



## **Diagnostik bei chronischer myeloischer Leukämie**

Was Patienten über hämatologische, zytogenetische und molekulare Untersuchungen wissen sollten

# Impressum

## **Gemeinsame Herausgeber**

Deutsche CML-Allianz  
c/o Universitätsklinikum Jena  
info@cml-allianz.de

LeukaNET e.V.  
info@leukaemie-online.de

1. Auflage, März 2019

## **Autorin**

Dr. Cornelia Borowczak, LeukaNET e.V.

## **Medizinische und wissenschaftliche Beratung**

PD Dr. Thomas Ernst  
Prof. Dr. Susanne Saussele  
Prof. Dr. Alice Fabarius  
Prof. Dr. Torsten Haferlach  
Prof. Dr. Andreas Hochhaus

## **Redaktionelle Bearbeitung**

Melinda Kolb, Deutsche CML-Allianz

## **Gestaltung**

Klinisches Medienzentrum am Universitätsklinikum Jena | C. Berg

# Diagnostik bei chronischer myeloischer Leukämie:

## Was Patienten über hämatologische, zytogenetische und molekulare Untersuchungen wissen sollten

### Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b> . . . . .	5
<b>Vorwort</b> . . . . .	6
<b>CML-Diagnostik: Hintergrund</b> . . . . .	10
Beurteilung der Krankheitsprognose . . . . .	13
<b>Die drei verschiedenen Kontrolluntersuchungen</b> . . . . .	15
1   Hämatologische Untersuchung . . . . .	18
2   Zytogenetische Untersuchung . . . . .	20
3   Molekulargenetische Untersuchung . . . . .	22
<b>Tabellarische Zusammenfassung</b> . . . . .	25
Tabelle 2 – Parameter des Ansprechens . . . . .	25
Tabelle 3 – Häufigkeit der Kontrolluntersuchungen . . . . .	27
Tabelle 4 – Stufen des Ansprechens und Warnzeichen in der Erstlinientherapie . . . . .	28
<b>Anhang</b> . . . . .	30
<b>Literaturverzeichnis</b> . . . . .	31



## Abkürzungsverzeichnis

<b>BCR-ABL</b>	Gen
<b>CCyR</b>	complete cytogenetic remission
<b>CHR</b>	complete haematologic response
<b>CML</b>	chronische myeloische Leukämie
<b>DNA</b>	Desoxyribonukleinsäure
<b>ELN</b>	European LeukemiaNet
<b>FISH</b>	Fluoreszenz in situ Hybridisierung
<b>IS</b>	International Scale (Internationaler Standard)
<b>MMR</b>	major molecular remission (tiefe molekulare Remission)
<b>MRD</b>	minimal residual disease (minimale Resterkrankung)
<b>NGS</b>	Next-Generation-Sequencing
<b>nm</b>	Nanometer
<b>KMP</b>	Knochenmarkpunktion
<b>PCyR</b>	partial cytogenetic response (partiell zytogenetisches Ansprechen)
<b>Ph+</b>	Philadelphia-Chromosom
<b>PCR</b>	Polymerase-Kettenreaktion
<b>RT-PCR</b>	Reverse-Transkriptase-PCR oder Real-Time-PCR
<b>qRT-PCR</b>	real-time quantitative PCR (quantitative Real-Time-PCR)
<b>RNA</b>	Ribonukleinsäure
<b>TFR</b>	treatment-free remission (therapiefreie Remission)
<b>TKI</b>	Tyrosinkinaseinhibitor bzw. Tyrosinkinasehemmer

## Vorwort

Die moderne Medizin verfügt über hoch sensible diagnostische Methoden, die bei der Diagnose und der Kontrolle des Verlaufs einer Krankheit angewendet werden. Für CML-Patienten stehen drei Methoden im Vordergrund: die Untersuchung des Blutbildes, die Untersuchung der Chromosomen (Zytogenetik) und die Bestimmung des Therapieansprechens auf molekularer Ebene mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR).

PCR? Zytogenetik? Solchen und anderen Begriffen werden CML-Patienten im Verlauf ihrer Behandlung immer wieder begegnen — in Arztgesprächen, Kontrolluntersuchungen und nicht zuletzt in schriftlichen Laborbefunden. Diese Broschüre soll Patienten mit den diagnostischen Verfahren und ihren Aussagen vertraut machen. Sie soll helfen, das Verständnis über den Verlauf der Krankheit bzw. über das Ansprechen auf die Behandlung zu vertiefen.

Oft wissen der Betroffene und seine Angehörigen nicht, welche Krankheit festgestellt wurde: „Ich habe Leukämie“ ist alles, was er dazu sagen kann. Er hat nicht verstanden, dass es verschiedene Leukämiearten gibt, die völlig unterschiedlich behandelt werden müssen. Um aber zu verstehen, warum wie behandelt wird und wann welche Untersuchung durchgeführt werden sollte, **muss** der Patient wissen, woran er leidet. Nur wer sich mit seiner Erkrankung auseinandersetzt, ihre Entstehung und die dadurch verursachten gesundheitlichen Beschwerden kennt, wird bei gemeinsam mit dem behandelnden Arzt zu treffenden Therapieentscheidungen weniger Ängsten und Unsicherheiten ausgesetzt sein und idealerweise aktiv seinen Krankheitsverlauf positiv beeinflussen (z.B. durch Therapietreue und regelmäßige Kontrolluntersuchungen).





Diese Broschüre richtet sich an Patienten, denen die Aussage: „Sie haben Leukämie“ nicht reicht. Neben einer kurzen Erklärung zur Entstehung von CML soll der hauptsächliche Inhalt die verschiedenen Untersuchungsmethoden beschreiben, die in ihrer Durchführung sehr komplex sind.

Nach einer CML-Diagnose müssen sich Patienten und ihre Angehörigen in eine neue Lebenssituation hineinfinden, die sie meist völlig unvorbereitet trifft. Die Tatsache, an einem bösartigen Blutkrebs erkrankt zu sein, wird besonders in den ersten Tagen und Wochen nach der Diagnose viele Fragen und Zweifel aufkommen lassen. Die gute Nachricht aber ist, dass die hochpotenten Medikamente (Tyrosinkinasehemmer, TKI) der heutigen Zeit den meisten CML-Patienten die Chance auf ein weitgehend normales Leben geben. Bei gutem Ansprechen auf eine Therapie mit TKI entspricht die Lebenserwartung der der Gesamtbevölkerung.

