *CEBPA*-Mutation auf die Remission in der Induktionsphase. Dagegen konnte im Kollektiv in Konsolidierung ein signifikant positiver Einfluss auf das Gesamtüberleben (p=0,003) sowie das rezidivfreie Überleben (p=0,02) festgestellt werden. Für das Gesamtkollektiv gilt das ebenfalls (GÜ p=0,002; RFÜ p=0,02); dies deckt sich mit den Beobachtungen von Fröhling und Preudhomme. Ferner wurde berichtet, dass mutiertes *CEBPA* ein signifikant höheres Ansprechen auf

Transplantationen bedingt. Tatsächlich waren von den *CEBPA*-positiven Patienten, die eine Transplantation erhalten hatten (n=16), zum Zeitpunkt der Auswertung alle noch am Leben.

Da nur 5 Patienten *CEBPA*-mutiert und *FLT3*-ITD-positiv waren und davon nur 3 auf Doppelinduktion ansprachen, konnte nicht statistisch überprüft werden, ob diese Untergruppe ein signifikant schlechteres Gesamt- oder rezidivfreies Überleben besitzt, wie Preudhomme beobachtet hat, oder ein zur *CEBPA*-positiven Population äquivalentes, wie Fröhling berichtet.

### **Mutationen des *FLT3***

In 32% der Fälle (99/313) wurde bei den Patienten eine *FLT3*-ITD festgestellt, in 9,4% (28/299) die *FLT3*-D835. Das ist signifikant mehr als die 22,9% *FLT3*- Mutationen (46/201) bei (Kiyoi et al. 1999) und 20,4% bei (Thiede et al. 2002), entspricht aber den 27% an *FLT3*-ITD bei (Kottaridis et al. 2001) und 28% (23/82) bei (Whitman et al. 2001) sowie den 32% bei (Fröhling, Schlenk et al. 2002). (Rombouts et al. 2000) und (Abu-Duhier et al. 2000) konnten eine *FLT3*-ITD nur in 18% bzw. 13,2% (14/106) der Fälle feststellen. Diese Effekte können zum einen dadurch erklärt werden, dass sich die Zahlen nur bei Whitman und bei Fröhling auf das Kollektiv mit normalem Karyotyp beziehen; zum anderen ist bei Rombouts und Abu-Duhier die relativ kleine Größe des Kollektivs festzustellen, außerdem wurden hier im Gegensatz zu den anderen Studien auch Patienten über 60 Jahre miteinbezogen. *FLT3*-D835 fanden sich in 14% der Fälle bei Fröhling und 7,7% bei Whitman, was den Ergebnissen der HD98-A-Studie entspricht.

Eine positive Assoziation der *FLT3*-ITD mit dem männlichen Geschlecht (OR 0,57; p=0,02), Leukozytose (OR 4,27; p<0,0001) sowie erhöhten Blasten im peripheren Blut (OR 2,24; p=0,002) und Knochenmark (OR 2,83; p=0,0001) konnte nachgewiesen werden. Das entspricht bis auf die Assoziation mit dem männlichen Geschlecht weitgehend den Ergebnissen von Kottaridis (Leukos p<0,0001; periphere Blasten p<0,0001; Knochenmarksblasten p<0,0001), Thiede, Whitman (Leukos p=0,01; periphere Blasten p=0,05; Knochenmarksblasten p=0,28) und Fröhling (Leukos p=0,0002; periphere Blasten p=0,001; Knochenmarksblasten p=0,0002). Zudem wurde eine positive Assoziation zur sekundären AML (OR 2,58; p=0,01) und zu einer erhöhten LDH (OR 5,6; p<0,0001) festgestellt. Das ist ebenfalls in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Fröhling (S-AML p=0,002; LDH p=0,0005).

Für die *FLT3*-D835 wurde in den vorliegenden Analysen ebenfalls eine positive Assoziation zur Leukozytenzahl (OR 2,44; p=0,05) und zur peripheren Blastenzahl (OR

3,01;  $p=0,02$ ) festgestellt. Ein Zusammenhang mit bestimmten FAB-Typen, wie Kottaridis, Abu-Duhier oder Kiyoi ihn beschreiben, konnte auch bei dichotomen Einzelanalysen nicht hergestellt werden, sodass man zur Annahme gelangen kann, dass dieser in den Niedrig- oder Hochrisikogruppen bzw. bei verändertem Karyotyp stärker ausgeprägt ist.

Die *FLT3*-ITD war mit einem schlechteren Ansprechen auf Doppelinduktion assoziiert (OR 0,45;  $p=0,003$ ). Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Kottaridis ( $p=0,05$ ) und Rombouts ( $p=0,03$ ). Bei Fröhling, Whitman und Thiele konnten kein Einfluss festgestellt werden.

Das Vorliegen einer *FLT3*-ITD war ein negativer prognostischer Faktor für das Gesamtüberleben ( $p<0,0001$ ) und das rezidivfreie Überleben ( $p<0,0001$ ) in der nicht refraktären Gruppe, sowie für das Gesamtüberleben in der refraktären Gruppe ( $p=0,04$ ). Im Gesamtkollektiv ist das Vorliegen einer *FLT3*-ITD ebenfalls ein negativer prognostischer Faktor (GÜ  $p<0,0001$ ; RFÜ  $p<0,0001$ ). Für den normalen Karyotyp deckt sich dies mit den Beobachtungen von Thiede, Whitman (GÜ  $p=0,001$ , RFÜ  $p=0,002$ ), Rombouts (RFÜ  $p=0,003$ ), Abu-Duhier (GÜ  $p=0,0002$ ) und Fröhling (GÜ  $p=0,001$ , RFÜ  $p<0,0001$ ).

Das Auftreten von *FLT3*-D835 korreliert mit keiner dieser Zielgrößen, worin wieder Übereinstimmung mit Whitman und Fröhling gegeben ist.

### **Mutationen des *MLL***

Eine *MLL*-PTD wurde in 9% (26/276) der untersuchten Fälle festgestellt. Das entspricht im Rahmen der Signifikanz den beschriebenen 7,7% (19/247) von (Döhner et al. 2002) und den 11% (11/98) von (Caligiuri et al. 1998). Es wurde außer einer positiven Assoziation mit erniedrigten Leukozytenwerten (OR 0,42;  $p=0,04$ ) keine Korrelation mit klinischen oder globalen Patientencharakteristika festgestellt. Das entspricht ebenfalls der Beobachtung von Döhner. Darüberhinaus liegt eine negative Assoziation mit *NPM1*-Mutationen vor (OR 0,07;  $p<0,0001$ ).

Wie bei Döhner und Caligiuri konnte kein Zusammenhang mit dem Ansprechen auf Doppelinduktion festgestellt werden. Dagegen wurde in den vorliegenden Analysen das Vorliegen einer *MLL*-Mutation ein negativer Faktor für das rezidivfreie Überleben des nicht refraktären Kollektivs ( $p=0,05$ ) und des Gesamtkollektivs ( $p=0,05$ ). Das entspricht den Beobachtungen von Caligiuri ( $p=0,01$ ) und Döhner ( $p=0,02$ ) für das Gesamtkollektiv. Obwohl mutiertes *MLL* signifikant mit schlechterem Überleben assoziiert war, war es in keinem der multivariaten Modelle als Prädiktor enthalten. Dies lässt sich damit erklären,

dass nahezu sämtliche *MLL*-positiven Patienten (22/24) gleichzeitig einer der beiden prognostisch schlechtesten Markergruppen, der *FLT3*-ITD- oder der unmutierten Gruppe, angehörten. Mit anderen Worten, der negative prognostische Effekt kann auch allein durch die Assoziation zu den beiden Gruppen erklärt werden.

### **Mutationen des *NPM1***

In 50,0% der Fälle (150/300) konnte eine *NPM1*-Mutation nachgewiesen werden. Das entspricht den 52,9% (212/401) von (Schnittger et al. 2005), den 48% von Döhner et al (144/300) und den 45,7% bei (Thiede et al. 2002) im Rahmen der Signifikanz.

Mutiertes *NPM1* war in den vorliegenden Analysen positiv mit myelomonozytären FAB-Typen (OR 2,54;  $p=0,0003$ ), weiblichem Geschlecht (OR 1,72;  $p=0,03$ ) und extramedullären Manifestationen bei Diagnose (OR 3,18;  $p<0,0001$ ) assoziiert. Weitere positive Korrelationen waren zu hohen Leukozytenzahlen (OR 3,49;  $p<0,0001$ ) und Knochenmarksblasten (OR 1,99;  $p=0,005$ ) sowie zu hohem LDH bei Diagnosebeginn (OR 3,40;  $p<0,0001$ ) festzustellen.

Eine positive Assoziation zu *FLT3*-ITD (OR 2,91;  $p<0,0001$ ) konnte ebenfalls festgestellt werden, das entspricht auch den Ergebnissen von Thiede ( $p=0,001$ ) und Döhner. Ferner wurde eine negative Assoziation zu *CEBPA*-Mutationen (OR 0,25;  $p=0,0003$ ) und *MLL*-PTD (OR 0,07;  $p<0,0001$ ) beobachtet.

In den vorliegenden Analysen war ein positiver Einfluss auf das Ansprechen in der Induktionsphase festzustellen (OR=2,18;  $p=0,02$ ), was den Beobachtungen von Döhner entspricht. Thiede und Schnittger hatten keinen Einfluss festgestellt. Im nicht refraktären Kollektiv hatten Patienten mit *NPM1*-Mutation in signifikant längeres Gesamtüberleben ( $p=0,04$ ) und eine signifikant höhere Rezidivfreiheit ( $p=0,007$ ). Im refraktären Kollektiv war mutiertes *NPM1* mit einer kürzeren Gesamtüberleben assoziiert (GÜ  $p=0,02$ ). Dieser Effekt wird vermutlich durch einen Selection Bias hervorgerufen, da die Zugehörigkeit zu diesem Kollektiv negativ mit *NPM1*-Mutationen assoziiert ist und die verbliebenen Patienten zusätzlich auch meist eine *FLT3*-ITD aufwiesen. Im Gesamtkollektiv waren *NPM1*-Mutationen als Folge davon nur mit einem verbesserten rezidivfreien Überleben assoziiert ( $p<0,0001$ ). Letzteres deckt sich auch mit den Beobachtungen von Schnittger (GÜ  $p=0,07$ ; RFÜ  $p=0,01$ ), während Döhner und Thiede auch beim Gesamtüberleben einen positiven Einfluss feststellen konnten.

