

Medizinische Klinik A der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Klinik für Hämatologie, Onkologie und Klinische Immunologie

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Rainer Haas

**Allogene periphere Blutstammzelltransplantation nach myeloablativer
Konditionierung bei Patienten mit prognostisch ungünstigen hämatologischen
Neoplasien an der Medizinischen Klinik A der Heinrich-Heine-Universität**

Düsseldorf

Dissertation

**zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Medizin**

**Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf**

vorgelegt von

Nikola Schmittner

2008

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Bernd Nürnberg

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. Guido Kobbe

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. med. Arndt Borkhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 19./21./26.11.2008

Abkürzungsverzeichnis

CFU =	Colony forming units
BFU =	Burst forming units
IL =	Interleukin
SCF =	Stammzellfaktor
CSF =	Koloniestimulierender Faktor
EPO =	Erythropoetin
M=	Monozyten
Mega =	Megakaryozyten
E=	Erythrozyten
AML=	Akute myeloische Leukämie
ALL=	Akute lymphatische Leukämie
CML=	Chronisch myeloische Leukämie
CLL=	Chronisch lymphatische Leukämie
MDS=	Myelodysplastische Syndrome
FLT=	FMS-like tyrosine kinase
RTK=	Rezeptor–Tyrosinkinase
TM=	Transmembrane Domäne
JM=	Juxtamembranöse Domäne
PTK1=	Protein–Tyrosinkinase-Domäne 1
KI=	Kinase–Insert-Domäne
PTK2=	Protein–Tyrosinkinase-Domäne 2
UV=	Ultraviolett
DNA=	Deoxyribonucleic acid
RNA=	Ribonucleic acid

T-ALL=	Akute Lymphatische Leukämie der T-Zell-Reihe
HTLV-1=	Human-T-Cell-Leukämie-Virus 1
HTLV-2=	Human-T-Cell-Leukämie-Virus 2
WHO=	World Health Organization
FAB=	French-American-British
CEBPA=	CCAAT/enhancer binding protein alpha
NPM1=	Nucleophosmin 1
RA=	Refraktäre Anämie
RARS=	Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten
RAEB=	Refraktäre Anämie mit Blastenüberschuss
CMML=	Chronisch-myelomonozytäre Leukämie
RAEB-T=	Refraktäre Anämie mit Blastenüberschuss in Transformation
KM=	Knochenmark
HLA=	Human-Leukocyte-Antigen
GvHD=	Graft-versus-Host Disease
DLA=	Dog-Leukocyte-Antigen
G-CSF=	Granulozyten-stimulierender-Faktor
CMV=	Cytomegalievirus
CT=	Computertomographie
GvH=	Graft-versus-Host
HvG=	Host-versus-Graft
TBI=	Total body irradiation
PCR=	Polymerase-Ketten-Reaktion
TPOX	Transaction Processing over XML
CSF1PO=	c-fms proto-oncogene for CSF-1 receptor gene

F13A1=	coagulation factor XIII, A1 polypeptide
FES=	feline sarcoma oncogene
PoM=	Probability of match
FISH=	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
MRD=	Minimal residual disease
KMT=	Knochenmarktransplantation
MMF=	Mycophenolatmofetil
HSV=	Herpes Simplex Viren
EBV=	Epstein Barr Virus
HHV6=	Humanes Herpes Virus 6
GIT=	Gastrointestinaltrakt
KO=	Körperoberfläche
TNF-alpha=	Tumor-Nekrose-Faktor alpha
NHL=	Non Hodgkin Lymphom
CR=	Komplette Remission
PBSC=	Peripheral blood stem cells
kg KG=	Kilogramm Körpergewicht
Gy=	Gray
BM=	Bone marrow
CB=	Cord blood
FLAMSA=	Fludarabine + high-dosis cytarabine + amsacrine
Flu=	Fludarabine
HD-AraC=	High-dosis cytarabine
ATG=	Antithymocyte globulin
NRM=	Non relapse mortality

LFS=	Leukämie free survival
OS=	Overall survival
TRM=	Treatment related mortality
RR=	Relapse Rate
sAML=	Sekundäre AML
VOD=	Venenverschlusserkrankung
FUO=	Fever of unknown origin

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung

1.1	Definition der Leukämien	10
1.2	Einteilung der Leukämien	12
1.3	Epidemiologie der Leukämien	12
1.4	Ursachen und Risikofaktoren	15
1.4.1	Genetische Prädisposition	16
1.4.2	Ionisierende Strahlen	18
1.4.3	Chemikalien	18
1.4.4	Viren	19
1.5	Diagnostik der Leukämien	19
1.6	Klinik der Leukämien	20
1.7	Akute Myeloische Leukämie	20
1.7.1	Epidemiologie	20
1.7.2	Ätiologie	20
1.7.3	Klassifikation	21
1.8	Myelodysplastisches Syndrom	23
1.8.1	Epidemiologie	23
1.8.2	Ätiologie	23
1.8.3	Klassifikation	24
1.9	Chronische myeloproliferative Erkrankungen	27
1.10	Therapie	27
1.11	Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation	28
1.12	Hochrisikoleukämie	34

II. Fragestellung / Zielsetzung

35

III. Material und Methoden

3.1	Projektziel- und dauer	36
3.2	Studienprotokoll	36
3.3	Voruntersuchungen	37
3.4	Spenderuntersuchungen	38
3.5	Kriterien HLA-Übereinstimmung	38

3.6	Therapieschema	38
3.7	Transplantataufbereitung	41
3.8	GvHD Prophylaxe	42
3.9	Chimärismusanalyse	42
3.10	Quantifizierung der Minimalen Resterkrankung	44
3.11	Supportive Therapie	44
3.12	Antivirale Prophylaxe	45
3.13	Diagnose und Behandlung der GvHD	46
3.14	Evaluation und Statistische Auswertung	48
3.15	Patientenkollektiv	49
IV.	Ergebnisse	54
V.	Diskussion	61
VI.	Zusammenfassung	68
VII.	Danksagung	69
VIII.	Literaturverzeichnis	70
IX.	Tabellarischer Lebenslauf	77

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der physiologischen Hämatopoiese	11
Abbildung 2: Inzidenz von Leukämieerkrankungen in Deutschland	13
Abbildung 3: Schematische Darstellung der FLT3-Struktur	17
Abbildung 4: Schematische Darstellung der Konditionierung	40
Abbildung 5: Gesamt- und Leukämiefreies Überleben	57
Abbildung 6: Rezidivrate und Therapiebedingte Mortalität	58
Abbildung 7: Gesamtüberleben bei verschiedenen Risikofaktoren	60

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Inzidenz und Mortalität der Leukämie in Deutschland	14
Tabelle 2: Unterteilung verschiedener Leukämieformen	15
Tabelle 3: WHO-Klassifikation der akuten myeloischen Leukämie	22
Tabelle 4: FAB-Klassifikation des Myelodysplastischen Syndroms	25
Tabelle 5: WHO-Klassifikation des Myelodysplastischen Syndroms	26
Tabelle 6: Patientencharakteristika	50
Tabelle 7: Spendercharakteristika	52
Tabelle 8: Transplantatcharakteristika	53

I. Einleitung

1.1 Definition der Leukämien

Der Begriff Leukämie bedeutet übersetzt aus dem Griechischen weißes Blut. So beschrieben nach einer Versuchsreihe von Rudolf Virchow (1821–1902) im Jahr 1845, der bei Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie mit stark erhöhter Zellzahl eine verbreiterte Leukozytenmanschette auf einer Erythrozytensäule nach Zentrifugieren des Blutes beobachtete.¹ Leukämie steht für eine Gruppe von Krebserkrankungen des blutbildenden Systems, die sich hinsichtlich ihrer Ursachen, Häufigkeit, Behandlungsmöglichkeiten und ihrer Heilungschancen zum Teil stark voneinander unterscheiden. Akute Leukämien zeichnen sich als Stammzellerkrankungen durch eine stark vermehrte Bildung von Leukozyten und dabei speziell ihrer funktionsuntüchtigen Vorstufen, der Blasten aus. Meistens geht damit eine Verdrängung der physiologischen Blutbildung, eine vermehrte Ausschwemmung unreifer Blutzellen in die Peripherie und eine Infiltration extramedullärer Organe einher. So können auch Leber, Milz, Lymphknoten und weitere Organe infiltriert und in ihrer Funktion beeinträchtigt werden.