CML-Patienten, die gut auf eine TKI-Behandlung ansprechen, haben eine gute Prognose und ein Leben mit einer chronischen Krankheit vor sich. Die immer wiederkehrenden diagnostischen Untersuchungen gehören zum neuen Lebensrhythmus. Um den Erfolg der Therapie zu kontrollieren oder eventuell ein Fortschreiten der Erkrankung rechtzeitig zu erkennen, müssen von Beginn an regelmäßige Untersuchungen konsequent durchgeführt werden.

**Die detaillierte Beschreibung der Methoden soll helfen zu verstehen, warum Kontrollen des Knochenmarks und des Blutes notwendig sind, wie und wie oft diese erfolgen sollen und welche Schlussfolgerungen man aus den Ergebnissen ziehen kann.**

Hierfür wurden die aktuellen veröffentlichten international gültigen Behandlungsrichtlinien, wissenschaftliche Publikationen sowie Inhalte von Wissens- und Kommunikationsplattformen zum Thema CML zusammengetragen.

Quellen mit ausführlichen Informationen rund um CML und das Leben mit CML, z.B. zum Krankheitsbild, zu Symptomen, zu den aktuellen Behandlungsmöglichkeiten und vieles mehr können Sie der Literaturliste mit weiterführenden Links am Ende dieser Broschüre entnehmen.

CML ist dank intensiver und zielgerichteter Forschung von einer immer tödlich verlaufenden Erkrankung zu einer chronischen geworden. Um mit der Therapie erfolgreich zu sein, ist jedoch die Mitarbeit des Patienten unerlässlich. Ungenügend behandelt wird sie nach wie vor tödlich enden. Mit Hilfe der in dieser Broschüre zusammengefassten Informationen ist es unser Ziel, Ihnen die Notwendigkeit regelmäßiger, nach internationalen Richtlinien empfohlenen Untersuchungen, idealerweise gut verständlich zu machen.

**Diese Broschüre ersetzt auf keinen Fall das Gespräch mit dem behandelnden Arzt!**



The background features a large, light green curved shape on the left side, which transitions into a darker green curved shape on the right. Below these, there is a red curved shape at the bottom. The text is centered within the light green area.

# **CML-Diagnostik: Hintergrund**

## CML-Diagnostik: Hintergrund

Durch diagnostische Untersuchungen wird die Art einer Erkrankung benannt und ihr anzunehmender Verlauf bestimmt. Anhand der dabei erhobenen Befunde wird eine Therapieentscheidung getroffen, die auch weitere Faktoren, wie z.B. Begleiterkrankungen, berücksichtigt. Weil CML-Patienten lebenslang Kontrolluntersuchungen durchführen lassen müssen, ist es sehr wichtig, sich mit dem Sinn und Zweck sowie mit den verschiedenen Arten und Methoden der Diagnostik vertraut zu machen.

Bevor die drei Untersuchungsmethoden und deren Aussagen über das Ansprechen auf die Therapie vorgestellt werden, ist es wichtig, einige grundlegende Informationen zu geben.



Die moderne Diagnostik ist heutzutage in der Lage, nicht nur die ggf. steigende bzw. schwindende Anzahl der unreifen weißen Blutzellen (Leukämie, griechisch für „weißes Blut“) durch ein Mikroskop zu beobachten, sondern sie ist auch fähig, im Inneren der einzelnen Zelle ihre molekularen Bestandteile zu untersuchen. Auf dieser molekularen Ebene können Labordiagnostiker im menschlichen Erbgut das veränderte Chromosom, das das bestimmende Merkmal von CML darstellt, identifizieren und mengenmäßig bestimmen.

Dieses bei CML charakteristisch auftretende, veränderte Chromosom heißt **Philadelphia-Chromosom** und entsteht durch eine sogenannte „Translokation“, d.h. Teile zwischen den Chromosomen 9 und 22 werden ausgetauscht (transloziert). Ist ein Philadelphia-Chromosom vorhanden, spricht man von einer Philadelphia-positiven CML (Ph+ CML). Bei etwa 1 von 20 CML-Patienten kann jedoch kein Philadelphia-Chromosom nachgewiesen werden.

Bei der Entstehung des Philadelphia-Chromosoms werden zwei Abschnitte menschlichen Erbmaterials zusammengefügt, die normalerweise nicht zueinander gehören. Aus der Fusion des Gens BCR von Chromosom 22 und des Gens ABL von Chromosom 9 geht auf Chromosom 22 (dem Philadelphia-Chromosom) das sogenannte **Fusionsgen BCR-ABL** hervor.

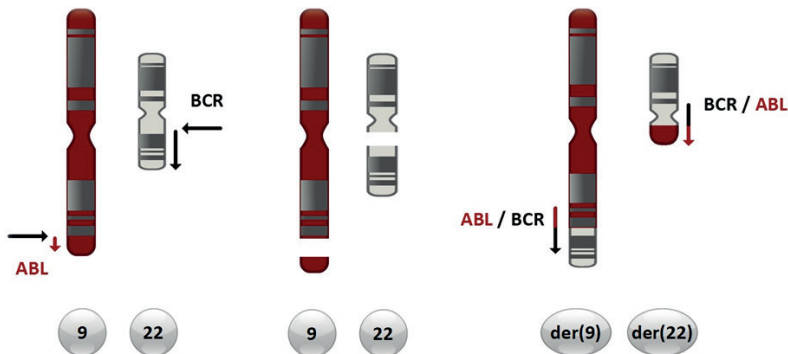
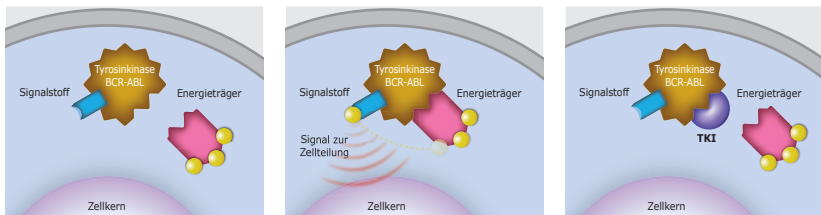


Abb. 1 Schematische Darstellung der Entstehung des Philadelphia-Chromosoms (Quelle: Prof. Dr. med. Dr. phil. T. Haferlach, MLL)

Dieses neu entstandene Gen produziert ein Eiweiß, eine **Tyrosinkinase**, das normalerweise nicht im Organismus vorkommt. Es besitzt eine sehr hohe biologische Aktivität und greift in die Regulation des Zellwachstums und der Zellteilung ein. Der Körper ist nicht in der Lage, diese unkontrollierten Vorgänge zu stoppen, so dass es zu der stark erhöhten Zahl der unreifen weißen Blutkörperchen kommt.