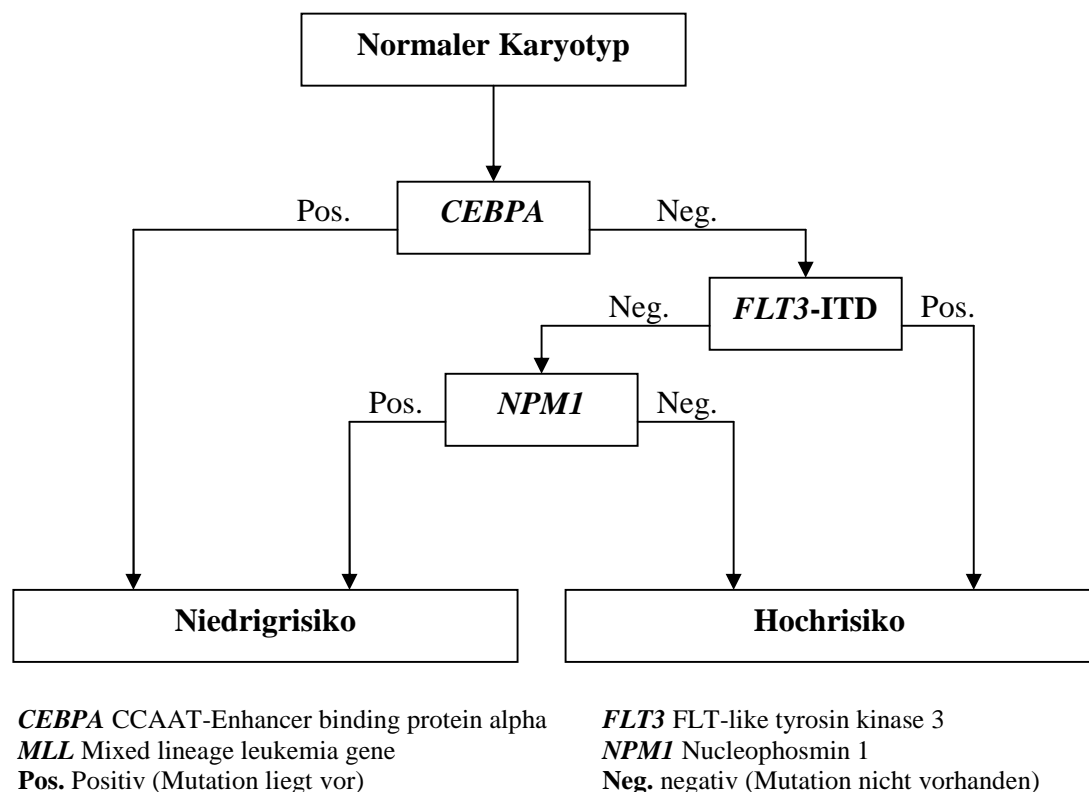
Die prognostische Relevanz steigt jedoch stark, falls man noch sekundär über die *FLT3*-ITDs stratifiziert. Wie in Übereinstimmung mit Schnittger, Döhner und Thiede beobachtet werden konnte, besitzen Patienten mit Genotyp *NPM1*+*FLT3*-ITD+ oder *NPM1*-*FLT3*-



ITD+ eine signifikant schlechtere Prognose als alle Übrigen, während *NPM1*+*FLT3*-ITD- eine ähnlich gute Prognose wie *CEBPA*-positive Patienten besitzen.

#### 4.1.2.3 Einteilung in genetisch determinierte Gruppen

Wie in (Schnittger et al. 2005) und (Döhner et al. 2005) vorgeschlagen, wurde zunächst zweidimensional nach den beiden Merkmalen *FLT3*-ITD und *NPM1* stratifiziert. Es stellte sich in Übereinstimmung zu Schnittger und Döhner heraus, dass bei *FLT3*-ITD-positiven Patienten die Prognose in keinem der Subkollektive vom *NPM1*-Status abhängig war. *FLT3*-ITD-negative besaßen beim Vorliegen einer *NPM1*-Mutation ein signifikant gutes Überleben, unabhängig von *CEBPA*-Status. Patienten, die keine dieser drei Mutationen aufwiesen, hatten eine vergleichbar schlechte Prognose wie *FLT3*-ITD- positive *CEBPA*-negative. Außerdem war bei *CEBPA*-positiven Patienten unabhängig vom Vorliegen anderer Mutationen die Prognose gut. Aus diesen Beobachtungen lässt sich, wie in Kapitel 3.3 gezeigt, ein Entscheidungsdiagramm für die Risikostratifikation gewinnen (Abbildung 19).



**Abbildung 19** Entscheidungsdiagramm zur Einteilung der Patienten mit normalem Karyotyp in zwei Risikogruppen mit niedrigem und hohem Risiko an Hand von Mutationen von *CEBPA*, *FLT3* und *NPM1*.

In den Analysen konnte verifiziert werden, dass diese Gruppierung eine scharfe Einteilung in Patienten mit hohem und niederem Risiko erlaubt. Bereits in der Induktionsphase erlaubt die Zweiteilung nach *CEBPA*- und *NPM1*-Gruppe auf der einen Seite bzw. *FLT3*-ITD- und unmutierten Gruppe auf der anderen Seite eine signifikante Trennung ( $p < 0,006$ ) nach gutem und schlechtem Ansprechen. Belegt wird das auch dadurch, dass die Gruppeneinteilung das dominierende Merkmal im multivariaten Modell ist.

Auch im nicht refraktären Kollektiv ist diese Differenzierung sowohl für das Gesamtüberleben ( $p < 0,0001$ ) als auch das rezidivfreie Überleben ( $p < 0,0001$ ) hochsignifikant. Ebenso gilt dies für das refraktäre Kollektiv (jeweils  $p = 0,02$ ) und im Gesamtkollektiv (GÜ  $p < 0,0001$ ; RFÜ  $p < 0,0001$ ). Im rezidierten Kollektiv ist die Markergruppe jedoch kein signifikanter Prädiktor.

Insgesamt bietet die vorgeschlagene Einteilung mehrere Vorteile:

Zum Ersten werden die Interaktionen zwischen den Markern eliminiert, da die Kombinationsmöglichkeiten nominalisiert wurden. Somit erhöht sich die Stabilität multivariater Modelle, die die Einteilung benutzen. Zweitens ist die Trennschärfe wesentlich höher als bei Betrachtung der einzelnen Marker allein. Und drittens erlaubt die Einteilung eine einfache Doppelstratifizierung in den Analysen, je nach Anforderung einzeln oder in Clustern. Beispielsweise ist das für die Untersuchung der optimalen Postremissionstherapie nützlich.

#### **4.1.2.4 Multivariate Modelle**

Aus den erarbeiteten multivariaten Modellen lässt sich je nach Position des Patienten im Behandlungsflussdiagramm eine Risikoabschätzung vornehmen. Für alle größeren Kollektive wurden multivariate Modelle einmal mit separater Betrachtung der molekularen Marker und einmal unter Verwendung der erarbeiteten Einteilung in Gruppen verwendet. In fast jedem Modell spielt der Genotyp definiert durch die vorgeschlagene Einteilung eine hochsignifikante Rolle. Selbst bei Hinzunahme einzelner anderer Marker zu dem Modell mit den Markergruppen verbleiben die zusätzlichen Parameter nach Rückwärtsselektion nicht im Modell. Diese Beobachtungen bestätigen die Beobachtungen aus den univariaten Analysen.

Bei den weiteren Parametern zeigt sich, dass in der Induktionstherapie Hepato- oder Splenomegalie einen multivariaten prognostischen Faktor darstellt, in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von (Burnett et al. 1998), während in der Konsolidierung vor

allein die Blutbildparameter signifikant mit der Prognose assoziiert sind. Das ist in weitgehender Übereinstimmung mit den Modellen in (Burnett et al. 2002; Fröhling, Schlenk et al. 2002; Suciú et al. 2003). Eine weitere wichtige Variable, die in einigen Modellen enthalten ist, ist das Alter der Patienten. Das ist ebenfalls in Konkordanz mit den meisten Modellen in der Literatur. In der Intention-to-Treat-Analyse hat die Wahl der Postremissionstherapie dagegen nur auf das rezidivfreie Überleben einen Einfluss.

### **4.1.3 Postremissionstherapie**

#### **4.1.3.1 Machbarkeit**

Eine der Fragestellungen der AML HD98-A-Studie war die nach der Machbarkeit der verschiedenen Postremissionstherapien. Um das zu quantifizieren, wurde für jede der drei Therapiemodalitäten HAM, allogene und autologe Transplantation betrachtet, wie viele der Patienten, die die Konsolidierung erreicht hatten, die ihnen zugedachte Therapie auch tatsächlich erhielten. Der relative Anteil der Patienten, die tatsächlich die randomisierte Therapie erhielten (d.h. Intention-to = As-Treated), betrug (siehe auch Tabelle 8) für die verwandt-allogene Transplantation 78,7%, für die autologe Transplantation 72,1% und für die Chemotherapie nach HAM 94,9%. Für die Transplantationen und die Chemotherapie ist das ein akzeptabler Anteil.