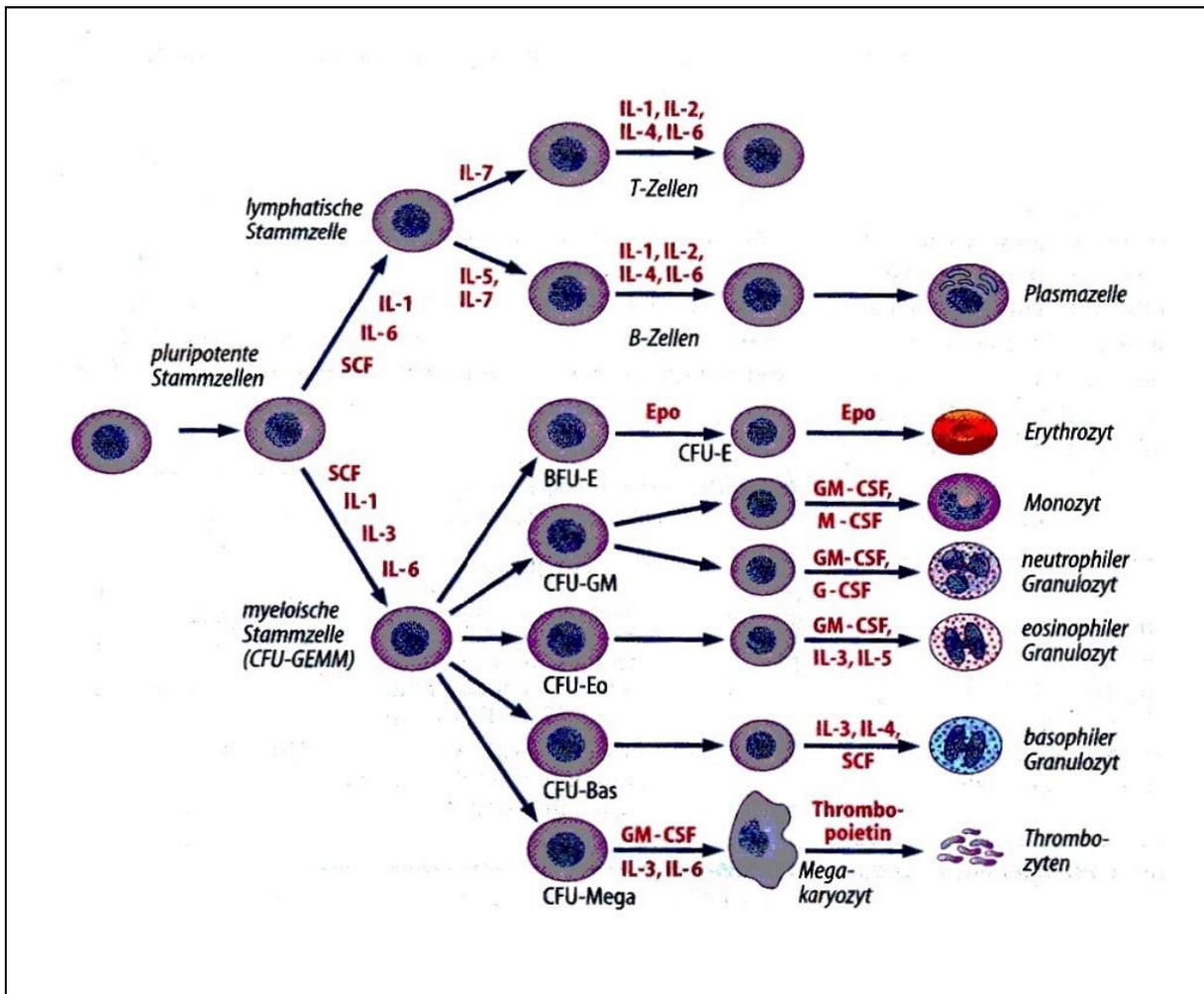


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Differenzierung und Reifung der physiologischen Hämatopoiese. CFU=Colony forming units oder BFU=Burst forming units IL=Interleukin, SCF=Stammzellfaktor, CSF=Koloniestimulierender Faktor, EPO=Erythropoetin, M=Monozyten, Mega=Megakaryozyten, E=Erythrozyten.

1.2 Einteilung der Leukämien

Die Einteilung der Leukämien umfaßt zwei große Gruppen. Zum einen myeloische Leukämien und zum anderen lymphatische Leukämien. Die Einteilung resultiert aus der Differenzierung der weißen Blutkörperchen. Aus den Präkursoren der Granulozyten gehen die myeloischen Leukämien und aus denen der Lymphozyten die lymphatischen Leukämien hervor. Bei beiden Gruppen unterscheidet man eine akute und eine chronische Form, welche sich in Prodromalstadium, Verlauf und in ihrer Prognose voneinander unterscheiden.

Im Wesentlichen werden folgende Formen beschrieben:

Akute myeloische Leukämie (AML)

Akute lymphatische Leukämie (ALL)

Chronisch myeloische Leukämie (CML)

Chronisch lymphatische Leukämie (CLL)

Myelodysplastische Syndrome (MDS)

1.3 Epidemiologie

Jährlich erkranken etwa 10.250 Menschen in Deutschland an einer Leukämie. Dabei steht die Leukämie im Vergleich zu anderen Krebserkrankungen bei Männern an 11.Stelle mit 5.500 Fällen/Jahr (2002) und bei Frauen an 13.Stelle mit 4.700 Fällen/Jahr (2002). Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 60 Jahren für Männer und bei 65 Jahren für Frauen. Die chronischen Leukämieformen treten gehäuft im höheren Lebensalter auf, während die akute lymphatische Leukämie sich typischerweise im Kindesalter manifestiert.

Im Europäischen Vergleich hinsichtlich der Prävalenz von Leukämien liegt Deutschland etwa im mittleren Drittel. Angeführt wird die europäische Länderstatistik von Luxemburg, Dänemark und Belgien. Abbildung 2 zeigt die Schätzung der altersspezifischen Inzidenz von Leukämieerkrankungen in Deutschland aus dem Jahr 2002.² Die relative 5-Jahres-Überlebensrate bei einer Leukämie beläuft sich bei Männern auf 46% und bei Frauen auf 44%. Im Allgemeinen sind die Überlebensaussichten von Kindern weitaus besser als von Erwachsenen. Am ungünstigsten ist die Prognose der akuten myeloischen Leukämie bei Patienten mit einem Erkrankungsalter über dem 65. Lebensjahr.²

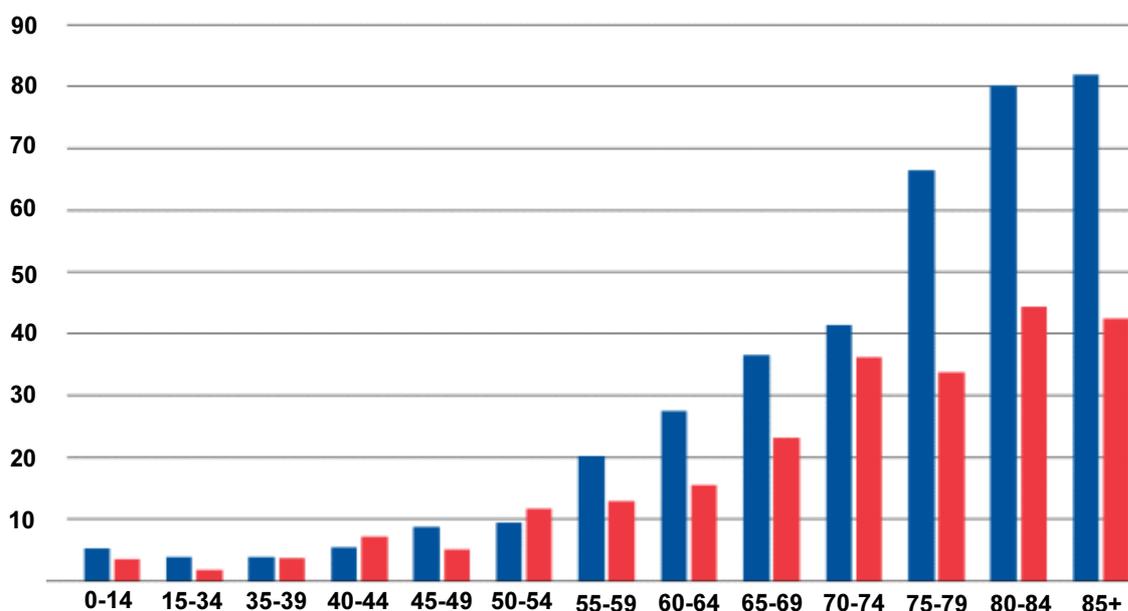


Abbildung 2: Schätzung der altersspezifischen Inzidenz von Leukämieerkrankungen in Deutschland 2002; Neuerkrankungen pro 100.000 in Altersgruppen²

Blaue Balken – Männer

Rote Balken – Frauen

Alter in Jahren	Männer		Frauen	
	Inzidenz	Mortalität	Inzidenz	Mortalität
< 45	4,1	1,1	3,0	0,9
45 – 59	11,8	4,8	9,2	3,4
60 – 74	33,5	23,6	23,3	14,2
> 75	72,9	67,4	38,9	43,5
Rohe Rate	13,6	8,6	11,2	8,0
Standard Rate	12,0	7,3	8,0	4,6

Tabelle 1: Inzidenz und Mortalität nach Altersgruppen in Deutschland 2002
Fälle pro 100.000 Einwohner²

Die genauere Unterteilung in die verschiedenen Leukämieformen stellt sich folgendermaßen dar:

Alter	ALL	AML	CML	CLL	MDS
15 – 19	91	32			
20 – 24	44	56			
25 – 29	33	49	30		
30 – 34	37	67	60		
35 – 39	49	94	58	22	
40 – 44	43	115	58	45	
45 – 49	43	125	68	103	
50 – 54	45	184	90	204	180
55 – 59	45	229	107	317	
60 – 64	52	423	206	538	853
65 – 69	73	478	208	624	
70 – 74	54	580	231	735	1417
75 – 79	51	547	236	672	
80 – 84	28	310	158	386	820
85+	25	307	183	483	
Summe	713	3597	1692	4127	3644

Tabelle 2: Geschätzte Fälle verschiedener Leukämieformen in der Bundesrepublik Deutschland pro Jahr³

1.4 Ursachen und Risikofaktoren

Es herrscht noch weitgehend Ungewissheit über die genauere Ätiologie jeder einzelnen Leukämieform. Ursächlich sind viele unterschiedliche Faktoren, darunter werden genetische Defekte, Umweltfaktoren, Lebensgewohnheiten und die Exposition mit mutagenen Substanzen oder ionisierenden Strahlen in der Literatur aufgeführt.