In erster Linie zielt die CML-Therapie darauf, die vom Fusionsgen *BCR-ABL* produzierten Tyrosinkinasen zu blockieren.



1. Tyrosinkinasen sind Eiweiße, die den Energiefluss in einer Zelle ermöglichen.

2. Die Energie aktiviert ein Signal, das die Zellteilung auslöst. So vermehren sich die Leukämiezellen.

3. TKIs blockieren die Übertragung der Energie auf die Tyrosinkinase. Das Signal zur Zellteilung bleibt damit aus. Die Leukämiezellen sterben ab, ohne sich zu vermehren.

Die eingesetzten Medikamente enthalten Wirkstoffe, die sogenannten **Tyrosinkinasehemmer** bzw. Tyrosinkinaseinhibitoren (**TKI**). Diese Hemmer setzen die hohe Aktivität des Tyrosinkinase-Eiweißes außer Kraft. Die unkontrollierte Zellvermehrung wird dadurch ausgeschaltet und die vorhandenen Leukämiezellen sterben einen natürlichen Zelltod, ohne sich weiter zu reproduzieren. Als Folge sinkt die Zahl der unreifen Zellen im Blut und im Knochenmark. Durch die **PCR-Diagnostik** [Siehe 3.4 zu molekulargenetische Untersuchungen] kann man diesen Rückgang oder eben die ausbleibende Verminderung der *BCR-ABL* enthaltenden Zellen sehr genau verfolgen.

Wenn die Behandlung der CML optimal verläuft, kann ein Teil der Patienten unter Einhaltung genau definierter Voraussetzungen die Therapie unterbrechen oder sogar dauerhaft beenden. **Kann die CML-Therapie unterbrochen bzw. dauerhaft abgesetzt werden, sind engmaschige Kontrollen außerordentlich wichtig.** Nur so kann ein Rückfall rechtzeitig erkannt und die Therapie mit einem TKI wieder aufgenommen werden.

## Beurteilung der Krankheitsprognose

Die Prognose der CML-Patienten ist vom möglichst schnellen Erreichen einer geringen **Tumorlast**, d.h. einer möglichst schnellen Verminderung der Anzahl der Leukämiezellen, abhängig. Aus diesem Grund sind u.a. **gezielte diagnostische Untersuchungen zur Risikoeinstufung des Patienten** notwendig.

Zum Zeitpunkt der Diagnose erfolgt eine Risikoeinstufung, denn verschiedene Merkmale wie Alter, Milzgröße oder die Anzahl bestimmter Blutkörperchen können das Ansprechen auf die Behandlung mit TKI und den Behandlungserfolg beeinflussen. Diese Faktoren werden in einen Risikowert, einen sogenannten „Score“, umgerechnet. Die Merkmale müssen beurteilt werden, bevor mit einer Behandlung begonnen wird.

Unter Berücksichtigung dieser Einstufung sowie möglichen Begleiterkrankungen und individuellen Therapiezielen (z.B. späteres Absetzen in einer klinischen Studie, Familienplanung, Leben mit CML bei guter Lebensqualität) wird die Entscheidung getroffen, welcher TKI für die Erstlinientherapie gewählt wird.

Zur Berechnung der Risikoeinstufung stehen vier verschiedene Scores zur Verfügung (Sokal-, EURO-, EUTOS- und ELTS-Score), die verschiedene Parameter berücksichtigen (siehe Tabelle 1).

<b>Sokal 1984</b>	<b>Euro 1998</b>	<b>EUTOS 2011</b>	<b>ELTS 2016</b>
Alter	Alter		Alter
Milzgröße	Milzgröße	Milzgröße	Milzgröße
Blasten	Blasten		Blasten
Blutplättchen	Blutplättchen		Blutplättchen
	Eosinophile		
	Basophile	Basophile	

*Tabelle 1: Prognose-Scores bei CML und dafür verwendete Parameter (Kenngrößen) aus [https://www.leukaemie-hilfe.de/nc/broschuerenangebot.html?tx\\_drblob\\_pi1%5BdownloadUId%5D=78](https://www.leukaemie-hilfe.de/nc/broschuerenangebot.html?tx_drblob_pi1%5BdownloadUId%5D=78)*

The image features a large, light green circle on the left side, which is partially cut off by the edge of the frame. To the right of this circle is a dark green vertical bar. At the bottom, there is a red curved shape that also appears to be part of a larger graphic element. The text is centered within the light green circle.

# **Die drei verschiedenen Kontrolluntersuchungen**

## Die drei verschiedenen Kontrolluntersuchungen

In ihrer Summe bilden das Blutbild (hämatologische Untersuchung), die Zytogenetik und die Molekulargenetik den Werkzeugkasten der modernen CML-Diagnostik und der Verlaufskontrollen. Durch diese drei Methoden wird die Diagnose bestätigt und der Verlauf der Krankheit in bestimmten Intervallen gemessen.

Wie bereits erwähnt wird die CML von einer Genveränderung in einer blutbildenden Stammzelle verursacht und führt zu einer unkontrollierten Vermehrung weißer Blutkörperchen. Aus diesem Grund werden sowohl das Blut als auch das menschliche Erbgut, d.h. die Gene der blutbildenden Zellen, untersucht.

Die drei Arten von Untersuchung entsprechen drei unterschiedlichen Fragestellungen:

- **Hämatologische Untersuchung:**  
Wie stellt sich das Blutbild des Patienten dar?
- **Zytogenetische Untersuchung:**  
Ist das Philadelphia-Chromosom unter dem Mikroskop zu finden?
- **Molekulare Untersuchung:**  
Ist das Fusionsgen *BCR-ABL* nachweisbar?

Diese Fragen gilt es sowohl bei der Erstdiagnose als auch bei der Kontrolle des weiteren Krankheitsverlaufes zu beantworten. Weil diese Untersuchungen auf verschiedenen Ebenen durchgeführt werden, sind die Ergebnisse in unterschiedlicher Weise aussagekräftig.

Erstens wird bei der **hämatologischen Untersuchung** festgestellt, ob die Anzahl der verschiedenen Arten von Blutkörperchen im normalen Bereich liegt oder ob sie vom normalen Blutbild abweicht. Eine stark erhöhte bzw. verminderte Anzahl von der einen oder anderen Art von Blutkörperchen weist auf eine Krankheit hin. Bei einer CML ist die Anzahl einer bestimmten Art von weißen Blutkörperchen erhöht.