Außerdem ist zu bemerken, dass die meisten Patienten, die einer zu Transplantation randomisiert waren und diese nicht erhielten, später stattdessen mit HAM behandelt wurden. Da davon auszugehen ist, dass Patienten, die die geplante Transplantation nicht erhielten, eine schlechtere Prognose haben, folgt daraus, dass in der As-Treated-Auswertung der prognostische Wert der Chemotherapie ins Negative verzerrt wird. Analog kann man sehen, dass dadurch in der As-Treated-Auswertung der prognostische Wert der beiden Transplantationen in die positive Richtung abweicht. Diese Effekte müssen bei der kritischen Auswertung der Ergebnisse in beiden Auswertungsmodalitäten berücksichtigt werden.

#### **4.1.3.2 Prognostische Relevanz**

Im Folgenden soll der prognostische Einfluss der Postremissionstherapie diskutiert werden. Für nicht refraktäre Patienten werden die nach dem Protokoll vorgesehenen Möglichkeiten diskutiert: Die Chemotherapie nach dem HAM-Schema, allogene und autologe Blutstammzelltransplantation. Da eine Randomisation erfolgte, muss hier mit

Intention-to-treat argumentiert werden. Zusätzlich werden auch die Optionen für refraktäre und rezidierte Patienten diskutiert. Da das Protokoll hier keine Standardtherapie vorsah, erfolgte die Stratifikation nach erhaltener Therapie.

Eine zentrale Fragestellung der vorliegenden Arbeit war, die Wertigkeit der drei genannten Postremissionstherapieoptionen im auf Induktion nicht refraktären Kollektiv zu prüfen. Für das Gesamtüberleben war in diesem Kollektiv weder in der Intention-to-treat-Analyse noch in der As-Treated-Analyse ein signifikanter Unterschied zwischen den Optionen festzustellen. Auch im Paarvergleich zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.

Beim rezidivfreien Überleben konnten signifikante Unterschiede nachgewiesen werden: In der Intention-to-treat-Analyse ( $p=0,02$ ) sowie in der As-Treated-Analyse ( $p=0,0004$ ) konnte ein Unterschied zwischen den Therapieoptionen nachgewiesen werden. Die Paarvergleiche zwischen den Therapieoptionen waren in der Intention-To-Analyse nicht signifikant. Im As-Treated-Sinne war die allogene Transplantation einer Chemotherapie ( $p=0,0001$ ) und einer autologen Transplantation ( $p=0,0004$ ) überlegen. HAM und autologe Transplantation unterschieden sich nicht signifikant.

Der Unterschied zwischen gesamtem und rezidivfreien Überleben lässt sich auch daran verdeutlichen, dass nach einer allogenen Transplantation so gut wie kein Überleben nach dem Rezidiv vorliegt: Verwandt-allogen transplantierte Patienten hatten in den vorliegenden Analysen ein signifikant höheres Mortalitätsrisiko als Patienten, die eine autologe Transplantation oder eine Chemotherapie erhalten hatten ( $p<0,0001$ ).

Die für das Kollektiv mit normalem Karyotyp erhaltenen Ergebnisse stimmen weitgehend mit den Resultaten aus den großen randomisierten Studien überein, die Chemotherapie mit autologer und/oder allogener Transplantation verglichen. In Tabelle 33 sind die beobachteten 4-Jahres-Überlebensraten in den einzelnen Behandlungsarmen sowie die Gesamtsignifikanz der Logrank-Unterschiede zwischen den Kaplan-Meier-Schätzern der jeweiligen Studien aufgelistet (die AML HD93 ist nicht aufgelistet, da hier kein Vergleich von Therapiemodalitäten erfolgte). In Klammern stehen die Zahlen für den normalen Karyotyp beziehungsweise für das Normalrisikokollektiv (je nach Studiendesign). In die Tabelle wurden wie für die anderen Studien die Signifikanzen der As-Treated-Analyse aufgenommen.

In der EORTC-GIMEMA AML-10-Studie war kein Arm für alleinige Chemotherapie vorgesehen, in der CALGB 8461 kein Arm für allogene Transplantation. Die Patienten mit normalem Karyotyp machten dabei jeweils ca. 30-40% der Kollektive aus.

Einige Tatsachen erschweren die direkte Vergleichbarkeit der Studienergebnisse:  
Erstens wurden in den anderen Studien im Gegensatz zur HD98-A-Studie Knochenmarkstransplantationen und keine Blutstammzelltransplantationen durchgeführt. Außerdem wurde eine Doppelstratifikation nach der Risikogruppe und der Postremissionstherapie nur von (Harousseau et al. 1997) durchgeführt. In der HD98-A-Studie wurden außerdem nur nicht refraktäre Patienten zwischen den Postremissionstherapieoptionen randomisiert. In den meisten anderen Studien war dagegen kein spezieller Arm für Refraktäre vorgesehen. Ein wesentlicher Faktor sind dagegen die unterschiedlichen Altersspektren in den verschiedenen Studien (siehe auch Tabelle 31).

**Tabelle 33 Vergleich der Ergebnisse der AML HD98-A-Studie mit denen der wichtigsten aktuellen randomisierten Studien zum Vergleich verschiedener Postremissionstherapien bei der akuten myeloischen Leukämie; Zahlen ohne Klammern beziehen sich auf die Gesamtheit aller drei Risikogruppen, Zahlen in Klammern nur auf das Normalrisikokollektiv.**

<b>Studie</b>	<b>Signifikanzen (GÜ/RFÜ)</b>	<b>4-JÜ/RFÜ Allogene TP</b>	<b>4-JÜ/RFÜ Autologe TP</b>	<b>4-JÜ/RFÜ Chemotherapie</b>
<b>AMLSG Ulm AML HD98-A</b>	(p=0,10/p=0,0004)	(74%/74%)	(56%/40%)	(55%/40%)
<b>CALGB/ECOG/ SWOG Intergroup</b> (Cassileth et al. 1998)	p=0,04/p=0,77	46%/43%	43%/35%	52%/35%
<b>CALGB 8461</b> (Farag et al. 2005)	(p=0,57/p=0,02)	-/-	5 Jahre: (44%/47%)	5 Jahre: (33%/45%)
<b>EORTC-GIMEMA AML-8</b> (Zittoun et al. 1995)	p=0,45/p=0,05	59%/55%	56%/48%	46%/30%
<b>EORTC-GIMEMA AML-10</b> (Suciu et al. 2003)	p=0,0001/p=0,04	58%/52 %	51%/42%	-/-
<b>GOELAM</b> (Harousseau et al. 1997)	Allo vs. Auto/Ch. p=0,74/p=0,62 (p=0,08/p=0,86) Auto vs. Chemo p=0,62/p=0,74 (p=0,67/p=0,08)	55%/50% (41%/38%)	53%/44% (43%/39%)	53%/38% (55%/31%)
<b>MRC AML-10</b> (Burnett et al. 1998; Burnett et al. 2002)	P=0,1/p=0,01 (p=0,02/p=0,04)	55%/50% (55%/50%)	50%/42% (44%/39%)	

**AML** akute myeloische Leukämie

**AML HD93** Name einer AML-Studie

**AML HD98-A** Name einer AML-Studie

**AMLSG Ulm** AML-Studiengruppe Ulm

**CALGB** Cancer and Leukemia Group B

**ECOG** Eastern Cooperative Oncology Group

**EORTC** European Organisation for Research and Treatment of Cancer

**GIMEMA** Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto

**GOELAM** Groupe Ouest-Est Leucémies Aigues Myeloblastiques

**MRC AML-10** Name einer AML-Studie

**SWOG** Southwest Oncology Group

**Auto** Autologe Transplantation

**Allo** Allogene Transplantation

**Ch./Chemo** Chemotherapie

**TP** Transplantation

**4-RFÜ** 4-Jahres-Rezidivfreiheit

**JÜ** 4-Jahresüberleben

In der GOELAM- und der EORTC AML-10 Studie waren die Patienten wesentlich jünger. Wie die Ergebnisse aus den vorliegenden Analysen und früheren Übersichtsstudien zeigen, besitzen gerade Patienten zwischen 50 und 60 eine signifikant schlechtere Prognose. Die Ergebnisse der vorliegenden HD98-A-Studie sind daher im Vergleich mit anderen Studien, bei der die obere Schranke für das Einschlussalter niedriger war, besser zu bewerten.

Das qualitative Ergebnis ist mit den anderen Studien weitgehend übereinstimmend. Die allogene Stammzelltransplantation war im Vergleich sämtlichen anderen Therapieoptionen signifikant ( $p < 0,0001$ ) überlegen im Bezug auf rezidivfreies Überleben (auch in der - bei randomisierten Studien sinnvoller - Intention-to-Analyse). Das bestätigt insbesondere die Ergebnisse der CALGB 8461, der EORTC-GIMEMA AML-8 und der MRC AML-10 Studie. Eine optimale Vergleichbarkeit ist jedoch wie beschrieben nicht gegeben.

Als Nächstes wurde die erarbeitete Einteilung in Markergruppen dazu benutzt, um in dieser Fragestellung durch Doppelstratifikation eine Verfeinerung zu erzielen. Es zeigt sich, dass die Ergebnisse tatsächlich je nach betrachteter Markergruppe differieren. Während sich für das Gesamtüberleben in keiner der betrachteten Gruppen ein signifikanter Unterschied zeigt, wird beim rezidivfreien Überleben eine Zweiteilung deutlich: In der Intention-to-Analyse war in der *FLT3*-ITD-Gruppe die autologe Transplantation den beiden anderen Therapieoptionen unterlegen ( $p = 0,05$ ), zwischen HAM und allogener Transplantation zeigte sich kein signifikanter Unterschied. In der As-Treated-Analyse war eine Chemotherapie nach HAM ähnlich schlecht wie eine autologe Transplantation. Dennoch ist die Intention-to-Analyse vermutlich aussagekräftiger: Die beobachtete Verzerrung kommt durch die Patienten zustande, die statt einer Transplantation, wie randomisiert, eine Chemotherapie nach HAM erhielten.

In der unmutierten Gruppe konnte nur in der As-Treated-Analyse ein signifikanter Unterschied zugunsten der allogenen Transplantation festgestellt werden ( $p = 0,04$ ).