1.4.1 Genetische Prädisposition

Zum einen spielt die genetische Prädisposition eine Rolle, wobei eine höhere Inzidenz von Leukämien in Familien mit vorangegangenen Malignomen nachgewiesen werden kann. Zum anderen beobachtet man in der Gruppe der hereditären Erkrankungen, dass bei numerischen Aberrationen wie dem Down- oder Klinefelter-Syndrom eine akute myeloische Leukämie etwa 20 mal häufiger auftritt. Ebenso kann eine Leukämie im Zusammenhang mit einer Fanconi-Anämie stehen. Die Leukämiezellen weisen meistens Veränderungen des Erbmaterials auf, die mit Hilfe der Zytogenetik und Molekulargenetik untersucht werden können. So sind zahlreiche chromosomale Aberrationen bei den Myeloischen Leukämien beschrieben, wie zum Beispiel die spezifische Translokationen t(8;21), t(15;17), t(6;11), t(9;11), t(3;3), t(6;9), t(11;19), del5q, Inversion 16 oder die FLT3-Mutation.⁴ Die FLT3-Mutation ist eine der häufigsten genetischen Alterationen in der AML, die bei 27–35% der Patienten vorkommen.^{5,6} FLT3 gehört zur Familie der Klasse-III-Rezeptor–Tyrosinkinase (RTK). RTKs vermitteln Wachstums-, Differenzierungs- und Entwicklungssignale. Sie sind transmembrane Rezeptoren, die Proteintyrosinkinase–Aktivität besitzen. Ihre Aktivität in nicht–transformierten Zellen ist normalerweise streng reguliert. FLT3 ist an der onkogenen Transformation in AML–Blasten durch verschiedene Mechanismen beteiligt. Es werden sowohl FLT3–Überexpression und autokrine Stimulierung des FLT3–Liganden, als auch aktivierende Mutationen im FLT3–Gen nachgewiesen. Abbildung 3 zeigt ein Schema der FLT3–Struktur und die Lokalisation der zwei bekannten Klassen aktivierender Mutationen im FLT3–Protein.

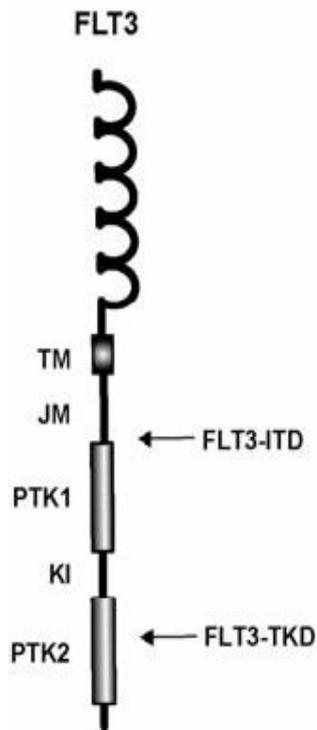


Abbildung 3: Schematische Darstellung der FLT3-Struktur und die Lokalisation der zwei bekannten Cluster aktivierender Mutationen bei Patienten mit AML. Die Lokalisation der zwei Cluster aktivierender Mutationen, die bei Patienten mit AML gefunden werden, sind dargestellt: 'internal tandem duplications' in der JM-Domäne und beginnenden TKD (FLT3-ITD) und Punktmutationen und kleine Insertionen in der KD(FLT3-TKD). TM=transmembrane-Domäne; JM=juxtamembranöse-Domäne; PTK1=Protein-Tyrosinkinase-Domäne1; KI=Kinase-Insert-Domäne; PTK2=Protein-Tyrosinkinase-Domäne2

1.4.2 Ionisierende Strahlen

Mutagene Faktoren sind energiereiche und ionisierende Strahlen. Dazu werden elektromagnetische- (UV, Röntgen und Gamma) und korpuskuläre- (alpha, beta) Strahlen gerechnet. Dabei kommt es zu Dimerisierung von Basen, zur Bildung von Pyrimidinhydraten und zu Strangbrüchen an der DNA. Zellen mit hoher Teilungsrate, wie zum Beispiel Knochenmarkzellen, sind besonders von Strahlenschäden betroffen, was die relativ hohe Inzidenz von Leukämien nach der Exposition gegenüber ionisierenden Strahlen erklärt.

1.4.3 Chemikalien

Als Leukämie begünstigende Stoffe werden Organische Lösungsmittel wie Benzol sowie Insektenbekämpfungsmittel (E605, Lindan) und Pflanzenschutzmittel (Herbizide) genannt. Benzol wirkt wahrscheinlich durch das bei der Metabolisierung entstehende hochreaktive Benzolepoxid, das die RNA-Synthese supprimiert und dadurch die Entstehung von Schäden in der DNA begünstigt.

Weiter können einige Medikamente wie Zytostatika oder Immunsuppressiva die Funktion des Blutbildenden Systems nachhaltig schädigen und Leukämien induzieren. Zytostatika hemmen unselektiv das Zellwachstum durch eine Schädigung der DNA und wirken mit einer mitunter langjährigen Latenzzeit mutagen und karzinogen. Zytostatika bewirken durch Alkylierung von Nukleinsäuren eine DNA- bzw. RNA-Strangvernetzung. Mitosehemmstoffe führen zum Stillstand der Spindelapparatausbildung, Zellteilung und zu DNA-Einzelstrangbrüchen.

Zytostatisch wirkende Antibiotika gehen mit einer Interkalierung, einer Fragmentierung der DNA einher und hemmen die DNA-abhängige Polymerase. Diese Proliferationsgifte schädigen am stärksten Gewebe mit raschem Zellumsatz.⁷

Diskutiert wird, ob ein Zusammenhang zwischen dem Zigarettenrauchen und dem Entstehen einer Leukämie besteht.

1.4.4 Viren

Für eine sehr seltene Form der akuten lymphatischen Leukämie, die T-ALL, wird eine Infektion mit den Human-T-Cell-Leukämie-Viren 1 (HTLV-1) oder 2 (HTLV-2) als ursächlich angesehen. Die direkte Beteiligung von anderen Viren an der Leukämiegenese anderer Leukämieformen ist bislang nicht sicher nachgewiesen.

1.5 Diagnostik der Leukämien

Sobald aufgrund der Klinik des Patienten der Verdacht auf eine maligne hämatologische Erkrankung besteht, wird eine Blutuntersuchung mit Differentialblutbild zur diagnostischen Abklärung durchgeführt. Sind dabei die typischen Veränderungen, wie Vorhandensein unreifer Blasten und/oder eine Anämie, Thrombozytopenie und Vermehrung oder Verminderung der Leukozyten zu beobachten, wird eine Knochenmarkbiopsie nach Jamshidi durchgeführt. Die dabei entnommenen Zellen werden im Labor morphologisch, zytochemisch, zytogenetisch und molekulargenetisch untersucht, um eine präzisere Aussage über die Art der Leukämie zu erhalten. Nach WHO-Definition findet sich im Knochenmark ein Blastenanteil von >20%. Eine Immunphänotypisierung gibt die Ausprägung verschiedener Oberflächenantigene und zytoplasmatischen Strukturen der Leukämiezellen wieder. In manchen Fällen, vor allem bei Verdacht auf eine akute lymphatische Leukämie (ALL), kann zusätzlich eine Liquor-Untersuchung notwendig sein. Weitere mögliche Untersuchungsmethoden sind unter anderem die Sonographie, die Computertomographie und die Kernspintomographie mit deren Hilfe Organinfiltrationen nachgewiesen werden können.⁴

1.6 Klinik der Leukämien

Die Patienten berichten häufig über Müdigkeit, Abgeschlagenheit, rezidivierende Infekte der oberen Atemwege mit Fieber, Nachtschweiß, Knochenschmerzen, Nasenbluten, Übelkeit und Erbrechen. Weiterhin bestehen oft Blässe, Hämorrhagien, Gewichtsverlust, Mundulzera, Hepato-Splenomegalie, Lymphknotenschwellung und Gingiva-Hyperplasien.

1.7 Akute Myeloische Leukämie

1.7.1 Epidemiologie

Die akute myeloische Leukämie (AML) wird in allen Altersklassen beschrieben, stellt aber mit einem Prozentsatz von 80% der akuten Leukämien im Erwachsenenalter den höchsten Anteil dar. In der gesamten Krebssterblichkeit beläuft sich die Statistik auf 1-2%. Mit zunehmenden Alter steigt die Inzidenz von <1 bei unter 30-jährigen auf >10:100.000/Jahr bei 80-jährigen stetig an.