Ob es sich bei einem erhöhten Wert aber tatsächlich um eine CML handelt, kann erst bei einer **zytogenetischen Untersuchung** festgestellt werden. Statt der Beschaffenheit des Blutes werden jetzt durch eine Chromosomenanalyse die Chromosomen der weißen Blutkörperchen untersucht. In 90% der Fälle von CML weisen die Chromosomen, die aus Genen bestehen, eine charakteristische Chromosomenveränderung (Mutation) auf: das sogenannte Philadelphia-Chromosom, das das *BCR-ABL*-Gen enthält (siehe oben).

Durch eine zytogenetische Untersuchung kann zwar das krankhaft veränderte Chromosom charakterisiert werden, aber nur durch eine **molekulargenetische Untersuchung** kann die Menge der vorhandenen *BCR-ABL*-Gene und somit die Krankheitsaktivität bzw. der Krankheitsverlauf genauestens beurteilt werden. Hierfür wird die hochempfindliche Methode **der Polymerase-Kettenreaktion (PCR; polymerase chain reaction)** angewendet.





Wie oft und zu welchen Zeitpunkten die Untersuchungen notwendig sind, wurde in der Therapieleitlinie des European LeukemiaNet (ELN) von 2013 definiert. Diese Leitlinie wird regelmäßig den neuesten Forschungs- und Studienergebnissen angepasst; eine Aktualisierung wird derzeit vorbereitet. Die empfohlenen Zeitpunkte und die Häufigkeit der Kontrolluntersuchungen sind abschließend in einer Tabelle zusammengefasst (siehe Tabelle 3).

Mit Hilfe der drei Kontrolluntersuchungen wird das therapeutische Ansprechen, d.h. die messbare Reaktion des Körpers auf die Behandlung, auf drei verschiedenen Ebenen gemessen.

- **Hämatologisches Ansprechen:**  
Normalisierung der Blutwerte und der Milzgröße
- **Zytogenetisches Ansprechen:**  
Reduktion des Philadelphia-Chromosoms im Knochenmark
- **Molekulares Ansprechen:**  
Senkung der Anzahl der Leukämiezellen (Tumorlast) um den Faktor 1.000

Experten haben entsprechende Hilfsgrößen (sog. Parameter) festgelegt, um das messbare Ansprechen auf jeder Ebene und somit den Therapieerfolg zu beurteilen. Diese Ansprechkriterien sowie die Untersuchungsarten sind im Folgenden erläutert und zum Schluss tabellarisch zusammengefasst (siehe Tabelle 2).

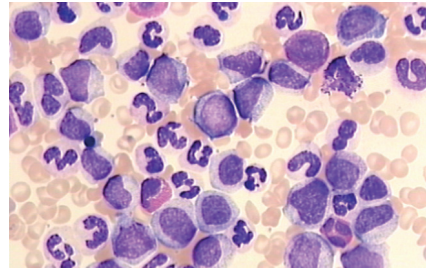
Werden alle Kriterien des Ansprechens erfüllt, hat der Patient „den sicheren Hafen der Therapie“ erreicht, und die Ärzte sprechen von einer **minimalen Resterkrankung** (MRD; minimal residual disease). Der Begriff **Remission** bezeichnet im Allgemeinen einen Rückgang der Erkrankung. Es wird zwischen Voll- (komplette) und Teil- (partielle) Remissionen unterschieden. **Eine Remission ist zwar ein wünschenswertes Ergebnis, ist aber nicht mit einer Heilung gleichzusetzen!**

## 1 | Hämatologische Untersuchung

**Bei einer hämatologischen Untersuchung, d.h. der Bestimmung des Blutbildes, wird eine aus einer Armvene entnommene Blutprobe auf seine zelluläre Zusammensetzung untersucht.** Der Arzt sieht, welche Blutkörperchen in ihrer Anzahl vom normalen Blutbild abweichen. In der Regel sind bei der CML die Zahl der weißen Blutkörperchen (Leukozyten) und die der Blutplättchen (Thrombozyten) stark erhöht.

Eine CML kann man aber allein aus dieser Untersuchung nicht diagnostizieren. Charakteristisch für die CML ist eine genetische Veränderung, das sogenannte Philadelphia-Chromosom (siehe Kapitel 1). Diese Veränderung im Erbgut kann aber mit einem Blutbild nicht nachgewiesen werden. Der behandelnde Arzt wird dazu eine Knochenmarkpunktion (KMP) veranlassen, um das veränderte Chromosom im Rahmen einer zytogenetischen Untersuchung nachzuweisen.

*Abb. 3 Differentialblutbild einer CML  
(Quelle: Prof. Dr. med. Dr. phil. T. Haferlach, MLL)*



## Parameter des hämatologischen Ansprechens

Bei Leukämiepatienten wird das hämatologische Ansprechen anhand der mikroskopischen Untersuchung des Blutbildes und des Knochenmarks beurteilt. **Ein komplettes hämatologisches Ansprechen (CHR; complete hematologic response) liegt vor, wenn sich das Blutbild und das Knochenmark normalisiert haben und keine Krankheitszeichen mehr vorhanden sind.** Bei einer partiellen hämatologischen Remission kommt es nur zu einer Verbesserung der Blutwerte, des Knochenmarks und/oder der klinischen Symptome. Bei der Mehrheit von neu diagnostizierten CML-Patienten in chronischer Phase wird spätestens nach 3 Monaten Behandlung mit einem TKI eine komplette hämatologische Remission erreicht.

Die Untersuchung des Blutbildes allein ist allerdings nicht ausreichend, um eine Aussage über den Behandlungserfolg treffen zu können, da keine direkte Beurteilung der krankheitsspezifischen Faktoren (v.a. Philadelphia-Chromosom, *BCR-ABL*-Fusionsgen) möglich ist.

## 2 | Zytogenetische Untersuchung

Bei einer zytogenetischen Untersuchung wird das charakteristische Merkmal der CML, das Philadelphia-Chromosom, sowie mögliche zusätzliche Veränderungen nachgewiesen und mengenmäßig bestimmt. Da für diese Untersuchung sich teilende Zellen benötigt werden, muss dem Patienten Knochenmark entnommen werden, denn im Blut findet man diese Zellen in der Regel nicht.

Bei zytogenetischen Untersuchungen werden die Chromosomen meist mit dem Lichtmikroskop betrachtet. Mit Hilfe dieses Mikroskops lassen sich Zellen 10–1000fach vergrößern, so dass sie für das menschliche Auge sichtbar werden. Als erstes wird unter dem Lichtmikroskop nach möglichst vielen sich teilenden Zellen gesucht. Jede Zelle enthält in ihrem Zellkern die menschliche Erbsubstanz, die aus 46 Chromosomen besteht. Bei einer sich teilenden Zelle werden diese Chromosomen sichtbar. Ein Spezialist kann genetisch veränderte Chromosomen erkennen. Um ein aussagekräftiges Ergebnis zu erhalten, sollten mindestens 20 sich teilende Zellen beurteilt werden. Im Befundbericht wird die Zahl der tatsächlich untersuchten Zellen dokumentiert.