In der *NPM1*-Gruppe konnte in keiner Analyse ein signifikanter Unterschied zwischen den Therapieoptionen festgestellt werden.

In der *CEBPA*-Gruppe konnte in der Intention-to-Analyse kein signifikanter Unterschied festgestellt werden, in der As-Treated-Analyse zeigte sich ein deutlicher Vorteil für beide Transplantationsarten ( $p = 0,0009$ ). Keiner, der eine Transplantation erhalten hatte rezidierte. Die fehlende Signifikanz in der Intention-to-Analyse wird vermutlich durch

zufällige Derandomisationseffekte in einem Kollektiv mit guter a-priori-Prognose verursacht.

An Hand dieser Daten lassen sich Therapieempfehlungen aussprechen, die jedoch aufgrund der kleinen Größe der Kollektive fehlerbehaftet sein können und daher prospektiv in randomisierten Studien überprüft werden müssen. Es wird davon ausgegangen, dass bei fehlenden prognostischen Unterschieden die weniger aggressive Therapieoption verwendet werden sollte.

Patienten aus der *NPM1*-Gruppe sollten eine Chemotherapie erhalten, jedoch keine Transplantation. Patienten aus der *CEBPA*-Gruppe sollten auf jeden Fall eine Transplantation erhalten: Bei vorhandenem Familienspender empfiehlt sich eine allogene Transplantation, ansonsten eine autologe. Bei Patienten aus den Gruppen mit schlechterer Prognose, der *FLT3*-ITD- oder der unmutierten Gruppe, sollte eine allogene Transplantation angestrebt werden, bei fehlendem Familienspender eine Chemotherapie.

Bei den auf Induktion refraktären Patienten war die verwandt-allogene Transplantation den meisten anderen Therapieoptionen überlegen; die haploidente Transplantation ( $p=0,02$ ) sowie die Chemotherapien ( $p=0,02$ ) waren sowohl beim Gesamt- als auch beim rezidivfreien Überleben signifikant schlechter. Zwischen verwandt-allogener und fremd-allogener Transplantation bestand kein signifikanter Unterschied ( $p=0,12$ ). Diejenigen Patienten, die refraktär waren und kein A-HAM erhielten, hatten ein signifikant schlechteres Überleben als alle anderen Patienten ( $p=0,02$ ).

## **4.2 Schlussfolgerungen**

Aus den Antworten auf die Fragestellungen lassen sich Schlussfolgerungen ziehen. Diese sind für den normalen Karyotyp hier aufgeführt.

- Mittels molekularer Marker ist eine scharfe Trennung des Patientenkollektivs in zwei Risikogruppen möglich – eine Gruppe mit niedrigem Risiko mit 5-Jahres-Überleben von ca. 60%, definiert durch die Genotypen *CEBPA*+ und eine Hochrisikogruppe mit Raten von 20%.
- Die entwickelten Cox-Modelle ermöglichen eine a-priori-Risikostratifikation nach bereits bei Diagnose vorliegenden Merkmalen.



- Die überwiegende Mehrheit der in der Literatur gemachten Beobachtungen zu Prognose und Einfluss der molekularen Marker konnte für das vorliegende Patientenkollektiv verifiziert werden.
- Patienten in der unmutierten und der *FLT3*-Gruppe sollten, wenn möglich, verwandt-allogen transplantiert werden. Ist kein Spender vorhanden, so sind autologe Transplantation und Chemotherapie als Postremissionsstrategie nach dem HAM-Schema gleichwertig, die weniger aggressive Chemotherapie ist anzustreben.
- In der *CEBPA*-Gruppe sind die allogene und die autologe Transplantation der Chemotherapie statistisch signifikant überlegen. Die beiden Transplantationen unterscheiden sich nicht im Hinblick auf ihre Prognose. Patienten sollten bei fehlendem Familienspender also autolog transplantiert werden.
- In der *NPM1*-Gruppe sind zwischen den drei Therapiemodalitäten keine signifikanten Unterschiede festzustellen. Daher ist hier die weniger aggressive Chemotherapie zu empfehlen.
- Auf die Doppelinduktion refraktäre Patienten sollten bei vorliegendem Familienspender eine verwandt-allogene Transplantation erhalten, ansonsten eine fremd-allogene Transplantation.

Insbesondere für die Ergebnisse in den Markergruppen ist aufgrund der kleinen Kollektivgrößen eine prospektive und randomisierte Validierung zu empfehlen.

## 5 Zusammenfassung

### **Zielsetzung**

Ziel dieser Arbeit war es, im Rahmen der AML HD98-A-Studie (AML = akute myeloische Leukämie; Name einer AML-Studie) den Einfluss der Postremissionstherapie, molekularer Marker und prognostischer Faktoren auf die Behandlung von Patienten mit akuter myeloischer Leukämie mit normalem Karyotyp zu untersuchen. Außerdem sollte die AML HD98-A-Studie im Hinblick auf ihre prospektiven Fragestellungen im Bezug auf Patienten mit normalem Karyotyp ausgewertet werden.

### **Material und Methoden**

384 Patienten mit normalem Karyotyp wurden in das Studienprotokoll aufgenommen. Dieses sah eine Doppelinduktion mit ICE (Chemotherapiezyklusschema: Idarubicin, Cytarabin, Etoposid) und bei Erreichen einer Remission eine Frühkonsolidierung nach dem HAM-Schema (Chemotherapiezyklusschema: Hochdosis-Cytarabin, Mitoxantrone) vor. Nach der Frühkonsolidierung erhielten Patienten mit HLA-kompatiblen (HLA = human leukocyte antigen) Familienspendern eine verwandt-allogene Blutstammzelltransplantation, der Rest wurde zwischen einer autologen Blutstammzelltransplantation und einer Spätkonsolidierung nach dem HAM-Schema randomisiert. Bei Patienten, die auf den ersten ICE-Zyklus nicht ansprachen, wurde nach einem Zyklus A-HAM eine verwandt- oder fremd-allogene Stammzelltransplantation angestrebt.

Für die statistische Auswertung wurden die Patienten an Hand des Vorhandenseins (+) oder Nichtvorhandenseins (-) einer Mutation von *CEBPA* (CCAAT/Enhancer-binding Protein Alpha), *FLT3* (FMS-like tyrosine kinase 3) und *NPM1* (Nucleophosmin 1) in vier Gruppen geclustert, die definiert waren durch die Genotypen *CEBPA+*, *CEBPA-FLT3+*, *CEBPA-FLT3-NPM1-* und *CEBPA-FLT3-NPM1+*.

### **Ergebnisse**

Die Ansprechrate auf die Doppelinduktion betrug 73%. Ein binär-logistisches multivariates Modell für das Ansprechen ergab für *CEBPA+* und *CEBPA-FLT3-NPM1+* eine OR (Odds Ratio) von 1,714 bzw. 1, für *CEBPA-FLT3+* und *CEBPA-FLT3-NPM1-* OR von 0,317 und 0,208 ( $p < 0,005$ ). Positive Prädiktoren waren außerdem Mutationen des *MLL* (mixed lineage leukemia gene) (OR 4,194;  $p = 0,01$ ), das Vorliegen einer Hepato- oder Splenomegalie (OR 2,273;  $p = 0,02$ ) oder eines myelomonozytären Phänotyps (OR 2,243;  $p = 0,02$ ).

Die 5-Jahres-Überlebensrate betrug 38,7%, das mediane Überleben 2,00 Jahre.

Die 5-Jahres-Remissionsrate betrug bei diesen 303 Patienten 34,2%, die mediane Rezidivfreiheit 1,89 Jahre. Die 4-Jahres-Überlebensrate betrug 74% für die verwandt-allogene Transplantation, 56% für die autologe Transplantation und 55% für die Chemotherapie nach HAM ( $p=0,09$ ). Die 4-Jahres-Rezidivfreiheit betrug 74% für die verwandt-allogene Transplantation, 40% für die autologe Transplantation und 40% für die Chemotherapie nach HAM ( $p=0,0004$ ).

Positive Prädiktoren in den multivariaten Modellen für Gesamt-/rezidivfreies Überleben waren eine durchgeführte verwandt-allogene Transplantation ( $p=0,02/p<0,001$ ), junges Alter ( $p=0,002/0,01$ ), niedrige Leukozytenzahlen bei Diagnose ( $p=0,007/p=0,06$ ), niedrige LDH (Leukozytendehydrogenase) bei Diagnose ( $p>0,1/p=0,01$ ) sowie der Genotyp ( $p=0,002/p<0,001$ ).

Die Hazard Ratio im Vergleich zur Gruppe *CEBPA+* war 7,0/6,0 für *CEBPA-FLT3+*, 5,33/6,97 für *CEBPA-FLT3-NPM1-* und 1,36/1,07 für *CEBPA-FLT3-NPM1+*. Der Genotyp hatte keinen Einfluss auf das Gesamtüberleben nach verschiedenen Postremissionstherapien; für das rezidivfreie Überleben konnten signifikante Unterschiede festgestellt werden: In den Subgruppen definiert durch den Genotyp *CEBPA+* waren die autologe und die allogene Transplantation dem HAM-Schema überlegen ( $p=0,003$ ). In der Subgruppe *CEBPA-FLT3-NPM1+* waren die Therapiemodalitäten gleichwertig. In den Subgruppen *CEBPA-FLT3+* und *CEBPA-FLT3-NPM1+* war die allogene Transplantation den anderen Therapiemodalitäten mindestens gleichwertig ( $p=0,04$  bzw.  $p=0,05$ ).