1.7.2 Ätiologie

Das Risiko im Laufe eines Lebens an einer AML zu erkranken, steigt nach einer Exposition gegenüber ionisierender Strahlung und antineoplastischen Substanzen, die zuvor zur Therapie anderer Krebserkrankungen eingesetzt wurden. Chemische Substanzen wie Benzol oder Pflanzenschutzmittel sind ebenfalls als Risikofaktoren bekannt. In einigen derzeit laufenden Studien konnte bei Rauchern eine signifikante Zunahme des Leukämierisikos festgestellt werden. Zur Entwicklung einer AML disponieren das Down-Syndrom, Klinefelter-Syndrom, Fanconi-Anämie und weitere kongenitale Anomalien. Bei Kindern mit Down-Syndrom tritt die akute Megakaryoblastenleukämie (Akute myeloische Leukämie, megakaryoblastischer

Subtyp/AMkL) mit einer Häufigkeit von 1:100 auf. Mit Hilfe der Analyse von Chromosomenaberrationen kann eine spezifische Aussage über die Prognose der AML gemacht werden. So wird zytogenetisch bei der Translokation t(15;17 Promyelozyten-Leukämie), t(8;21), molekulargenetisch bei Mutationen von CEBPA und NPM1 in Abwesenheit von FLT3 Mutationen, der Inversion 16 und einem normalen Karyotyp mit einer günstigen Prognose gerechnet.⁸ Im Gegensatz dazu nehmen komplexe Chromosomenaberrationen oder Veränderungen an Chromosomen 5, 7, 17,^{9,10} sowie molekulargenetisch die aktivierende FLT3-Mutationen (FLT3-ITD) oder MLL-Mutationen eine prognostisch ungünstige Rolle ein.¹¹⁻¹³

1.7.3 Klassifikation

Die WHO-Klassifikation der akuten myeloischen Leukämie berücksichtigt Morphologie, Zytogenetik und Immunphänotypisierung und ist von der French-American–British (FAB) abgeleitet worden:

AML mit typischen genetischen Aberrationen	Fusionsgen
AML mit t(8;21)(q22;q22)	AML1/ETO
AML mit inv(16)(p13q22) oder t(16;16)(p13,q22)	CBFβ/MYH11
Akute Promyelozytenleukämie mit t(15;17)(q22;q12)	PML/RARα
AML mit 11q23 Aberration	MLL/XX-Rearrangements
AML mit einer Mehrliniendysplasie	
AML ohne vorangegangenes MDS	
AML nach MDS	
Therapieassoziierte AML und MDS	
AML nach Alkylantien	
AML nach Topoisomeraseinhibitoren	
Andere	
AML, die in den o.g. Gruppen nicht kategorisiert werden können	Entspricht nach French American-British
Minimal differenzierte AML	M0
AML ohne Reifung	M1
AML mit Reifung	M2 t(8;21)
Akute Promyelozyten-Leukämie	M3 t(15;17)
Akute myelomonozytäre Leukämie	M4
Akute myelomonozytäre Leukämie mit Eosinophilie	M4Eo inv(16)
Akute monozytäre Leukämie	M5
Akute Erythro-Leukämie	M6
Aute Megakaryoblasten-Leukämie	M7
akute Basophilen-Leukämie	M2 baso
Akute Myelofibrose	
Myelosarkom/Extramedulläre Leukämie	
Akute Leukämien mit unklarer Linienzugehörigkeit	
Akute undifferenzierte Leukämie	
Akute bilineale Leukämie	
Akute biphänotypische Leukämie	

Tabelle 3: WHO-Klassifikation der akuten myeloischen Leukämie¹⁴

1.8 Myelodysplastisches Syndrom

Unter dem Begriff Myelodysplastisches Syndrom (MDS) faßt man eine Gruppe verschiedener Erkrankungen zusammen, deren Gemeinsamkeit in einer Unfähigkeit zur Ausreifung der Knochenmarkzellen besteht. Es handelt sich dabei um eine heterogene, erworbene, klonale Stammzellerkrankung mit Störungen in der Hämatopoese, peripherer Zellzahlverminderung, zellreichem dysplastischen Knochenmark und erhöhtem Blastenanteil.¹⁵

Daraus resultiert eine reduzierte Bildung von Blutplättchen sowie roter und weißer Blutkörperchen. Es zeigen sich typische Symptome einer Zytopenie mit Anämiezeichen, Infekten und Blutungsneigung. Bei insgesamt 25 bis 30 Prozent der Patienten entwickelt sich aus dem MDS eine Leukämie, meist eine akute myeloische Leukämie.

1.8.1 Epidemiologie

Die Inzidenz reicht von 4 bis 13/100.000/Jahr bei <70-jährigen Patienten. Über dieses Alter hinaus sind bereits 20 bis 50/100.000/Jahr betroffen. Vorwiegend erkranken jedoch Personen über dem 60. Lebensjahr an einem Myelodysplastischen Syndrom.¹⁶

1.8.2 Ätiologie

Das Myelodysplastische Syndrom wird bezüglich seiner Entstehung in zwei Gruppen eingeteilt. Beim primären MDS, das mit >90% das häufigste darstellt, ist bis heute eine genaue Ursache nicht bekannt. Beim sekundären MDS (10%) geht man von einem sekundär induzierten Krankheitsmechanismus aus. Dabei können vorangegangene Zytostatikatherapien, Radiatio, kombinierte Radiochemotherapien, Benzol und Pestizide ursächlich sein. Bei 40-50% der an MDS erkrankten Patienten läßt sich eine

Chromosomenanomalie im Zusammenhang mit der Krankheit feststellen. Am häufigsten sind dabei Anomalien der Chromosomen 5 und 7.

1.8.3 Klassifikation

FAB-Klassifikation

MDS werden nach den Vorschlägen der FAB (French-American-British) Cooperative Group in 5 Untergruppen unterteilt ¹⁷:

- Refraktäre Anämie (RA)
- Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten (RARS)
- Refraktäre Anämie mit Blastenüberschuss (RAEB)
- Chronisch-myelomonozytäre Leukämie (CMML)
- Refraktäre Anämie mit Blastenüberschuss in Transformation (RAEB-T)

Definierende Kriterien für die Einteilung sind:

- der Prozentsatz von Blasten im Knochenmark und peripheren Blut,
- der Prozentsatz von Ringsideroblasten im Knochenmark bzw.
- die Anzahl von Monozyten im peripheren Blut.

FAB-Typ	KM-Blasten (%)	KM-Ringsideroblasten (%)	Peripheres Blut; Blasten (%)	Peripheres Blut; Monozyten (/l)
RA	<5	<15	<1	-
RARS	<5	>15	<1	-
CMML	<20	-	<5	>1x10 ⁹
RAEB	5-20	-	<5	-
RAEB-T	20-30	-	>5	+/->1x10 ⁹

Tabelle 4: FAB-Klassifikation des Myelodysplastischen Syndroms; RA= Refraktäre Anämie; RARS= Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten; CMML=Chronisch-myelomonozytäre Leukämie; RAEB=Refraktäre Anämie mit Blastenüberschuss; RAEB-T=Refraktäre Anämie mit Blastenüberschuss in Transformation; KM=Knochenmark

WHO-Klassifikation

Die FAB-Klassifikation wurde 1997 von einer Expertengruppe der WHO weiterdifferenziert¹⁸ und unterscheidet nach morphologischen und zytogenetischen Kriterien 8 Untergruppen. CMML und RAEB-T wurden dabei ausgegliedert. Diese Unterteilung ermöglicht bessere Aussagen zur Prognose, ist für die klinische Praxis aber schwerer zu handhaben

WHO-Subtyp	Blasten- anteil Blut	KM	Weitere Veränderungen
Refraktäre Anämie (RA)	=/< 1%	< 5%	Einlinien-MDS (erythropoetische Dysplasien)
Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten (RARS)	=/< 1%	< 5%	Einlinien-MDS (erythropoetische Dysplasie, >15% Ringsideroblasten im KM)
Refraktäre Zytopenie mit multilineärer Dysplasie (RCMD)	=/< 1%	< 5%	Mindestens bilineäre Dysplasie
Refraktäre Zytopenie mit multilineärer Dysplasie und Ringsideroblasten (RCMD-RS)	=/< 1%	< 5%	Mindestens biline- äre Dysplasie, >15% Ringsideroblasten im KM
Refraktäre Zytopenie mit Blastenüberschuss 1 (RAEB-1)	< 5%	5-9%	Einlinien- oder Mehr- linien-MDS, keine Auer-Stäbchen
Refraktäre Anämie mit Blastenüberschuss 2 (RAEB-2)	5-19%	10-19%	Einlinien- oder Mehrlinien-MDS, evtl. Auer-Stäbchen
5q-Syndrom	< 5%	< 5%	Isolierter 5q-Defekt
Unklassifiziertes MDS (MDS-U)	=/< 1%	< 5%	Passt nicht in andere Kategorien

Tabelle 5: WHO-Klassifikation des Myelodysplastischen Syndroms;
KM=Knochenmark; MDS=Myelodysplastisches Syndrom

1.9 Chronische Myeloproliferative Erkrankungen

Unter dem Begriff Chronisch Myeloproliferative Erkrankungen versteht man eine Gruppe von vier verschiedenen malignen hämatologischen Erkrankungen. Es handelt sich um eine monoklonale Proliferation myeloischer Stammzellen mit autonomer Vermehrung einer oder mehrerer hämatopoietischer Zellreihen.

Bei den vier Erkrankungen handelt es sich um:

- Chronische myeloische Leukämie
- Polycythaemia vera
- Essenzielle Thrombozythämie
- Osteomyelofibrose

Diese Krankheiten haben gemeinsam, dass nach einer mehrjährigen chronischen Phase ein terminaler Blastenschub auftritt, der klinisch wie eine akute Leukämie verläuft und eine sehr schlechte Prognose hat.

1.10 Therapie

Die Therapie lässt sich gliedern in eine rein supportive Behandlung, bei der auf eine sorgfältige Hygiene, eine Infektprophylaxe mit Antimykotika und Antibiotika geachtet wird. Nach Bedarf werden den Patienten Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentrate infundiert. Eine zytostatische Therapie hat eine Elimination der Leukämiezellen und somit eine komplette Remission zum Ziel. Laut WHO ist eine komplette Remission erreicht, wenn der Blastenanteil im Knochenmark $<5\%$ beträgt und die peripheren Zellwerte sich normalisiert haben. Dazu wird zunächst eine Induktionschemotherapie durchgeführt, welche in der Regel aus Cytarabin in Kombination mit einem Anthrazyklin besteht. Anschließend wird eine Konsolidierungschemotherapie eingeleitet. Diese besteht entweder aus repetitiven Chemotherapiezyklen oder einer Knochenmark-

beziehungsweise Blutstammzelltransplantation. Neben diesen drei wichtigen Therapieoptionen besteht bei einigen Leukämiearten die Möglichkeit der Behandlung mit All-trans-Retinsäure, dem Tyrosinkinaseinhibitor Imatinib und monoklonalen Antikörpern.