Bei der zytogenetischen Untersuchung wird der sogenannte **Karyotyp** des Patienten bestimmt. Ein Karyotyp ist das Erscheinungsbild des kompletten Chromosomensatzes, d.h. Anzahl und Größe aller Chromosomen. Hieraus lassen sich wichtige Aussagen über den zukünftigen Verlauf und das voraussichtliche Ansprechen auf die Therapie ableiten. Werden außer dem Philadelphia-Chromosom weitere genetische Veränderungen gefunden (sogenannte **Zusatzaberrationen**), muss dies bei der Wahl der Therapie berücksichtigt werden.

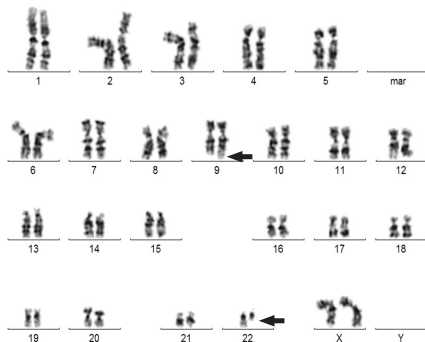


Abb. 4 Philadelphia-Chromosom 22q- bei t(9;22). Verkürzter langer Arm des Chromosoms 22 und verlängerter langer Arm des Chromosoms 9. (Quelle: Prof. Dr. med. Dr. phil. T. Haferlach, MLL)

## Parameter des zytogenetisches Ansprechens

**Bei einer kompletten zytogenetischen Remission (CCR; complete cytogenetic remission) kann in der Chromosomenanalyse aus dem Knochenmark kein Philadelphia-Chromosom mehr nachgewiesen werden.** Eine partielle zytogenetische Remission liegt vor, wenn 35% oder weniger der untersuchten Knochenmarkzellen ein Philadelphia-Chromosom tragen. Wenn wenigstens eine der untersuchten Zellen kein Philadelphia-Chromosom mehr zeigt, spricht man von einer minimalen zytogenetischen Remission.

Die Chromosomenanalyse sollte an mindestens 20 Zellen erfolgen, um sichere Aussagen über die therapiebedingte Senkung der Anzahl der Philadelphia-Chromosom-positiven Zellen machen zu können. Darüber hinaus liegt die Bedeutung der zytogenetischen Untersuchungen darin, im Verlauf der CML neben dem Philadelphia-Chromosom eventuell neu aufgetretene Chromosomenveränderungen aufzufinden. Dies ist häufig beim Fortschreiten der Erkrankung in die akzelerierte Phase oder Blastenkrise der Fall; so sind bei ca. 70% der Patienten kurz vor der Blastenkrise zusätzliche Chromosomenveränderungen nachweisbar.

Die Zytogenetik hat eine hohe Aussagekraft, da sie einen direkten Zusammenhang mit dem Philadelphia-Chromosom herstellt. Da die Empfindlichkeit der Methode aber nur 3-5% beträgt (Nachweis ab 3-5 Leukämiezellen pro 100 Zellen), können sich auch bei Vorliegen einer kompletten zytogenetischen Remission noch sehr viele Leukämiezellen im Körper befinden.

Das zytogenetische Ansprechen ist ein sehr guter Prognose-Parameter. Daher ist eine zytogenetische Untersuchung mit Knochenmarkpunktion im Verlauf der Behandlung bis zum Erreichen einer kompletten zytogenetischen Remission zu empfehlen. Ist eine komplette zytogenetische Remission erreicht, sind keine weiteren Knochenmarkpunktionen mehr notwendig, vorausgesetzt es gibt keine ansteigenden Werte bei der molekulargenetischen Untersuchung.

### 3 | Molekulargenetische Untersuchung

**Durch die viel empfindlichere Polymerase-Kettenreaktion-Methode (PCR) wird aus dem Knochenmark oder einer Blutprobe das *BCR-ABL*-Fusionsgen nachgewiesen und mengenmäßig bestimmt.**

Bei einer molekularbiologischen Analyse wird Ribonukleinsäure (RNA) in der entnommenen Probe untersucht. In der Zelle wird ein spezifischer DNA-Abschnitt, der als Vorlage dient, in RNA transkribiert (umgeschrieben). So können nach einer PCR winzigste Bestandteile des menschlichen Erbguts beurteilt werden, obwohl der Durchmesser der DNA nur ca. 2 Nanometer (nm) (2 Millionstel-Millimeter oder  $2 \times 10^{-9}$  Meter) beträgt. Mit Hilfe der PCR lassen sich kleinste Mengen an Erbinformationen in kurzer Zeit stark vervielfältigen, so dass auch das *BCR-ABL*-Gen so oft kopiert wird, bis es in ausreichender Menge vorliegt, dass es eindeutig nachgewiesen werden kann. Diese *BCR-ABL*-Kopien nennt man Transkripte.

Man unterscheidet zwischen **qualitativer** und **quantitativer PCR**. Während die qualitative PCR das *BCR-ABL*-Gen nachweist, dient die quantitative PCR der mengenmäßigen Bestimmung des *BCR-ABL*-Gens. Die quantitative PCR ist ein Maß für die Beurteilung der Krankheitsaktivität und dient der Verlaufskontrolle. Der gemessene Wert drückt aus, wieviel Prozent der Blutzellen im Vergleich zu gesunden Blutzellen *BCR-ABL* tragen, also Leukämiezellen sind. Bei der Erstdiagnose wird der Wert relativ hoch (bis maximal 100%) sein. Im Verlauf der Therapie wird er immer weiter sinken und sich im Idealfall immer mehr der 0% Grenze nähern.



## Parameter des molekularen Ansprechens

Sollen das Ansprechen des Patienten auf die Behandlung sowie ein eventueller Krankheitsrückfall mit Hilfe der drei genannten Untersuchungsmethoden beurteilt werden, ist dies durch die sehr empfindlichen molekulargenetischen Analysen (quantitative PCR) am genauesten möglich.