### **Schlussfolgerungen**

Die verwandt-allogene Stammzelltransplantation ist zur Behandlung der AML in erster Remission der autologen Transplantation und der Chemotherapie nach dem HAM-Schema im Hinblick auf rezidivfreies Überleben überlegen, ansonsten mindestens gleichwertig. Die vorgeschlagene Einteilung in genetische Risikogruppen ermöglicht eine bisher nicht mögliche Zuordnung der Normalrisikopatienten zu Hoch- und Niedrigisiko. Der Genotyp besitzt darüberhinaus einen signifikanten Einfluss auf die optimale Postremissionstherapie, zur genaueren Differenzierung sollte eine prospektive Validierung in einem größeren Patientenkollektiv erfolgen.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Abu-Duhier F.M., Goodeve A.C., Wilson G.A., Care R.S., Peake I.R., Reilly J.T. (2001). "*Identification of novel FLT-3 Asp835 mutations in adult acute myeloid leukaemia*" Br J Haematol **113**: 983-988.
2. Abu-Duhier F.M., Goodeve A.C., Wilson G.A., Gari M.A., Peake I.R., Rees D.C., Vandenberghe E.A., Winship P.R., Reilly J.T. (2000). "*FLT3 internal tandem duplication mutations in adult acute myeloid leukaemia define a high-risk group*" Br J Haematol **111**: 190-195.
3. AMLSG-Ulm. (2000), AMLSG-Ulm.
4. Appelbaum F.R., Rowe J.M., Radich J., Dick J.E. (2001). "*Acute myeloid leukemia*" Hematology Am Soc Hematol Educ Program: 62-86.
5. Arlin Z., Case D.C., Jr., Moore J., Wiernik P., Feldman E., Saletan S., Desai P., Sia L., Cartwright K. (1990). "*Randomized multicenter trial of cytosine arabinoside with mitoxantrone or daunorubicin in previously untreated adult patients with acute nonlymphocytic leukemia (ANLL). Lederle Cooperative Group*" Leukemia **4**: 177-183.
6. Baer M.R., George S.L., Dodge R.K., O'Loughlin K.L., Minderman H., Caligiuri M.A., Anastasi J., Powell B.L., Kolitz J.E., Schiffer C.A., Bloomfield C.D., Larson R.A. (2002). "*Phase 3 study of the multidrug resistance modulator PSC-833 in previously untreated patients 60 years of age and older with acute myeloid leukemia: Cancer and Leukemia Group B Study 9720*" Blood **100**: 1224-1232.
7. Barjesteh van Waalwijk van Doorn-Khosrovani S., Erpelinck C., Meijer J., van Oosterhoud S., van Putten W.L., Valk P.J., Berna Beverloo H., Tenen D.G., Lowenberg B., Delwel R. (2003). "*Biallelic mutations in the CEBPA gene and low CEBPA expression levels as prognostic markers in intermediate-risk AML*" Hematol J **4**: 31-40.
8. Bender R., Grouven U. (1997). "*Ordinal logistic regression in medical research*" J R Coll Physicians Lond **31**: 546-551.
9. Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T., Flandrin G., Galton D.A., Gralnick H.R., Sultan C. (1976). "*Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group*" Br J Haematol **33**: 451-458.

10. Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T., Flandrin G., Galton D.A., Gralnick H.R., Sultan C. (1985). "*Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group*" Ann Intern Med **103**: 620-625.
11. Bensinger W.I., Martin P.J., Storer B., Clift R., Forman S.J., Negrin R., Kashyap A., Flowers M.E., Lilleby K., Chauncey T.R., Storb R., Appelbaum F.R. (2001). "*Transplantation of bone marrow as compared with peripheral-blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers*" N Engl J Med **344**: 175-181.
12. Berman E., Arlin Z.A., Gaynor J., Miller W., Gee T., Kempin S.J., Mertelsmann R., Andreeff M., Reich L., Nahmias N., et al. (1989). "*Comparative trial of cytarabine and thioguanine in combination with amsacrine or daunorubicin in patients with untreated acute nonlymphocytic leukemia: results of the L-16M protocol*" Leukemia **3**: 115-121.
13. Bishop J.F. (1994). "*Intensified therapy for acute myeloid leukemia*" N Engl J Med **331**: 941-942.
14. Bland J.M., Altman D.G. (1995). "*Multiple significance tests: the Bonferroni method*" Br Med J **310**: 170.
15. Bloomfield C.D., Brunning R.D. (1985). "*The revised French-American-British classification of acute myeloid leukemia: is new better?*" Ann Intern Med **103**: 614-616.
16. Büchner T. (1999) "*Akute myeloische Leukämie*". In: Alexander, K., Daniel, W. G., Diener, H.-C., Freud, M., Köhler, H., Matern, S., Maurer, H. H., Michael, B. A., Nowak, D., Risler, T., Schaffner, A., Scherbaum, W. A., Sybrecht, G. W., Wolfram, G., Zeitz, M. (Hrsg.), Thiemes Innere Medizin, S. 865-870. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
17. Buchner T., Hiddemann W., Wormann B., Löffler H., Gassmann W., Haferlach T., Fonatsch C., Haase D., Schoch C., Hossfeld D., Lengfelder E., Aul C., Heyll A., Maschmeyer G., Ludwig W.D., Sauerland M.C., Heinecke A. (1999). "*Double induction strategy for acute myeloid leukemia: the effect of high-dose cytarabine with mitoxantrone instead of standard-dose cytarabine with daunorubicin and 6-thioguanine: a randomized trial by the German AML Cooperative Group*" Blood **93**: 4116-4124.

18. Burnett A.K., Goldstone A.H., Stevens R.M., Hann I.M., Rees J.K., Gray R.G., Wheatley K. (1998). "Randomised comparison of addition of autologous bone-marrow transplantation to intensive chemotherapy for acute myeloid leukaemia in first remission: results of MRC AML 10 trial. UK Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties" Lancet **351**: 700-708.
19. Burnett A.K., Wheatley K., Goldstone A.H., Stevens R.F., Hann I.M., Rees J.H., Harrison G. (2002). "The value of allogeneic bone marrow transplant in patients with acute myeloid leukaemia at differing risk of relapse: results of the UK MRC AML 10 trial" Br J Haematol **118**: 385-400.
20. Byrd J.C., Dodge R.K., Carroll A., Baer M.R., Edwards C., Stamberg J., Qumsiyeh M., Moore J.O., Mayer R.J., Davey F., Schiffer C.A., Bloomfield C.D. (1999). "Patients with *t(8;21)(q22;q22)* and acute myeloid leukemia have superior failure-free and overall survival when repetitive cycles of high-dose cytarabine are administered" J Clin Oncol **17**: 3767-3775.
21. Byrd J.C., Mrozek K., Dodge R.K., Carroll A.J., Edwards C.G., Arthur D.C., Pettenati M.J., Patil S.R., Rao K.W., Watson M.S., Koduru P.R., Moore J.O., Stone R.M., Mayer R.J., Feldman E.J., Davey F.R., Schiffer C.A., Larson R.A., Bloomfield C.D. (2002). "Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461)" Blood **100**: 4325-4336.
22. Byrd J.C., Ruppert A.S., Mrozek K., Carroll A.J., Edwards C.G., Arthur D.C., Pettenati M.J., Stamberg J., Koduru P.R., Moore J.O., Mayer R.J., Davey F.R., Larson R.A., Bloomfield C.D. (2004). "Repetitive cycles of high-dose cytarabine benefit patients with acute myeloid leukemia and *inv(16)(p13q22)* or *t(16;16)(p13;q22)*: results from CALGB 8461" J Clin Oncol **22**: 1087-1094.
23. Caligiuri M.A., Schichman S.A., Strout M.P., Mrozek K., Baer M.R., Frankel S.R., Barcos M., Herzig G.P., Croce C.M., Bloomfield C.D. (1994). "Molecular rearrangement of the *ALL-1* gene in acute myeloid leukemia without cytogenetic evidence of *11q23* chromosomal translocations" Cancer Res **54**: 370-373.
24. Caligiuri M.A., Strout M.P., Lawrence D., Arthur D.C., Baer M.R., Yu F., Knuutila S., Mrozek K., Oberkircher A.R., Marcucci G., de la Chapelle A., Elonen E., Block A.W., Rao P.N., Herzig G.P., Powell B.L., Ruutu T., Schiffer C.A.,

- Bloomfield C.D. (1998). "Rearrangement of *ALL1 (MLL)* in acute myeloid leukemia with normal cytogenetics" *Cancer Res* **58**: 55-59.
25. Cassileth P.A., Harrington D.P., Appelbaum F.R., Lazarus H.M., Rowe J.M., Paietta E., Willman C., Hurd D.D., Bennett J.M., Blume K.G., Head D.R., Wiernik P.H. (1998). "Chemotherapy compared with autologous or allogeneic bone marrow transplantation in the management of acute myeloid leukemia in first remission" *N Engl J Med* **339**: 1649-1656.
  26. Champlin R.E., Schmitz N., Horowitz M.M., Chappuis B., Chopra R., Cornelissen J.J., Gale R.P., Goldman J.M., Loberiza F.R., Jr., Hertenstein B., Klein J.P., Montserrat E., Zhang M.J., Ringden O., Tomany S.C., Rowlings P.A., Van Hoef M.E., Gratwohl A. (2000). "Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation. IBMTR Histocompatibility and Stem Cell Sources Working Committee and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT)" *Blood* **95**: 3702-3709.
  27. Chernoff H., Lehmann E.L. (1954). "The use of maximum likelihood estimates in  $\chi^2$  test for goodness-of-fit" *Ann Math Stat* **25**: 576-586.
  28. Cheson B.D., Bennett J.M., Kopecky K.J., Buchner T., Willman C.L., Estey E.H., Schiffer C.A., Doehner H., Tallman M.S., Lister T.A., Lo-Coco F., Willemze R., Biondi A., Hiddemann W., Larson R.A., Lowenberg B., Sanz M.A., Head D.R., Ohno R., Bloomfield C.D. (2003). "Revised recommendations of the International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia" *J Clin Oncol* **21**: 4642-4649.
  29. Cox D.R. (1972). "Regression models and life tables" *J R Stat Soc B* **34**: 187-220.
  30. Cozzio A., Passegue E., Ayton P.M., Karsunky H., Cleary M.L., Weissman I.L. (2003). "Similar *MLL*-associated leukemias arising from self-renewing stem cells and short-lived myeloid progenitors" *Genes Dev* **17**: 3029-3035.
  31. Dash A., Gilliland D.G. (2001). "Molecular genetics of acute myeloid leukaemia" *Best Pract Res Clin Haematol* **14**: 49-64.
  32. Dillman R.O., Davis R.B., Green M.R., Weiss R.B., Gottlieb A.J., Caplan S., Kopel S., Preisler H., McIntyre O.R., Schiffer C. (1991). "A comparative study of two different doses of cytarabine for acute myeloid leukemia: a phase III trial of Cancer and Leukemia Group B" *Blood* **78**: 2520-2526.