1.11 Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation

Die Transplantation von Knochenmark und Blutstammzellen hat einen wichtigen Stellenwert in der Behandlung hämatologischer Erkrankungen (aplastische Anämien, angeborene Immundefekte, maligne Erkrankungen wie Leukämien und maligne Lymphome) eingenommen. Die Transplantationsart von Blutstammzellen wird nach dem Grad der genetischen Unterschiede zwischen Spender und Empfänger eingeteilt:

- Autolog - vom Patienten selbst
- Allogen - vom genetisch differenten Spender
- Syngen - vom genetisch identischen Spender
- Xenogen - von einer anderen Spezies

Bei der autologen Transplantation werden dem Patienten nach einer intensiven Chemotherapie eigene Zellen entnommen, kryokonserviert und nach einer Konditionierung reinfundiert. Bei einer allogenen Stammzelltransplantation unterscheidet man zwischen verwandten und nicht verwandten Spendern. In erster Linie kommen HLA- (human leukocyte antigen) identische Geschwisterspender oder eineiige (syngene) Zwillingsspender in Betracht. Wenn sich unter den Geschwistern des Patienten kein HLA-identischer Spender findet, kann in Ausnahmefällen in der Verwandtschaft ein teilidentischer Spender identifiziert werden. Meistens muß in diesem Fall jedoch ein unverwandter Spender über das internationale Fremdspenderegister gesucht werden. Hierbei ist man bemüht, einen möglichst HLA-identischen Donor ausfindig zu machen. Bei einer hoch auflösenden HLA-Typisierung vom Patienten und

Spender werden die HLA Polymorphismen (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1) bestimmt. Im Idealfall stimmen Patient und Spender in allen Merkmalen überein. Mit zunehmender Anzahl von Nicht-Übereinstimmungen nimmt das Risiko für schwere immunologische Komplikationen zu. Angestrebt wird eine Zerstörung der malignen Zellen durch eine intensive Zytostatikatherapie oder Bestrahlung. Die Transplantation hämatopoietischer Stammzellen diente zunächst dazu, die durch die zytostatische Therapie geschädigten Stammzellen des Patienten zu ersetzen. Später erkannte man, dass die immunologischen Effekte des Transplantates auch eine große Bedeutung für die Heilung des Patienten haben.

Die Geschichte der Stammzelltransplantation beginnt im Jahre 1949, als Jacobson et al. erstmals beobachteten, dass Mäuse eine letale Ganzkörperbestrahlung durch Abschirmung der Milz überleben konnten.¹⁹ Nur wenig später zeigten Lorenz et al, dass ein Überleben dieser Mäuse auch durch Infusion von Knochenmark anderer Mäuse gesichert werden konnte.²⁰ In der Mitte der 50er Jahre wurde der zytogenetische Beweis dafür erbracht, dass der strahlenprotektive Effekt bei einer Transplantation von Knochenmarkzellen darauf zurückzuführen ist, dass gesunde Spenderzellen das zerstörte hämatopoietische System des Empfängers ersetzen.²¹ Der erste erfolgreiche Versuch einer Stammzelltransplantation zur Behandlung einer Leukämie beim Menschen erfolgte im Jahre 1959 durch Dr.E.Donnell Thomas, dem im Jahre 1990 für seine Forschungsarbeiten in diesem Bereich der Nobelpreis verliehen wurde.²² Es handelte sich hierbei um eine syngene Transplantation, das heißt Spender und Empfänger waren eineiige Zwillinge. Dies unterstrich die besondere Bedeutung der Knochenmarktransplantation zur Behandlung von Leukämien und Immundefekten. Weitere Versuche der Stammzelltransplantation in dieser Zeit blieben jedoch weitgehend erfolglos, was am mangelnden Verständnis des HLA-Systems (human

leukocyte antigen) und dessen Bedeutung für die Histokompatibilität lag. Transplantatabstoßung und Transplantat-gegen-Empfänger-Reaktion (Graft-versus-Host-Disease (GvHD)) waren die Folge.²³ In den 60er Jahren zeigten verschiedene Studien an Hunden, dass erst eine Übereinstimmung im DLA-System (dog-leukocyte-antigen) eine erfolgreiche Transplantation möglich machte.²⁴ Diese wachsenden Erkenntnisse über das HLA-System und dessen große Bedeutung für die Transplantation führten zu weiteren Versuchen der Stammzelltransplantation und schließlich zur ersten erfolgreichen allogenen Stammzelltransplantation im Jahr 1968 bei einem Patienten mit schwerem kombiniertem Immundefekt.²⁵ Im Laufe der 70er Jahre entwickelte sich die Stammzelltransplantation schließlich zu einem anerkannten Therapieverfahren weiter. Im Jahr 1977 konnte in Seattle das Forschungsteam um Dr.E.Donnell Thomas von 100 Patienten mit Leukämie in fortgeschrittenem Stadium berichten, die eine Konditionierung, bestehend aus Cyclophosphamid und Ganzkörperbestrahlung und anschließend Knochenmark eines HLA-identischen Geschwisters erhielten. Siebzehn von diesen 100 Patienten waren ein bis drei Jahre nach der Transplantation noch am Leben, 8 von diesen 17 wiederum blieben über 23 Jahre lang in kompletter Remission.²⁶ Heutige Schätzungen über die Anzahl von Stammzelltransplantationen belaufen sich auf ca. 50.000 pro Jahr weltweit, mit einer jährlichen Zuwachsrate von 10-15%.²⁷ Die Indikationen zur Stammzelltransplantation erstrecken sich von malignen und nichtmalignen Erkrankungen des Knochenmarks über solide Tumoren, Hämoglobinopathien, Immundefekte bis hin zu selektiven Immunerkrankungen. Hauptindikationen für eine autologe Stammzelltransplantation sind derzeit der Morbus Hodgkin, Non-Hodgkin-Lymphome und das Multiple Myelom.²⁸ Eine allogene Transplantation ist bei Aplastischer Anämie, myelodysplastischem Syndrom, erblichem Knochenmarksversagen, Myelofibrose, akuten und chronischen Leukämien

indiziert. Die Stammzellgewinnung erfolgt entweder mittels Knochenmarkentnahme, peripherer Stammzellenapherese oder aus Nabelschnurblut. Hämatopoietische Stammzellen wurden zunächst durch wiederholte Knochenmarkpunktionen des Beckenknochens in Vollnarkose gewonnen. Heute weicht man von dieser Methode der Transplantatgewinnung weitgehend ab und gewinnt zirkulierende hämatopoietische Stammzellen aus dem peripheren Blut.

Unter normalen Bedingungen zirkulieren nur vereinzelt Stammzellen im peripheren Blut.²⁹ Der größere Anteil hämatopoietischer Stammzellen findet sich im Knochenmark. Dieses Phänomen beruht auf Adhäsionsmechanismen zwischen den Stammzellen und dem Knochenmarkstroma.³⁰⁻³² Chemotherapien und hämatopoietische Wachstumsfaktoren (z.B. Granulozyten stimulierender Faktor (G-CSF)) können die Adhäsionsmechanismen unterbrechen und dadurch zu einer Ausschwemmung der Stammzellen aus dem Knochenmark führen. Bei einer Stammzellmobilisierung mit Chemotherapie kommt es nach Überwindung der Myelosuppression zu einem vorübergehenden Anstieg der Stammzellkonzentration im peripheren Blut.^{33,34} Eine weitere Möglichkeit ist die Stammzellmobilisierung aus dem „steady-state“. Dabei werden Zytokine, vorzugsweise der hämatopoietische Wachstumsfaktor G-CSF eingesetzt, um Stammzellen aus dem Knochenmark zu mobilisieren.^{35,36} Wenn durch die genannten Mobilisierungsverfahren die Konzentration hämatopoietischer Stammzellen im peripheren Blut ansteigt, können diese Zellen durch Leukaphereseverfahren gewonnen werden. Ein Vorteil des Einsatzes mobilisierter peripherer Blutstammzellen ist eine im Vergleich zu Knochenmark verkürzte Aplasiezeit nach der Hochdosischemotherapie. Innerhalb von zwei Wochen erfolgt ein Wiederanstieg der Neutrophilen und Thrombozyten.³⁷ Daraus resultiert eine kürzere Krankenhausaufenthaltsdauer, eine geringere therapieassoziierte Morbidität, ein

reduzierter Bedarf an Transfusionen, weniger Infektionen³⁸ und insgesamt eine Kostenreduktion um 17-25%.^{39,40} Zusammengefasst macht die Verwendung von mobilisierten Blutstammzellen im Vergleich zu Knochenmark die autologe Hochdosistherapie sicherer und letztendlich kosteneffektiver. Wenn mindestens $2,0 \times 10^6$ CD34⁺ Zellen/kg Körpergewicht transplantiert werden kommt es in der Regel zu einer Rekonstitution der Hämatopoiese und des Immunsystems in einem Zeitraum von 2-3 Jahren.⁴¹ Um eine schnellere Rekonstitution zu erreichen, kann die Stammzelldosis erhöht werden. Bei einer Transplantation von mehr als $5,0 \times 10^6$ CD34⁺ Zellen/kg Körpergewicht kann jedoch keine weitere Verkürzung der Aplasie erreicht werden.⁴²⁻⁴⁴ In der allogenen Situation ist die Verwendung peripherer Blutstammzellen nicht generell vorteilhaft, da mit ihrem Einsatz auch ein etwas höheres Risiko für eine GvHD assoziiert ist.