**Ein gutes molekulares Ansprechen (MMR; major molecular remission) liegt vor, wenn die Tumorlast (d.h. die Anzahl der Zellen, die das *BCR-ABL*-Fusionsgen enthalten) verglichen mit dem Ausgangswert mindestens um den Faktor 1.000 gesenkt wurde. Man nennt diesen Wert MR<sup>3</sup>.**

Dies entspricht einem Verhältnis von *BCR-ABL*-Transkripten zu einem Kontrollgen von weniger als oder genau 0,1% nach dem Internationalen Standard (IS). Viele Patienten sprechen noch besser an, zeigen z.B. MR<sup>4</sup> ( $\leq 0,01\%$  *BCR-ABL* nach IS) oder MR<sup>4.5</sup> ( $\leq 0,0032\%$  *BCR-ABL* nach IS).

Das Verfahren der molekulargenetischen Untersuchungen mittels PCR ist zwischen verschiedenen Laboren nur nach Standardisierung vergleichbar. Untersuchungen zur Verlaufskontrolle sollten daher idealerweise immer im selben standardisierten Labor erfolgen.



# Tabellarische Zusammenfassung

Das Ansprechen und somit der Therapieerfolg wird anhand der oben skizzierten Hilfsgrößen (Parameter) bemessen. Hierbei wurden von Experten Begriffe definiert, die üblicherweise auch auf Labor- und Arztberichten Verwendung finden. Die folgenden Tabellen tragen diese Begriffe und Parameter aus verlässlichen Quellen zusammen. Der behandelnde Arzt wird zu verschiedenen Zeitpunkten Untersuchungen veranlassen, um die Reaktion des Körpers auf die Erkrankung und die Behandlung zu überwachen.



## Tabelle 2 – Parameter des Ansprechens

Tabelle 2 zeigt, wie Laborwerte aussehen und die empfohlene Häufigkeit der Kontrollen. Die Überwachung kann mit Hilfe von molekularen oder zytogenetischen Tests oder beidem erfolgen.

REMISSION	MESSWERTE	VERFAHREN
<b>Hämatologisch</b> Komplett (CHR)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Thrombozyten &lt; 450.000/µl</li> <li>• Leukozyten &lt; 10.000/µl</li> <li>• Differenzialblutbild: keine unreifen Granulozyten und &lt; 5 % Basophile</li> <li>• Milz nicht tastbar</li> </ul>	Blutuntersuchung bei Diagnosestellung. Danach alle 15 Tage, bis das komplette hämatologische Ansprechen erreicht und bestätigt wurde.  Hämatologischer Test mindestens alle 3 Monate oder bei Bedarf.
<b>Zytogenetisch</b>  Keine	> 95 % der Zellen mit Philadelphia-Chromosom	Zytogenetischer Test am Knochenmark bei Diagnosestellung, nach 3, 6 und 12 Monaten, bis das komplette zytogenetische Ansprechen erreicht und bestätigt wurde. Sofern molekulare Tests das Erreichen einer MMR ergeben haben, ist eine zytogenetische Untersuchung des Knochenmarks nach 12 Monaten nur dann erforderlich, wenn standardisierte molekulare Tests nicht zur Verfügung stehen.  Bei Warnzeichen alle zytogenetischen und molekularen Tests in bis zu monatlichen Abständen wiederholen.  Bei Therapieversagen oder Fortschreiten in die akzelerierte Phase oder Blastenkrise sind eine zytogenetische Untersuchung des Knochenmarks, molekulare Untersuchung (PCR) und Mutationsanalyse durchzuführen.
Minimal	66 – 95 % der Zellen mit Philadelphia-Chromosom	
Gering	36 – 65 % der Zellen mit Philadelphia-Chromosom	
Partiell (PCyR)	1 – 35 % der Zellen mit Philadelphia-Chromosom	
Komplett (CCyR)*	Keine Zellen mit Philadelphia-Chromosom (in mindestens 20 Zellen)	

Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite ►

REMISSION	MESSWERTE	VERFAHREN
<b>Molekular</b>		
Gut (MMR)	$\leq 0,1\%$ <i>BCR-ABL</i> auf der internationalen Skala (IS)	Molekularer Test (PCR): Alle 3 Monate, bis eine MMR ( <i>BCR-ABL</i> $\leq 0,1\%$ ) erreicht und bestätigt wurde. Danach mindestens alle 3–6 Monate.
Tiefe molekulare Remission MR <sup>4</sup>	Entweder nachweisbare Krankheit mit $< 0,01\%$ <i>BCR-ABL</i> (IS) oder nicht nachweisbare Krankheit mit $> 10.000$ <i>ABL</i> -Genkopien in der Probe	
MR <sup>4,5</sup>	Entweder nachweisbare Krankheit mit $< 0,0032\%$ <i>BCR-ABL</i> (IS) oder nicht nachweisbare Krankheit mit $> 32.000$ <i>ABL</i> -Transkripte in der Probe	
Nicht nachweisbar	Der PCR-Test kann kein <i>BCR-ABL</i> -Gen im Blut mehr nachweisen	
<b>Mutationsanalyse</b>	Kein Vorliegen von Mutationen	Die Mutationsanalyse mit Hilfe der Sequenzierung nach Sanger (eine Methode zum Nachweis von Mutationen) wird nur bei Fortschreiten der Erkrankung, Therapieversagen und Warnzeichen empfohlen.

Tabelle 2 aus: <http://www.cmladvocates.net/education/eln-recommendations/393>

$\leq$  bedeutet weniger als oder gleich;  $>$  bedeutet mehr als

\* Dies kann auch mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) gemessen werden – einer weiteren Methode, Philadelphia-Chromosomen in Blutzellen festzustellen.

## Tabelle 3 – Häufigkeit der Kontrolluntersuchungen

Üblicherweise werden von Experten für die Verlaufskontrollen durch die oben genannte Methoden folgende Untersuchungszeitpunkte empfohlen.

Untersuchung	Hämatologisch (Blutbild)	Zytogenetisch (Knochenmark)	Molekular (Blut oder Knochenmark)
bei Erst-diagnose	Ja	Ja	ja (Multiplex PCR)
innerhalb der ersten 3 Monate	alle 2 Wochen bis zur kompletten hämatologischen Remission		
nach 3 Monaten	ja	ja	ja (qRT-PCR aus Blut oder Knochenmark)
nach 6 Monaten	Ja	Ja	ja (qRT-PCR aus Blut oder Knochenmark)
Später	alle 3 Monate wenn klinisch erforderlich	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alle 6 Monate bis zur kompletten zytogenetischen Remission</li> <li>• bei Vorliegen von Resistenz gegen TKI</li> <li>• Bei unklarer Zytopenie (Zellzahlverminderung)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alle 3 Monate bis zur majoren molekularen Remission (MMR), dann alle 3-6 Monate</li> <li>• nach Absetzen (innerhalb einer Studie) alle 4 Wochen im 1. Halbjahr, alle 6 Wochen im 2. Halbjahr, danach alle 3 Monate</li> </ul>

Tabelle 3 aus: <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/chronische-myeloische-leukaemie-cml/@@view/html/index.html>

## Tabelle 4 – Stufen des Ansprechens und Warnzeichen in der Erstlinientherapie

Mit Hilfe der Kontrolluntersuchungen wird das Ansprechen auf die Therapie bestimmt. Dabei unterscheidet man Begriffe wie optimales Ansprechen, Warnzeichen und Therapieversagen. In Tabelle 4 sind die Kriterien für das Ansprechen für die Erstlinientherapie dargestellt.