33. Döhner K., Schlenk R.F., Habdank M., Scholl C., Rucker F.G., Corbacioglu A., Bullinger L., Fröhling S., Döhner H. (2005). "*Mutant nucleophosmin (NPM1) predicts favorable prognosis in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: interaction with other gene mutations*" Blood **106**: 3740-3746.
34. Döhner K., Tobis K., Ulrich R., Fröhling S., Benner A., Schlenk R.F., Döhner H. (2002). "*Prognostic significance of partial tandem duplications of the MLL gene in adult patients 16 to 60 years old with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the Acute Myeloid Leukemia Study Group Ulm*" J Clin Oncol **20**: 3254-3261.
35. Dorrance A.M., Liu S., Yuan W., Becknell B., Arnoczky K.J., Guimond M., Strout M.P., Feng L., Nakamura T., Yu L., Rush L.J., Weinstein M., Leone G., Wu L., Ferketich A., Whitman S.P., Marcucci G., Caligiuri M.A. (2006). "*MLL partial tandem duplication induces aberrant Hox expression in vivo via specific epigenetic alterations*" J Clin Invest **116**: 2707-2716.
36. Falini B., Mecucci C., Tiacci E., Alcalay M., Rosati R., Pasqualucci L., La Starza R., Diverio D., Colombo E., Santucci A., Bigerna B., Pacini R., Pucciarini A., Liso A., Vignetti M., Fazi P., Meani N., Pettirossi V., Saglio G., Mandelli F., Lo-Coco F., Pelicci P.G., Martelli M.F. (2005). "*Cytoplasmic nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype*" N Engl J Med **352**: 254-266.
37. Farag S.S., Ruppert A.S., Mrozek K., Mayer R.J., Stone R.M., Carroll A.J., Powell B.L., Moore J.O., Pettenati M.J., Koduru P.R., Stamberg J., Baer M.R., Block A.W., Vardiman J.W., Kolitz J.E., Schiffer C.A., Larson R.A., Bloomfield C.D. (2005). "*Outcome of induction and postremission therapy in younger adults with acute myeloid leukemia with normal karyotype: a cancer and leukemia group B study*" J Clin Oncol **23**: 482-493.
38. Fisher L.D. (1990). "*Intention to treat in clinical trials.*" In: Statistical issues in drug research and development.
39. Fopp M., Fey M.F., Bacchi M., Cavalli F., Gmuer J., Jacky E., Schmid L., Tichelli A., Tobler A., Tschopp L., Von Fliedner V., Gratwohl A. (1997). "*Post-remission therapy of adult acute myeloid leukaemia: one cycle of high-dose versus standard-dose cytarabine. Leukaemia Project Group of the Swiss Group for Clinical Cancer Research (SAKK)*" Ann Oncol **8**: 251-257.



40. Fröhling S., Schlenk R.F., Breitruck J., Benner A., Kreitmeier S., Tobis K., Döhner H., Döhner K. (2002). "*Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML Study Group Ulm*" Blood **100**: 4372-4380.
41. Fröhling S., Schlenk R.F., Stolze I., Bihlmayr J., Benner A., Kreitmeier S., Tobis K., Döhner H., Döhner K. (2004). "*CEBPA mutations in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: prognostic relevance and analysis of cooperating mutations*" J Clin Oncol **22**: 624-633.
42. Fröhling S., Skelin S., Liebisch C., Scholl C., Schlenk R.F., Döhner H., Döhner K. (2002). "*Comparison of cytogenetic and molecular cytogenetic detection of chromosome abnormalities in 240 consecutive adult patients with acute myeloid leukemia*" J Clin Oncol **20**: 2480-2485.
43. Giles F.J., Keating A., Goldstone A.H., Avivi I., Willman C.L., Kantarjian H.M. (2002). "*Acute myeloid leukemia*" Hematology Am Soc Hematol Educ Program: 73-110.
44. Gilliland D.G. (2002). "*Molecular genetics of human leukemias: new insights into therapy*" Semin Hematol **39**: 6-11.
45. Gilliland D.G., Jordan C.T., Felix C.A. (2004). "*The molecular basis of leukemia*" Hematology Am Soc Hematol Educ Program: 80-97.
46. Gilliland D.G., Tallman M.S. (2002). "*Focus on acute leukemias*" Cancer Cell **1**: 417-420.
47. Gökbuget N., Ganser A., Schlenk R.F. (2005). "*Leitlinien für akute Leukosen*" Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie. [www.dgho.de/cmsdata/file/file\\_136.pdf](http://www.dgho.de/cmsdata/file/file_136.pdf), zuletzt geändert August 2005, letzter Zugriff Oktober 2007.
48. Goldstone A.H., Burnett A.K., Wheatley K., Smith A.G., Hutchinson R.M., Clark R.E. (2001). "*Attempts to improve treatment outcomes in acute myeloid leukemia (AML) in older patients: the results of the United Kingdom Medical Research Council AML11 trial*" Blood **98**: 1302-1311.
49. Gombart A.F., Hofmann W.K., Kawano S., Takeuchi S., Krug U., Kwok S.H., Larsen R.J., Asou H., Miller C.W., Hoelzer D., Koeffler H.P. (2002). "*Mutations in the gene encoding the transcription factor CCAAT/enhancer binding protein*

- alpha in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemias*" Blood **99**: 1332-1340.
50. Grimwade D., Walker H., Oliver F., Wheatley K., Harrison C., Harrison G., Rees J., Hann I., Stevens R., Burnett A., Goldstone A. (1998). "The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties" Blood **92**: 2322-2333.
  51. Grisendi S., Bernardi R., Rossi M., Cheng K., Khandker L., Manova K., Pandolfi P.P. (2005). "Role of nucleophosmin in embryonic development and tumorigenesis" Nature **437**: 147-153.
  52. Gross R., Schulten H.K., Zach J. (1968). "[Leukoses in adults. A clinic-statistical review of 1200 cases]" Internist (Berl) **9**: 476-483.
  53. Guan Y., Gerhard B., Hogge D.E. (2003). "Detection, isolation, and stimulation of quiescent primitive leukemic progenitor cells from patients with acute myeloid leukemia (AML)" Blood **101**: 3142-3149.
  54. Hall G.H., Round A.P. (1994). "Logistic regression--explanation and use" JR Coll Physicians Lond **28**: 242-246.
  55. Hansen O.P., Pedersen-Bjergaard J., Ellegaard J., Brincker H., Boesen A.M., Christensen B.E., Driwsholm A., Hippe E., Jans H., Jensen K.B., et al. (1991). "Aclarubicin plus cytosine arabinoside versus daunorubicin plus cytosine arabinoside in previously untreated patients with acute myeloid leukemia: a Danish national phase III trial. The Danish Society of Hematology Study Group on AML, Denmark" Leukemia **5**: 510-516.
  56. Harousseau J.L., Cahn J.Y., Pignon B., Witz F., Milpied N., Delain M., Lioure B., Lamy T., Desablens B., Guilhot F., Caillot D., Abgrall J.F., Francois S., Briere J., Guyotat D., Casassus P., Audhuy B., Tellier Z., Hurteloup P., Herve P. (1997). "Comparison of autologous bone marrow transplantation and intensive chemotherapy as postremission therapy in adult acute myeloid leukemia. The Groupe Ouest Est Leucemies Aigues Myeloblastiques (GOELAM)" Blood **90**: 2978-2986.
  57. Harrington D.P., Fleming T.R. (1982). "A class of rank test procedures for censored survival data" Biometrika **69**: 553-566.
  58. Harris N.L., Jaffe E.S., Diebold J., Flandrin G., Muller-Hermelink H.K., Vardiman J., Lister T.A., Bloomfield C.D. (2000). "The World Health Organization

- classification of neoplastic diseases of the haematopoietic and lymphoid tissues: Report of the Clinical Advisory Committee Meeting, Airlie House, Virginia, November 1997*" Histopathology **36**: 69-86.
59. He L.Z., Tribioli C., Rivi R., Peruzzi D., Pelicci P.G., Soares V., Cattoretti G., Pandolfi P.P. (1997). "Acute leukemia with promyelocytic features in *PML/RARalpha* transgenic mice" Proc Natl Acad Sci U S A **94**: 5302-5307.
  60. Heidel F., Solem F.K., Breitenbuecher F., Lipka D.B., Kasper S., Thiede M.H., Brandts C., Serve H., Roesel J., Giles F., Feldman E., Ehninger G., Schiller G.J., Nimer S., Stone R.M., Wang Y., Kindler T., Cohen P.S., Huber C., Fischer T. (2006). "Clinical resistance to the kinase inhibitor *PKC412* in acute myeloid leukemia by mutation of *Asn-676* in the *FLT3* tyrosine kinase domain" Blood **107**: 293-300.
  61. Heil G., Hoelzer D., Sanz M.A., Lechner K., Noens L., Szer J., Ganser A., Matcham J., Renwick J. (2006). "Long-term survival data from a phase 3 study of *Filgrastim* as an adjunct to chemotherapy in adults with *de novo* acute myeloid leukemia" Leukemia **20**: 404-409.
  62. Heritier S.R., GebSKI V.J., Keech A.C. (2003). "Inclusion of patients in clinical trial analysis: the intention-to-treat principle" Med J Aust **179**: 438-440.
  63. Holyoake T.L., Jiang X., Jorgensen H.G., Graham S., Alcorn M.J., Laird C., Eaves A.C., Eaves C.J. (2001). "Primitive quiescent leukemic cells from patients with chronic myeloid leukemia spontaneously initiate factor-independent growth in vitro in association with up-regulation of expression of interleukin-3" Blood **97**: 720-728.
  64. Kaplan E.L., Meier P. (1958). "Nonparametric estimation from incomplete observations" J Am Stat Assoc **53**: 457-481.
  65. Kelly L.M., Kutok J.L., Williams I.R., Boulton C.L., Amaral S.M., Curley D.P., Ley T.J., Gilliland D.G. (2002). "*PML/RARalpha* and *FLT3-ITD* induce an *APL*-like disease in a mouse model" Proc Natl Acad Sci U S A **99**: 8283-8288.
  66. Kelly L.M., Liu Q., Kutok J.L., Williams I.R., Boulton C.L., Gilliland D.G. (2002). "*FLT3* internal tandem duplication mutations associated with human acute myeloid leukemias induce myeloproliferative disease in a murine bone marrow transplant model" Blood **99**: 310-318.
  67. Kiyoi H., Naoe T., Nakano Y., Yokota S., Minami S., Miyawaki S., Asou N., Kuriyama K., Jinnai I., Shimazaki C., Akiyama H., Saito K., Oh H., Motoji T.,