Eine weitere Quelle für hämatopoietische Stammzellen ist Nabelschnurblut. Die Erkenntnisse, dass Nabelschnurblut ausreichend Stammzellen enthält sind relativ jung. Nabelschnurblut besitzt andere immunologische Eigenschaften als Knochenmark oder periphere Blutstammzellen. Aus diesem Grund ist ein Human-Lymphozytenantigen-Mismatch tolerabler und das Auftreten einer Graft-versus-Host-Erkrankung geringer. Die Untersuchung einer europäischen Arbeitsgruppe bei Patienten mit akuten Leukämien zeigte ähnlich Erfolg versprechende Ergebnisse wie bei Knochenmarktransplantation.⁴⁵ Studien von Laughlin et al., Sanz et al. und Ooi et al. haben bereits in den vergangenen Jahren gezeigt, dass Nabelschnurblut auch bei erwachsenen Patienten erfolgreich eingesetzt werden kann.⁴⁶⁻⁴⁹ Rocha et al. konnte zeigen, dass in den mit Nabelschnurblut transplantierten Patienten die hämatopoietische Rekonstitution verzögert, dafür das Risiko für eine schwere akute Graft-versus-Host-Erkrankung (GvHD) vermindert ist.⁴⁵ Es konnten keine Unterschiede hinsichtlich

chronischer GvHD, Rezidivhäufigkeit oder Überlebenswahrscheinlichkeit ermittelt werden, was Rocha darauf schließen ließ, dass Nabelschnurblut eines unverwandten Spenders bei Erwachsenen mit Leukämie eine Alternative darstellt, wenn kein HLA-identischer Geschwisterspender zur Verfügung steht. Ein Nachteil ist die geringe Mengengewinnung des Nabelschnurblutes pro Geburt. Mit ihr kann in der Regel nur ein Patient mit einem Maximalgewicht von 40 Kilogramm Körpergewicht behandelt werden. Vor einer Stammzelltransplantation ist der Patient über weitere Therapieoptionen aufzuklären. Eine klinische Untersuchung von Spender und Empfänger (Labor, CMV- (Cytomegalievirus) Testung, etc.) wird durchgeführt. Potentielle Infektions- und Komplikationsherde, wie zum Beispiel Nasennebenhöhlen oder Zähne werden saniert. Zur Durchführung der Transplantation wird der Patient etwa zwei Wochen vorher stationär auf eine möglichst keimarme Station aufgenommen und erhält eine intensive myelosuppressive Chemotherapie (Konditionierung). Das Ziel ist eine möglichst vollständige Zerstörung des erkrankten Knochenmarkes. In der darauf folgenden Aplasiezeit werden dem Patienten über einen venösen Zugang die gewonnenen Stammzellen infundiert. Die allogene Stammzelltransplantation geht mit einigen Risiken einher. Es können Nebenwirkungen der Chemo- und Strahlentherapie, wie Infektionen durch Bakterien, Viren und Pilze auftreten. Weitere Komplikationen sind ein fehlendes Engraftment des Transplantates, die sogenannte Transplantatabstoßung oder eine Graft-versus-Host-Erkrankung (GvHD). Die GvHD wird in eine akute (bis drei Monate nach Transplantation) und eine chronische Form (>100 Tage nach Transplantation) unterteilt. Immunologisch versteht man darunter eine Schädigung der drei Hauptorgane (Haut, Darm, Leber) durch alloreaktive T-Lymphozyten des Spenders. Eine Einteilung in vier Grade gibt die Schwere der GvHD wieder.⁵⁰ Zur Prophylaxe erhalten die Patienten verschiedene Immunsuppressiva (Ciclosporin A, Tacrolimus, Methotrexat, etc.)

Komplikationen der frühen Posttransplantationsphase (Tag0 bis +30) sind Knochenmarkaplasie, Mukositis, Lebervenenverschlüßerkrankung (VOD) und Infektionen, welche durch die Neutropenie und die verabreichten Immunsuppressiva begünstigt werden. In der mittleren Posttransplantationsphase (Tag+30 bis +100) werden bakterielle Infektionen, Pilz (Aspergillus)- und Virusinfektionen (CMV), Toxoplasmose, Pneumocystis jiroveci Pneumonie und hämorrhagische Zystitis beschrieben. Schließlich kommt es in der späten Posttransplantationsphase (>Tag +100) oft zu einer chronischen GvHD, Infektionen und Rezidiven der Grunderkrankung.

1.12 Hochrisiko Leukämie

Von einer Hochrisiko-Leukämie wird gesprochen, wenn ein ungünstiger Karyotyp wie zum Beispiel t(6;11), t(9;11), t(3;3), t(6;9), t(11;19), del5q, 11q23, FLT3-Mutation oder ein komplexer Karyotyp vorliegt, keine komplette Remission nach dem ersten Zyklus einer Chemotherapie erreicht werden konnte oder ein Rezidiv innerhalb der ersten sechs Monate nach Abschluß der Primärtherapie auftritt. Patienten mit einem dieser Faktoren werden durch eine alleinige Chemotherapie nur vereinzelt eine Heilung ihrer Erkrankung erreichen. Für diese Patientengruppe stellt die allogene Stammzelltransplantation die einzige kurative Therapieoption dar.

II. Fragestellung und Zielsetzung

Die vorliegende Arbeit untersucht die Therapieergebnisse einer neuen Transplantationsstrategie an einer Gruppe von Patienten mit prognostisch ungünstiger AML, MDS oder einem Blastenschub einer zuvor bestehenden myeloproliferativen Erkrankung. Von einer Hochrisiko-Leukämie wird gesprochen, wenn ein ungünstiger Karyotyp wie zum Beispiel t(6;11), t(9;11), t(3;3), t(6;9), t(11;19), del5q, 11q23, FLT3-Mutation oder ein komplexer Karyotyp vorliegt, keine komplette Remission nach dem ersten Zyklus einer Chemotherapie erreicht werden konnte oder ein Rezidiv innerhalb der ersten sechs Monate nach Abschluß der Primärtherapie auftritt. Patienten mit einem dieser Faktoren werden durch eine alleinige Chemotherapie nur vereinzelt eine Heilung ihrer Erkrankung erreichen. Für diese Patientengruppe stellt die allogene Stammzelltransplantation die einzige kurative Therapieoption dar. Da diese Patienten nach herkömmlichen Behandlungsprotokollen eine Heilungschance von weniger als 10% haben, wurden einige Veränderungen im klassischen Konditionierungsprotokoll vorgenommen. Das Protokoll besteht aus einer sequentiellen Chemotherapie gefolgt von einer frühen, intensiven Konditionierung als Vorbereitung für die Transplantation. Zur Beurteilung der Effektivität dieses neuen Vorgehens wurden Krankheits- und Patientenspezifische Einflussfaktoren auf das Therapieergebnis untersucht.

III. Material und Methoden

3.1 Projektziel- und dauer

Das Projektziel war eine Verbesserung der Ergebnisse der allogenen Stammzelltransplantation bei Patienten mit einer Hochrisikoleukämie.

Die Behandlungsdauer pro Patient betrug 200 Tage mit 12-monatiger Nachbeobachtungszeit. Das Protokoll wurde als beendet angesehen, als der letzte Patient die Nachbeobachtungszeit abgeschlossen hatte. Als primärer Endpunkt wurde das Gesamtüberleben nach einem Jahr evaluiert. Sekundäre Endpunkte stellten die Höhe der therapieassoziierten Mortalität und Rezidivhäufigkeit nach einem Jahr, die Inzidenz und Schwere akuter/chronischer GvHD und infektiöser Komplikationen und die immunologische Rekonstitution dar.

3.2 Studienprotokoll

Das Studienprotokoll, „ein Therapieoptimierungsversuch mit allogener peripherer Blutstammzelltransplantation nach myeloablativer Konditionierung bei Patienten mit prognostisch ungünstigen hämatologischen Neoplasien“, gab genaue Vorgaben in Bezug auf Patientenkollektiv, Therapierichtlinien und Abbruchkriterien. Das Protokoll wurde durch die Ethik-Kommission der Heinrich–Heine-Universität Düsseldorf begutachtet und freigegeben. Alle Patienten gaben vor Therapiebeginn ihr Einverständnis, im Rahmen der Studie behandelt zu werden. Insgesamt wurden 50 Patienten in die Studie eingeschlossen. So wurden Patienten mit einem ungünstigen Karyotyp (Veränderung am Chromosom 5, 7, an 11q23, das Philadelphiachromosom bei ALL und/oder Vorliegen eines komplex veränderten Karyotyps), Nichtansprechen auf Chemotherapie (Nichterreichen einer kompletten Remission nach dem ersten Kurs Chemotherapie beziehungsweise Nichtansprechen auf Imatinib bei der CML) oder

einem Frührezidiv der Erkrankung (Rezidiv innerhalb der ersten sechs Monate nach Abschluss einer Primärtherapie) in die Studie aufgenommen. Bei Vorliegen mindestens einer dieser Faktoren wurde im folgenden von einer Hochrisikoerkrankung gesprochen. Patienten mit Hochrisikoerkrankung haben mit konventioneller Chemotherapie eine extrem schlechte Prognose, so dass die Indikation für eine allogene Blutstammzelltransplantation besteht. Ein weiteres Einschlusskriterium war die Verfügbarkeit eines verwandten oder unverwandten HLA kompatiblen Spenders.