Zeit	Optimales Ansprechen	Warnzeichen	Therapieversagen
<b>Bei Diagnose</b>	(Trifft hier nicht zu)	Hohes Risiko laut Sokal-/ EUTOS-/ Hasford-Score oder zusätzliche „Major-Route“-Chromosomenveränderungen in Zellen mit dem Philadelphia-Chromosom*	(Trifft hier nicht zu)
<b>Nach 3 Monaten</b>	$BCR-ABL \leq 10\%$ im PCR-Test und/oder Zellen mit Philadelphia-Chromosom $\leq 35\%$ im zytogenetischen Test	$BCR-ABL > 10\%$ im PCR-Test und/oder Zellen mit Philadelphia-Chromosom 36–95% im zytogenetischen Test	Kein komplettes hämatologisches Ansprechen, und/oder Zellen mit Philadelphia-Chromosom $> 95\%$ im zytogenetischen Test
<b>Nach 6 Monaten</b>	$BCR-ABL < 1\%$ im PCR-Test und/oder keine Zellen mit Philadelphia-Chromosom im zytogenetischen Test	$BCR-ABL 1 - 10\%$ im PCR-Test und/oder Zellen mit Philadelphia-Chromosom 1–35% im zytogenetischen Test	$BCR-ABL > 10\%$ im PCR-Test und/oder Zellen mit Philadelphia-Chromosom $> 35\%$ im zytogenetischen Test
<b>Nach 12 Monaten</b>	$BCR-ABL \leq 0,1\%$ im PCR-Test	$BCR-ABL 0,1 - 1\%$ im PCR-Test	$BCR-ABL > 1\%$ im PCR-Test und/oder mindestens 1 Zelle mit Philadelphia-Chromosom im zytogenetischen Test

Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite ►

Zeit	Optimales Ansprechen	Warnzeichen	Therapieversagen
<b>Danach und jederzeit während der Behandlung</b>	<i>BCR-ABL</i> ≤ 0,1% im PCR-Test	Zusätzliche „Major-Route“-Chromosomenveränderungen in Zellen, die das Philadelphia-Chromosom nicht aufweisen (z. B. Auffälligkeiten in Chromosom 7 ohne Veränderungen in Chromosom 9 und 22)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Verlust des kompletten hämatologischen Ansprechens, des kompletten zytogenetischen Ansprechens oder der MMR**</li> <li>• Mutationen</li> <li>• zusätzliche „Major-Route“-Chromosomenveränderungen in Zellen mit dem Philadelphia-Chromosom</li> </ul>

Tabelle 4 aus: <http://www.cmladvocates.net/education/elN-recommendations/393>

\* Zellen mit Philadelphia-Chromosom werden auch Phpositive Zellen oder Ph+ Zellen genannt; Zellen ohne Philadelphia-Chromosom werden auch Phnegative Zellen oder Ph- Zellen genannt;

\*\* Der Verlust der MMR muss in zwei aufeinanderfolgenden molekularen Tests bestätigt werden, wobei einer davon eine BCR-ABL-Menge ≥ 1% nachweist

## Anhang

### **Mehr deutschsprachige Informationen zum Thema CML finden Sie unter:**

- Leukämie-Online (Leukanet e.V.), [www.leukaemie-online.de](http://www.leukaemie-online.de)
- Deutsche Leukämie- & Lymphomhilfe e.V., [www.leukaemie-hilfe.de](http://www.leukaemie-hilfe.de)
- Elternverein für Kinder mit CML e.V., [www.cml-bei-kindern.de](http://www.cml-bei-kindern.de)
- Deutsche CML-Studiengruppe, [www.kompetenznetz-leukaemie.de](http://www.kompetenznetz-leukaemie.de)
- Deutsche CML Allianz, [www.cml-allianz.de](http://www.cml-allianz.de)
- Manchmal ein Kunststück, <http://www.kleines-kunststueck.de>
- LEBEN mit chronische myeloischer Leukämie, [www.leben-mit-cml.de](http://www.leben-mit-cml.de) (Novartis)
- Krebs.de – Chronische Myeloischer Leukämie, <https://www.krebs.de/krebsarten/cml/therapie> (Bristol-Myers Squibb)

### **Mehr englischsprachige Informationen finden Sie hier:**

- CML Advocates Network, [www.cmladvocates.net](http://www.cmladvocates.net)
- International Chronic Myeloid Leukemia Foundation, [www.cml-foundation.org](http://www.cml-foundation.org)
- My PCR – Resources for PCR Monitoring and Testing for CML, <http://mypcr.org>
- FACES of COURAGE and HOPE: Journeys of CML patients <http://www.facesofcourageandhope.com/>

Diese Auflistung erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

## Literaturverzeichnis

- Brümmendorf, T. H. (2014). *Molekular zielgerichtete Therapie der chronischen myeloischen Leukämie (CML)*: Uni-Med.
- Cross, N. C., & Hochhaus, A. (2016). Standardization of Molecular Monitoring for Chronic Myeloid Leukemia. In R. Hehlmann (Ed.), *Chronic Myeloid Leukemia* (pp. 89-98): Springer, Cham.
- Cross, N. C., White, H. E., Colomer, D., Ehrencrona, H., Foroni, L., Gottardi, E., . . . Hochhaus, A. (2015). Laboratory recommendations for scoring deep molecular responses following treatment for chronic myeloid leukemia. *Leukemia*, 29(5), 999-1003. doi:10.1038/leu.2015.29
- Fabarius, A., Leitner, A., Hochhaus, A., Muller, M. C., Hanfstein, B., Haferlach, C., . . . the German CML Study Group (2011). Impact of additional cytogenetic aberrations at diagnosis on prognosis of CML: long-term observation of 1151 patients from the randomized CML Study IV. *Blood*, 118(26), 6760-6768. doi:10.1182/blood-2011-08-373902
- Franke, G.-N., Maier, J., Wildenberger, K., Cross, M., Frank, O., Giles, F., . . . Lange, T. (2015). Quantification of BCR-ABL with Digital PCR Results in a Significantly Lower Rate of Deep Molecular Responses When Compared to RT-qPCR in CML Patients Treated in the ENEST1st Trial. ASH Annual Meeting Abstract; Retrieved 14.03.2019 <https://www.onkodin.de/e20556/e20633/e102275/e102334/e102544>
- Hehlmann, R. (Ed.) (2016). *Chronic Myeloid Leukemia*: Springer International Publishing.
- Hochhaus, A. (Ed.) (2001). *Chronische myeloische Leukämie : Biologie, Diagnostik, Klinik, Therapie* (1. Aufl ed.). Bremen u.a.: UNI-MED-Verl.
- Hochhaus, A., Ernst, T., Ziermann, J., Eigendorff, E., & La Rosée, P. (2012). Chronische myeloische Leukämie: Heilung durch medikamentöse Therapie? *Der Onkologe*, 18(12), 1105-1114. doi:10.1007/s00761-012-2352-5
- Marin, D., Milojkovic, D., Olavarria, E., Khorashad, J. S., de Lavallade, H., Reid, A. G., . . . Apperley, J. F. (2008). European LeukemiaNet criteria for failure or suboptimal response reliably identify patients with CML in ear-