- Omoto E., Saito H., Ohno R., Ueda R. (1999). "Prognostic implication of *FLT3* and *N-RAS* gene mutations in acute myeloid leukemia" Blood **93**: 3074-3080.
68. Korbling M., Flidner T.M., Holle R., Magrin S., Baumann M., Holdermann E., Eberhardt K. (1991). "Autologous blood stem cell (ABSCT) versus purged bone marrow transplantation (pABMT) in standard risk AML: influence of source and cell composition of the autograft on hemopoietic reconstitution and disease-free survival" Bone Marrow Transplant **7**: 343-349.
69. Kottaridis P.D., Gale R.E., Frew M.E., Harrison G., Langabeer S.E., Belton A.A., Walker H., Wheatley K., Bowen D.T., Burnett A.K., Goldstone A.H., Linch D.C. (2001). "The presence of a *FLT3* internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials" Blood **98**: 1752-1759.
70. Kruskal W.H., Wallis W.A. (1952). "Use of ranks in one-criterion variance analysis. *J Am Stat Assoc*" J Am Stat Assoc **47**: 583-612.
71. Lowenberg B. (2001). "Prognostic factors in acute myeloid leukaemia" Best Pract Res Clin Haematol **14**: 65-75.
72. Lowenberg B., Downing J.R., Burnett A. (1999). "Acute myeloid leukemia" N Engl J Med **341**: 1051-1062.
73. Lowenberg B., Griffin J.D., Tallman M.S. (2003). "Acute myeloid leukemia and acute promyelocytic leukemia" Hematology Am Soc Hematol Educ Program: 82-101.
74. Lowenberg B., van Putten W., Theobald M., Gmur J., Verdonck L., Sonneveld P., Fey M., Schouten H., de Greef G., Ferrant A., Kovacsovics T., Gratwohl A., Daenen S., Huijgens P., Boogaerts M. (2003). "Effect of priming with granulocyte colony-stimulating factor on the outcome of chemotherapy for acute myeloid leukemia" N Engl J Med **349**: 743-752.
75. Martin C., Torres A., Leon A., Rubio V., Alvarez M.A., Herrera C., Jean-Paul E., Correa M.A., Rojas R., Campos R., Serrano J., Romero R., Roman J., Guzman J.L., Flores R., Falcon M., Martinez F., Gomez P. (1998). "Autologous peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT) mobilized with G-CSF in AML in first complete remission. Role of intensification therapy in outcome" Bone Marrow Transplant **21**: 375-382.

76. Mayer R.J., Davis R.B., Schiffer C.A., Berg D.T., Powell B.L., Schulman P., Omura G.A., Moore J.O., McIntyre O.R., Frei E., 3rd. (1994). "Intensive postremission chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia. Cancer and Leukemia Group B" N Engl J Med **331**: 896-903.
77. Mead A.J., Linch D.C., Hills R.K., Wheatley K., Burnett A.K., Gale R.E. (2007). "FLT3 tyrosine kinase domain mutations are biologically distinct from and have a significantly more favorable prognosis than FLT3 internal tandem duplications in patients with acute myeloid leukemia" Blood **110**: 1262-1270.
78. Morgan J.F. (2007). "p Value fetishism and use of the Bonferroni adjustment" Evid Based Ment Health **10**: 34-35.
79. Mrozek K., Heinonen K., Bloomfield C.D. (2001). "Clinical importance of cytogenetics in acute myeloid leukaemia" Best Pract Res Clin Haematol **14**: 19-47.
80. Nakao M., Yokota S., Iwai T., Kaneko H., Horiike S., Kashima K., Sonoda Y., Fujimoto T., Misawa S. (1996). "Internal tandem duplication of the *flt3* gene found in acute myeloid leukemia" Leukemia **10**: 1911-1918.
81. Pabst T., Mueller B.U., Zhang P., Radoska H.S., Narravula S., Schnittger S., Behre G., Hiddemann W., Tenen D.G. (2001). "Dominant-negative mutations of CEBPA, encoding CCAAT/enhancer binding protein-alpha (C/EBPalpha), in acute myeloid leukemia" Nat Genet **27**: 263-270.
82. Parikh C., Subrahmanyam R., Ren R. (2006). "Oncogenic NRAS rapidly and efficiently induces CMML- and AML-like diseases in mice" Blood **108**: 2349-2357.
83. Powles R., Mehta J., Kulkarni S., Treleaven J., Millar B., Marsden J., Shepherd V., Rowland A., Sirohi B., Tait D., Horton C., Long S., Singhal S. (2000). "Allogeneic blood and bone-marrow stem-cell transplantation in haematological malignant diseases: a randomised trial" Lancet **355**: 1231-1237.
84. Preudhomme C., Sagot C., Boissel N., Cayuela J.M., Tigaud I., de Botton S., Thomas X., Raffoux E., Lamandin C., Castaigne S., Fenaux P., Dombret H. (2002). "Favorable prognostic significance of CEBPA mutations in patients with de novo acute myeloid leukemia: a study from the Acute Leukemia French Association (ALFA)" Blood **100**: 2717-2723.
85. Redaelli A., Lee J.M., Stephens J.M., Pashos C.L. (2003). "Epidemiology and clinical burden of acute myeloid leukemia" Expert Rev Anticancer Ther **3**: 695-710.

86. Reiffers J., Gaspard M.H., Maraninchi D., Michallet M. (1989). "*Allogeneic bone marrow transplantation versus chemotherapy in first-remission acute myeloid leukemia*" J Clin Oncol **7**: 979-981.
87. Reiffers J., Gaspard M.H., Maraninchi D., Michallet M., Marit G., Stoppa A.M., Corront B., David B., Gastaut J.A., Scotto J.J., et al. (1989). "*Comparison of allogeneic or autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in patients with acute myeloid leukaemia in first remission: a prospective controlled trial*" Br J Haematol **72**: 57-63.
88. Reiffers J., Stoppa A.M., Attal M., Michallet M. (1994). "*Is there a place for blood stem-cell transplantation for the younger adult patient with acute myelogenous leukemia? BGMT Group*" J Clin Oncol **12**: 1100-1102.
89. Rombouts W.J., Blokland I., Lowenberg B., Ploemacher R.E. (2000). "*Biological characteristics and prognosis of adult acute myeloid leukemia with internal tandem duplications in the Flt3 gene*" Leukemia **14**: 675-683.
90. Rowe J.M., Neuberg D., Friedenberg W., Bennett J.M., Paietta E., Makary A.Z., Liesveld J.L., Abboud C.N., Dewald G., Hayes F.A., Tallman M.S., Wiernik P.H. (2004). "*A phase 3 study of three induction regimens and of priming with GM-CSF in older adults with acute myeloid leukemia: a trial by the Eastern Cooperative Oncology Group*" Blood **103**: 479-485.
91. Sanz M.A., de la Rubia J., Sanz G.F., Martin G., Martinez J., Jarque I., Sempere A., Gomis F., Senent L., Soler M.A., et al. (1993). "*Busulfan plus cyclophosphamide followed by autologous blood stem-cell transplantation for patients with acute myeloblastic leukemia in first complete remission: a report from a single institution*" J Clin Oncol **11**: 1661-1667.
92. Schlenk R.F., Benner A., Hartmann F., del Valle F., Weber C., Pralle H., Fischer J.T., Gunzer U., Pezzutto A., Weber W., Grimminger W., Preiss J., Hensel M., Fröhling S., Döhner K., Haas R., Döhner H. (2003). "*Risk-adapted postremission therapy in acute myeloid leukemia: results of the German multicenter AML HD93 treatment trial*" Leukemia **17**: 1521-1528.
93. Schnittger S., Schoch C., Kern W., Mecucci C., Tschulik C., Martelli M.F., Haferlach T., Hiddemann W., Falini B. (2005). "*Nucleophosmin gene mutations are predictors of favorable prognosis in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype*" Blood **106**: 3733-3739.