3.3 Voruntersuchungen

Bei allen Patienten wurde vor der Transplantation der Remissionsstatus dokumentiert, Begleiterkrankungen evaluiert und Ausgangswerte für spätere Kontrolluntersuchungen erhoben. Dazu wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

- mikrobiologische Untersuchungen mittels Bakterien-, Parasiten-, Pilz- und Virusserologie
- konventionelle Laboruntersuchungen
- HLA-Typisierung
- bildgebende Verfahren und Funktionsuntersuchungen (Abdomensonographie, Echokardiographie, Röntgen-Thorax, Röntgen der Nasennebenhöhlen, CT-Schädel, CT–Thorax/Abdomen/Hals bei malignen Lymphomen
- (Belastungs)- Elektrokardiogramm
- Lungenfunktionsuntersuchungen mit arterieller Blutgasanalyse und Kohlenmonoxid-Transfer
- bei Patienten über 50 Jahre Doppler der Carotiden
- Knochenmarkpunktion
- Aufklärungsgespräch mit schriftlicher Einverständniserklärung

3.4 Spenderuntersuchungen

Nach Spenderidentifizierung wurden drei Wochen vor der Transplantation eine komplette mikrobiologische Serologie und eine ausführliche klinische Untersuchung durchgeführt. Für die Freigabe von Familienspendern waren Ärzte der Klinik für Hämatologie, Onkologie und Klinische Immunologie der Heinrich–Heine-Universität Düsseldorf verantwortlich. Die Freigabe der Fremdspender erfolgte durch die jeweilige Entnahmeklinik.

3.5 Kriterien HLA-Übereinstimmung

Die HLA Typisierungen erfolgten nach dem deutschen Konsensus für immungenetische Spendersuche.⁵¹ Zusätzlich wurde eine molekulargenetische Typisierung der Klasse-1-Antigene gefordert. Für verwandte Spender wurden maximal 1 HLA Mismatch in GvH Richtung (A, B oder DRB1) und maximal 3 HLA Mismatches in HvG Richtung (A, B oder DRB1, z.B. haploididentischer Spender bei homozygotem Patienten) akzeptiert. Für nicht verwandte Spender wurde in GvH Richtung ein kompletter Mismatch auf C, DQ, DP oder ein molekulargenetisches Split-Mismatch auf A, B, DR und in HvG Richtung die doppelte Anzahl an Mismatches akzeptiert. Ein Crossmatch wurde durchgeführt. Dabei galt ein positives Ergebnis nicht als Ausschlusskriterium.

3.6 Therapieschema

Bei Patienten mit einer Hochrisikoleukämie besteht trotz allogener Stammzelltransplantation eine hohe Rezidivwahrscheinlichkeit der Leukämie. Aus diesem Grund stand eine Maximierung des antileukämischen Effektes im Vordergrund. Erste Studienergebnisse dazu lagen von der Arbeitsgruppe Kolb et al vor, die eine dosisreduzierte Konditionierung (TBI, Cyclophosphamid) direkt im Anschluss an eine

Zytoreduktion durch eine intensive Chemotherapie (Fludarabin, Amsacrin, Ara-C, FLAMSA) einsetzen und deren Auswertungen mit einem historischen Kontrollkollektiv vergleichen. Daraus ergab sich ein Vorteil des FLAMSA-Protokolls gegenüber den bisherigen Therapieansätzen. Um die antileukämische Wirksamkeit der Konditionierung weiter zu verbessern, ersetzen wir die eher immunsuppressiv wirksame Kombination aus einer Ganzkörperbestrahlung und Cyclophosphamid durch die potenten Zytostatika Melphalan und Thiotepa.

Tag -11	Aufnahme auf die KMT-Station mit Beginn der Hyperhydration mit 2 l/m ² 0,9% NaCl
Tag -10 bis -7	Amsacrin 100 mg/m ² in 500 ml G5% über 1h Fludarabin 30 mg/m ² in 250 ml 0,9% NaCl über 1h 4h später Ara-C 2000 mg/m ² in 1000 ml 0,9% NaCl über 2h
Tag -6 bis -4	ATG Fresenius 10 mg/kg KG in 250 ml 0,9% NaCl über 12h
Tag -3	Melphalan 150 mg/m ² in 500 ml 0,9% NaCl über 1h (Patient >60 Jahre 100 mg/m ²)
Tag -2	Thiotepa 10 mg/m ² in 250 ml 0,9% NaCl über 1h Patient >55 Jahre kein Thiotepa, 2h später duschen
Tag -1	Pause. Spülung mit 0,9% NaCl 3 l/m ²
Tag 0	Transfusion des Stammzellpräparates (PBSCT/KM/Cord-Blood)

Eine antiemetische Therapie mit 3 mg Granisetron (Kevatril) wurde begleitend eingeleitet. Vor der intravenösen Gabe von ATG Fresenius erfolgte eine prophylaktische Gabe von 250 mg 6-Methylprednisolon (Urbason), 1 Ampulle Fenistil (4 mg Dimetinden) und 1 Ampulle Sostril (50 mg Ranitidin).

FLAMSA-AMT Schema Düsseldorf

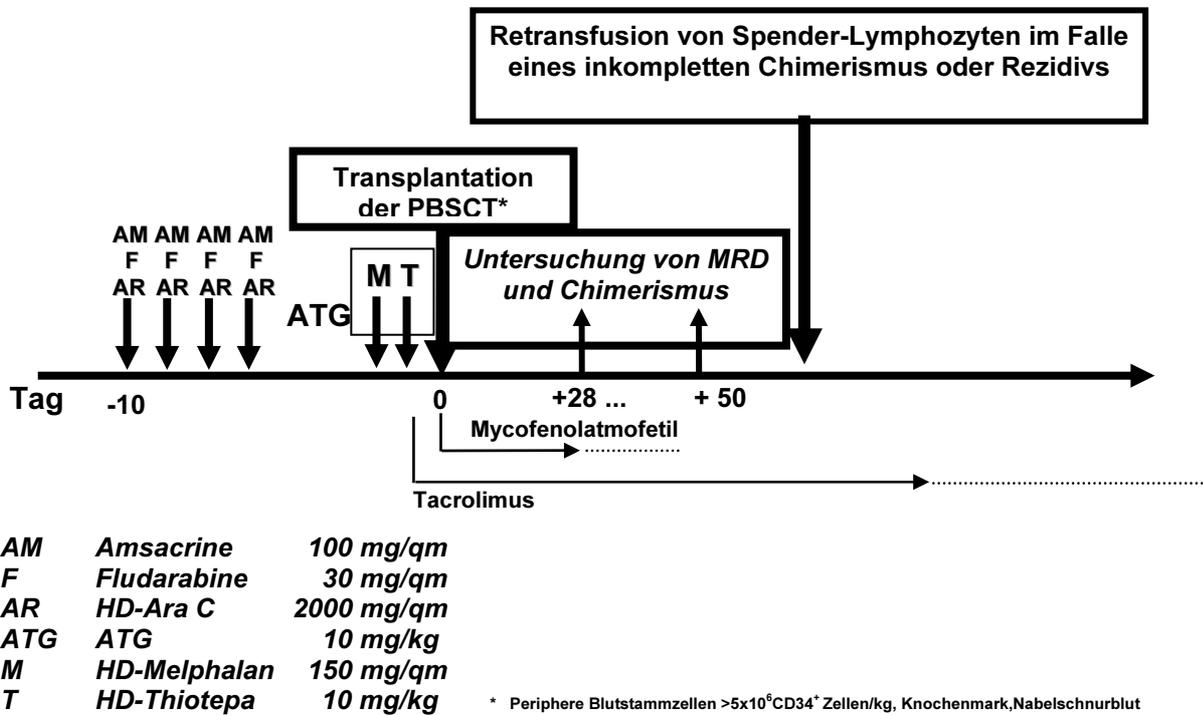


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Konditionierung

3.7 Transplantataufbereitung

Für die Gewinnung des Transplantates aus dem peripheren Blut gesunder Spender (n=45) erfolgte die Applikation von G-CSF (rekombinanter humaner Granulozytenkoloniestimulierender Faktor). In vier Fällen wurde Knochenmark und in einem Fall Nabelschnurblut transplantiert. Angefordert wurden $\geq 8 \times 10^6$ CD34⁺ Zellen/kg Körpergewicht des Patienten. Dazu wurden ein bis zwei Leukapheresen an zwei konsekutiven Tagen durchgeführt. Vor Aufteilung der Zellen erfolgte eine Bestimmung der Gesamtzahl (Leukozyten) und der Gesamtzahl an CD34⁺ Zellen. Anschließend wurden bei ausreichender Zellzahl 2×10^6 CD34⁺ Zellen/kg Körpergewicht und 3 Pilotröhrchen a 1ml als Reservetransplantat unmanipuliert in flüssigem Stickstoff eingefroren. Bei Patienten mit einem HLA-identischen Familien- oder Fremdspender, die sich nicht in kompletter Remission befanden, erfolgte eine direkte Transplantation des Stammzellpräparates ohne weitere Manipulation. Bei einem Patienten mit einem HLA-identischen Fremdspender in kompletter Remission erfolgte eine T-Zell-Depletion über eine immunomagnetische Positivselektion der CD34⁺ Zellen aus einem peripheren Blutstammzellpräparat. Das verwendete Isolex 300i System der Firma Baxter erzielt eine Depletion der T-Zellen um 2-3 log.⁵² Von der Positiv-Fraktion wurde nach Ende der Selektion eine Probe zur Qualitätskontrolle gewonnen. Anschließend wurde die Positiv-Fraktion ohne weitere Manipulation direkt transplantiert. Aus der Negativ-Fraktion wurde die Gesamtzahl der T-Lymphozyten und ihrer Subpopulation bestimmt. Die Zellsuspension wurde dann in mehrere Portionen in flüssigem Stickstoff kryokonserviert.