ly chronic phase treated with imatinib whose eventual outcome is poor. *Blood*, 112(12), 4437-4444. doi:10.1182/blood-2008-06-162388

Muller, M. C., Cross, N. C., Erben, P., Schenk, T., Hanfstein, B., Ernst, T., . . . Hochhaus, A. (2009). Harmonization of molecular monitoring of CML therapy in Europe. *Leukemia*, 23(11), 1957-1963. doi:10.1038/leu.2009.168

Soverini, S., De Benedittis, C., Machova Polakova, K., Brouckova, A., Horner, D., Iacono, M., . . . Martinelli, G. (2013). Unraveling the complexity of tyrosine kinase inhibitor-resistant populations by ultra-deep sequencing of the BCR-ABL kinase domain. *Blood*, 122(9), 1634-1648. doi:10.1182/blood-2013-03-487728

Steggmann, J. L., Bacarani, M., Breccia, M., Casado, L. F., Garcia-Gutierrez, V., Hochhaus, A., . . . Clark, R. E. (2016). European LeukemiaNet recommendations for the management and avoidance of adverse events of treatment in chronic myeloid leukaemia. *Leukemia*, 30(8), 1648-1671. doi:10.1038/leu.2016.104

Wang, W., Cortes, J. E., Tang, G., Khoury, J. D., Wang, S., Bueso-Ramos, C. E., . . . Hu, S. (2016). Risk stratification of chromosomal abnormalities in chronic myelogenous leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitor therapy. *Blood*, 127(22), 2742-2750. doi:10.1182/blood-2016-01-690230

Ziegler, P. (2014). Grundlagen. In T. H. Brümmendorf (Ed.), *Molekular zielgerichtete Therapie der chronischen myeloischen Leukämie (CML)* (1. Auflage ed., pp. 22-31). Bremen: Uni-Med.

<http://ch.universimed.com/fachthemen/613>

<http://kampf-gegen-leukaemie.de/tl/Leuk.ae.mie-genauer-erkl.ae.rt.htm>

[http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/16/biochem/pcr/pcr\\_einfuehrung/einfuehrung.vlu/Page/vsc/de/ch/16/biochem/pcr/pcr\\_einfuehrung/einfuehrung2.vscml.html](http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/16/biochem/pcr/pcr_einfuehrung/einfuehrung.vlu/Page/vsc/de/ch/16/biochem/pcr/pcr_einfuehrung/einfuehrung2.vscml.html)

<http://www.cmladvocates.net/education/elN-recommendations/393#meilensteine>

<http://www.leitlinien.de/glossar/sensitivitaet-spezifitaet>

<http://www.leukaemie-online.de>



[http://www.leukemia-net.org/content/leukemias/mds/recommendations/index\\_eng.html](http://www.leukemia-net.org/content/leukemias/mds/recommendations/index_eng.html)

[http://www.molekulargenetik.net/index.php?article\\_id=62](http://www.molekulargenetik.net/index.php?article_id=62)

<http://www.onkodin.de/e20556/e20633/e102275/e102334/e102544>

<http://www.wherereyouontheis.com/pdfs/cross.pdf> <http://www.dna-sequenzierung.com/sanger-sequenzierung>

<http://www.zytogenetikforum.at/html/index.php/molekulare-zytogenetik/66-fish-verschiedene-techniken>

<https://www.cml-foundation.org/index.php/science-education-mobile/virtual-education-mobile/777-vep-20>

[https://www.journalonko.de/news/anzeigen/Standardisierte\\_Labordiagnostik\\_\\_CML](https://www.journalonko.de/news/anzeigen/Standardisierte_Labordiagnostik__CML)

[https://www.kompetenznetz-leukaemie.de/content/aerzte/diagnostik/neue\\_diagnoseverfahren/ngs/](https://www.kompetenznetz-leukaemie.de/content/aerzte/diagnostik/neue_diagnoseverfahren/ngs/)

<https://www.leben-mit-cml.de/therapieerfolg-messen/molekulares-ansprechen/interview-pcr-diagnostik>

[https://www.leukaemie-hilfe.de/download-informationen.html?tx\\_drblob\\_pi1%5BshowUid%5D=78&tx\\_drblob\\_pi1%5BbackPid%5D=86&cHash=9f4e74a2ef525a6336e7a11b421c70ea](https://www.leukaemie-hilfe.de/download-informationen.html?tx_drblob_pi1%5BshowUid%5D=78&tx_drblob_pi1%5BbackPid%5D=86&cHash=9f4e74a2ef525a6336e7a11b421c70ea)

<https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/chronische-myeloische-leukaemie-cml/@@view/html/index.html>

## **Bildquellenverzeichnis:**

Titelbild: Anna Schroll  
Seite 6-7: Alexander Rath@Fotolia.com  
Seite 10: Yuri Arcurs@Fotolia.com  
Seite 11: Quelle: Prof. Dr. med. Dr. phil. T. Haferlach, MLL  
Seite 12: Universitätsklinikum Jena  
Seite 16: nicolas\_@gettyimages  
Seite 18: Quelle: Prof. Dr. med. Dr. phil. T. Haferlach, MLL  
Seite 20: Quelle: Prof. Dr. med. Dr. phil. T. Haferlach, MLL  
Seite 23: Anna Schroll

## Notizen

Dotted lines for taking notes.

---

## Notizen

A series of horizontal dotted lines for taking notes.



**Leukämie**  
online.de