94. SEER. (2006). "*SEER Stat Fact Sheets - Acute myeloid leukemia*" National Cancer Institute.  
[http://www.seer.cancer.gov/statfacts/html/amyl.html?statfacts\\_page=amyl.html&x=16&y=5](http://www.seer.cancer.gov/statfacts/html/amyl.html?statfacts_page=amyl.html&x=16&y=5), zuletzt geändert November 2006, letzter Zugriff Oktober 2007.
95. Slovak M.L., Kopecky K.J., Cassileth P.A., Harrington D.H., Theil K.S., Mohamed A., Paietta E., Willman C.L., Head D.R., Rowe J.M., Forman S.J., Appelbaum F.R. (2000). "*Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study*" *Blood* **96**: 4075-4083.
96. Soares I., Carneiro A.V. (2002). "*Intention-to-treat analysis in clinical trials: principles and practical importance*" *Rev Port Cardiol* **21**: 1191-1198.
97. Sohal J., Phan V.T., Chan P.V., Davis E.M., Patel B., Kelly L.M., Abrams T.J., O'Farrell A.M., Gilliland D.G., Le Beau M.M., Kogan S.C. (2003). "*A model of APL with FLT3 mutation is responsive to retinoic acid and a receptor tyrosine kinase inhibitor, SU11657*" *Blood* **101**: 3188-3197.
98. Suciú S., Mandelli F., de Witte T., Zittoun R., Gallo E., Labar B., De Rosa G., Belhabri A., Giustolisi R., Delarue R., Liso V., Mirto S., Leone G., Bourhis J.H., Fioritoni G., Jehn U., Amadori S., Fazi P., Hagemeijer A., Willemze R. (2003). "*Allogeneic compared with autologous stem cell transplantation in the treatment of patients younger than 46 years with acute myeloid leukemia (AML) in first complete remission (CR1): an intention-to-treat analysis of the EORTC/GIMEMAAML-10 trial*" *Blood* **102**: 1232-1240.
99. Tallman M.S., Gilliland D.G., Rowe J.M. (2005). "*Drug therapy for acute myeloid leukemia*" *Blood* **106**: 1154-1163.
100. Thiede C., Steudel C., Mohr B., Schaich M., Schakel U., Platzbecker U., Wermke M., Bornhauser M., Ritter M., Neubauer A., Ehninger G., Illmer T. (2002). "*Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis*" *Blood* **99**: 4326-4335.
101. Vardiman J.W., Harris N.L., Brunning R.D. (2002). "*The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms*" *Blood* **100**: 2292-2302.
102. Verhaak R.G., Goudswaard C.S., van Putten W., Bijl M.A., Sanders M.A., Hagens W., Uitterlinden A.G., Erpelinck C.A., Delwel R., Lowenberg B., Valk P.J.

- (2005). "Mutations in nucleophosmin (NPM1) in acute myeloid leukemia (AML): association with other gene abnormalities and previously established gene expression signatures and their favorable prognostic significance" Blood **106**: 3747-3754.
103. Visani G., Olivieri A., Malagola M., Brunori M., Piccaluga P.P., Capelli D., Pomponio G., Martinelli G., Isidori A., Sparaventi G., Leoni P. (2006). "Consolidation therapy for adult acute myeloid leukemia: a systematic analysis according to evidence based medicine" Leuk Lymphoma **47**: 1091-1102.
104. Wang N.D., Finegold M.J., Bradley A., Ou C.N., Abdelsayed S.V., Wilde M.D., Taylor L.R., Wilson D.R., Darlington G.J. (1995). "Impaired energy homeostasis in C/EBP alpha knockout mice" Science **269**: 1108-1112.
105. Weick J.K., Kopecky K.J., Appelbaum F.R., Head D.R., Kingsbury L.L., Balcerzak S.P., Bickers J.N., Hynes H.E., Welborn J.L., Simon S.R., Grever M. (1996). "A randomized investigation of high-dose versus standard-dose cytosine arabinoside with daunorubicin in patients with previously untreated acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group study" Blood **88**: 2841-2851.
106. Wetzler M., Byrd J.C., Bloomfield C.D. (2005) "Akute und chronische myeloische Leukämie". In: Dietel, M., Suttorp, N., Zeitz, M. (Hrsg.), Harrisons Innere Medizin, S. 678-688. McGraw-Hill, New York mit ABW Wissenschaftsverlag, Berlin.
107. Wheatley K., Burnett A.K., Goldstone A.H., Gray R.G., Hann I.M., Harrison C.J., Rees J.K., Stevens R.F., Walker H. (1999). "A simple, robust, validated and highly predictive index for the determination of risk-directed therapy in acute myeloid leukaemia derived from the MRC AML 10 trial. United Kingdom Medical Research Council's Adult and Childhood Leukaemia Working Parties" Br J Haematol **107**: 69-79.
108. Whitman S.P., Archer K.J., Feng L., Baldus C., Becknell B., Carlson B.D., Carroll A.J., Mrozek K., Vardiman J.W., George S.L., Kolitz J.E., Larson R.A., Bloomfield C.D., Caligiuri M.A. (2001). "Absence of the wild-type allele predicts poor prognosis in adult de novo acute myeloid leukemia with normal cytogenetics and the internal tandem duplication of FLT3: a cancer and leukemia group B study" Cancer Res **61**: 7233-7239.
109. Wiernik P.H., Banks P.L., Case D.C., Jr., Arlin Z.A., Periman P.O., Todd M.B., Ritch P.S., Enck R.E., Weitberg A.B. (1992). "Cytarabine plus idarubicin or



- daunorubicin as induction and consolidation therapy for previously untreated adult patients with acute myeloid leukemia*" Blood **79**: 313-319.
110. Wilcoxon F. (1945). "*Individual comparisons by ranking methods*" Biometrics **1**: 80-83.
  111. Yamamoto Y., Kiyoi H., Nakano Y., Suzuki R., Koder Y., Miyawaki S., Asou N., Kuriyama K., Yagasaki F., Shimazaki C., Akiyama H., Saito K., Nishimura M., Motoji T., Shinagawa K., Takeshita A., Saito H., Ueda R., Ohno R., Naoe T. (2001). "*Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies*" Blood **97**: 2434-2439.
  112. Zittoun R.A., Mandelli F., Willemze R., de Witte T., Labar B., Resegotti L., Leoni F., Damasio E., Visani G., Papa G., et al. (1995). "*Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) and the Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMEMA) Leukemia Cooperative Groups*" N Engl J Med **332**: 217-223.

## **Danksagung**

Ich möchte mich herzlich bedanken bei allen Personen, die zum guten Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben: Bei den zahlreichen Patienten, die erst mit ihrem Einverständnis den Gewinn der vorliegenden Erkenntnisse ermöglicht haben, bei den behandelnden Ärzten, deren ruhelose Arbeit leider nur indirekt in den Zahlen erscheint, und bei den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen in der Studienzentrale, die bei der Datenerfassung maßgeblich beteiligt waren. Ferner bei meiner Doktormutter Frau Prof. Bouw, Herrn Prof. Heimpel, Herrn Prof. Reske, Herrn Prof. Glatting und meinen Eltern, die mir alle in der kritischen Phase der Arbeit (und natürlich auch sonst) mit Rat und Tat zur Seite standen. Und außerdem bei allen Freunden und Familienmitgliedern, die mit mir die Höhen und Tiefen einer wissenschaftlichen Arbeit aktiv miterlebt haben.

Danke.

# Lebenslauf

Franz Király  
Dipl.-Math. Dipl.-Inf., Arzt

Geb. 12.01.1986 in Ulm

## Adresse:

Wendelinusweg 2  
72534 Hayingen  
Tel.: 07386/227  
E-Mail: franz.kiraly@googlemail.com

## Familienstand

Ledig, keine Kinder

## Schule und Vorschule

<b>03/1989-07/1992</b>	Französischsprachiger Kindergarten Münsingen
<b>08/1992-07/1994</b>	Grundschulausbildung an Digelfeldschule Hayingen
<b>09/1994-07/1998</b>	Gymnasialausbildung an Liebfrauenschule Sigmaringen
<b>09/1998-06/2000</b>	Abitur am Gymnasium Ehingen

## Studium

<b>10/2000-11/2006</b>	Studium der Humanmedizin, Universität Ulm Klinische Schwerpunkte in Hämatologie und Nuklearmedizin Studienabschluss mit 3. Staatsexamen 11/06 Endnote: gut                      Abschlussdatum: 23.11.06
<b>10/2001-03/2004</b>	Intensivstudium Informatik (ISI), Universität Ulm Schwerpunkte in Theoretischer Informatik und Künstlicher Intelligenz Nebenfach: Medizin bis Vordiplom, danach Mathematik Studienabschluss mit Diplomprüfung 04/03 und Diplomarbeit: <i>Interagierende Inferenzsysteme</i> Endnote: sehr gut              Abschlussdatum: 16.03.04
<b>10/2003-02/2006</b>	Studium der Mathematik, Universität Ulm Schwerpunkte in Algebra und Zahlentheorie Nebenfach: Informatik Studienabschluss mit Diplomprüfung 05/05 und Diplomarbeit: <i>Die analytische Klassenzahlformel und ihre algorithmische Berechnung</i> Endnote: sehr gut              Abschlussdatum: 01.02.06

## Studienbegleitende Praktika

<b>07/00-09/00</b>	Krankenpflegedienst im Kreiskrankenhaus Riedlingen
--------------------	----------------------------------------------------

**02/03-04/03** Famulatur Allgemeinmedizin in Praxis Dres. Király/Hayingen  
**07/04-09/04** Berufsbezogenes Praktikum im Studiengang Mathematik bei  
CTE-Systems Computersysteme + Netzwerktechnik GbR  
**09/04-10/04** 1. Famulatur Innere Medizin im Kreiskrankenhaus Riedlingen  
**03/05-04/05** 2. Famulatur Innere Medizin im Kreiskrankenhaus Riedlingen  
**10/05-08/06** Praktisches Jahr an Universitätsklinik Ulm

### **Promotion**

**06/04-10/07** Promotion in der Klinik Innere Medizin III, Universität Ulm  
Thema: *Vergleich verschiedener Postremissionsstrategien bei der akuten myeloische Leukämie mit normalem Karyotyp*  
Endnote: magna cum laude Abschlussdatum: 17.07.2008

**Seit 01/07** Promotion im Institut für Reine Mathematik, Universität Ulm  
Thema: *Wilde Quotientensingularitäten auf Flächen, reguläre und semistabile Modelle von Kurven*

### **Publikationen**

F. Király, S. Reske, P. Kletting, G. Glatting. *Improving the biodistribution of CD45 antibodies by the preceding administration of the unlabelled compound: Investigation based on a compartmental description*. Preprint. 2008.