3.8 GvHD Prophylaxe

Ab Tag -1 erhielten die Patienten 2 mal täglich Prograf (Tacrolimus~FK 506). Initial wurden 0,05 mg/kg per os (p.o.) oder 0,02 mg/kg i.v. in 2 Einzeldosen verabreicht. Im weiteren Verlauf wurde die Tagesdosis dem jeweiligen Prografspiegel im Serum angepasst. Hierbei galten folgende angestrebte Spiegel:

0 – 15 ng/l Tag+1 bis Tag+28

8 – 10 ng/l Tag+28 bis +50

Im Falle keiner GvHD Anzeichen wurde Prograf ab Tag+75 ausgeschlichen.

Ab Tag 0 erfolgte die Applikation von MMF (Mycophenolatmofetil) dreimal täglich 1g.

Erste Gabe eine Stunde nach Beendigung der Transfusion der Blutstammzellen.

Ab Tag +50 wurde MMF reduziert oder abgesetzt.

3.9 Chimärismusanalyse

Zu den Zeitpunkten Tag 0, Tag+28, Tag+50 und Tag+100 erfolgte eine Chimerismusanalyse mittels PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) -Amplifikation sieben verschiedener, polymorpher Gen-Loci aus Blut- und Knochenmarkmaterial. Bei den verwendeten Genen handelte es sich um:

TPOX (Chr.2p; mindestens 9 differenzierbare Allele)⁵³

CSF1PO (Chr.5q; mindestens 10 differenzierbare Allele)

FES/FPS (Chr.5q; mindestens 9 differenzierbare Allele)⁵⁴

F13A1 (Chr.6p; mindestens 14 differenzierbare Allele)⁵⁵

HumTH01 (Chr.11p; mindestens 10 differenzierbare Allele)

VWA (Chr.12p; mindestens 12 differenzierbare Allele)⁵⁶

HumAR (Chr.Xq; mindestens 21 differenzierbare Allele)⁵⁷

Die Gesamtwahrscheinlichkeit, dass zwei zufällig ausgewählte Proben beziehungsweise unverwandte Individuen in diesen Systemen (außer HumAR) übereinstimmten, ergab sich aus der Multiplikation der Einzelwahrscheinlichkeiten der „probability of match“ (PoM), im vorliegenden Fall: $PoM=0,00000226$ oder $0,000226\%$. Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei zufällig ausgewählte Proben beziehungsweise Individuen mit den sechs berücksichtigten Systemen (nicht HumAR) unterschieden werden konnten, betrug $0,00000226\%$ oder $0,000226\%$. Diese Berechnung erfolgte nach Jones et al. und bezog sich auf deutsche Allelfrequenzen.⁵⁸⁻⁶⁰ Vor der Transplantation wurden alle Gen-Loci einzeln für Patient und Spender ausgetestet um zu ermitteln, für welche Sequenz bei Patient und Spender unterschiedliche Allele vorlagen beziehungsweise welche Loci eine Aussage trafen. Das Ergebnis der molekulargenetischen Chimärismusanalyse wurde in Form des prozentualen Anteils der Spenderallele an den insgesamt detektierten Allelen angegeben. Die Chimärismusanalyse wurde aus unsepariertem peripherem Blut, aus Knochenmark und in Einzelfällen aus angereicherten Zellpopulationen (CD3, CD33) durchgeführt. Parallel wurde bei geschlechtsungleicher Transplantation und bei Vorhandensein eines spezifischen Markers die Zytogenetik inklusive FISH aus Knochenmark beziehungsweise Blut zur Chimärismusanalyse herangezogen (Dr.B.Hildebrandt, Institut für Humangenetik). Bei geschlechtsgleicher Transplantation erfolgte eine Zytogenetik nur, wenn klinisch der Verdacht auf ein Rezidiv vorlag.

3.10 Quantifizierung der Minimalen Resterkrankung

(MRD= Minimal residual disease)

Bevor die Patienten auf die KMT-Station eingeschleust wurden, erfolgte aus der peripheren Blastenpopulation die Ermittlung des tumoreigenen Phäno- beziehungsweise Genotyps (Immunphänotypisierung, PCR, FISH). Im Verlauf wurde in Abhängigkeit vom Ausgangsbefund in Einzelfällen nach der Transplantation im Knochenmark mittels Durchflusszytometrie und/oder PCR bzw. FISH an selektionierten Zellpopulationen eine MRD Diagnostik durchgeführt.

3.11 Supportive Therapie

Alle Patienten erhielten Ciprofloxacin 2x750 mg/Tag in Kombination mit Metronidazol 500 mg morgens, 250 mg mittags, 500 mg abends und Fluconazol (1x200 mg/Tag, ab Tag-1). Als Alternative konnte statt Ciprofloxacin auch Colistinsulfat 4x200 mg/Tag in Kombination mit Paramomycin 4x500 mg/Tag eingesetzt werden.

Vom Tag der Einschleusung bis zum Tag-1 morgens erfolgte zusätzlich die Gabe von Sulfamethoxazol/Trimethoprim (Cotrimoxazol forte 2x1 Tablette/Tag). Zehn Tage nach der Regeneration der neutrophilen Granulozyten (etwa Tag+28) erfolgte in Abhängigkeit von der Nierenfunktion eine PCP Prophylaxe mit Cotrimoxazol forte 1x1 Tablette Montag, Mittwoch und Freitag. Bei Entlassung wurden einmalig 20 g Polyglobulin N verabreicht.

In Einzelfällen erfolgte ab Tag+4 bis zum Überschreiten von 3000 Leukozyten pro Mikroliter an 3 aufeinander folgenden Tagen die Gabe von G-CSF (Filgrastin, Neupogen, Amgen), 5 µg/kg/Tag subkutan morgens. Nach der Entlassung wurde bis zum Ende der Immunsuppression (MMF/FK506) die PCP Prophylaxe mit Cotrimoxazol

forte (1x1 Tablette Montag, Mittwoch, Freitag) sowie eine antimykotische Prophylaxe mit Fluconazol weiter fortgeführt.

3.12 Antivirale Prophylaxe

Die antivirale Prophylaxe wurde jeweils abhängig vom Cytomegalievirus (CMV)- Status des Spenders und des Empfängers ermittelt:

- Patient und Spender CMV negativ

Patient CMV negativ und Spender CMV positiv

Patient und Spender CMV positiv

Zovirax (Aciclovir)	3x500 mg/m ² /Tag i.v.	Tag+1 bis zur Entlassung
---------------------	-----------------------------------	--------------------------

Famvir (Famciclovir)	2x250 mg/Tag p.o.	Von Entlassung bis Tag+180
----------------------	-------------------	----------------------------

Oder

Valtrex (Valaciclovir)	3x500 mg/Tag p.o.	Von Entlassung bis Tag+180
------------------------	-------------------	----------------------------

- Patient CMV positiv und Spender CMV negativ

Zovirax (Aciclovir)	3x500 mg/m ² /Tag i.v.	Tag+1 bis zur Regeneration von Neutrophilen und Thrombozyten
---------------------	-----------------------------------	--

Cymeven (Ganciclovir)	1x5 mg/kg/Tag i.v.	Regeneration von Neutrophilen, Thrombozyten bis zur Entlassung
-----------------------	--------------------	--

Valcyte (Valganciclovir)	2x450 mg/Tag p.o.	Entlassung bis Tag+180
--------------------------	-------------------	------------------------

In den ersten drei Monaten nach der Transplantation wurden in der ambulanten Nachsorge 1X wöchentlich PCR Untersuchungen auf CMV, Herpes Simplex Viren

(HSV), Epstein Barr Virus (EBV), Humanes Herpes Virus 6 (HHV6) und Adenoviren durchgeführt.

Kontrolluntersuchungen erfolgten nach den Richtlinien für die Nachsorge nach allogener Blutstammzelltransplantation über die Knochenmarktransplantations-Ambulanz der Medizinischen Klinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

3.13 Diagnose und Behandlung der GvHD

Die akute GvHD wurde nach folgenden Kriterien diagnostiziert:⁶¹

Haut: Grad I	Auftreten eines makulopapulösen Exanthems <25% der KO
Grad II	Auftreten eines makulopapulösen Exanthems 25-50% der KO
Grad III	Generalisiertes makulopapulöses Exanthems >50% der KO
Grad IV	Generalisiertes makulopapulöses Exanthem mit Blasenbildung und Desquamation
Leber: Grad I	Anstieg des Gesamtbilirubins auf 2,0-2,9 mg/dl
Grad II	Anstieg des Gesamtbilirubins auf 3,0-5,9 mg/dl
Grad III	Anstieg des Gesamtbilirubins auf 6,0-14,9 mg/dl
Grad IV	Anstieg des Gesamtbilirubins auf >15 mg/dl
GIT: Grad I	Diarrhoe >500 ml/Tag und Ausschluß einer Infektion bzw. biopsische Sicherung der GvHD
Grad II	Diarrhoe >1000 ml/Tag
Grad III	Diarrhoe >1500 ml/Tag
Grad IV	Diarrhoe >2000 ml/Tag mit Abdominalschmerzen oder Ileus

In der Gesamtbewertung sah dies folgendermaßen aus:

- I Grad I-II Haut ohne Leber und/oder GIT-Beteiligung
- II Grad I-III Haut mit Grad I GIT- und/oder Leberbeteiligung
oder isoliert Haut Grad III
- III Grad II-III Haut mit Grad II-III GIT- und/oder Leberbeteiligung
- IV Grad II-IV Haut mit Grad II-IV GIT- und/oder Leberbeteiligung
oder isoliert Haut Grad IV

(KO=Körperoberfläche; GIT=Gastrointestinaltrakt)

Jede akute GvHD ab Grad II galt als therapiebedürftig. Initial wurden Steroide in einer Dosierung von 2x250 mg (oder bei ausgeprägter Symptomatik 2x500 mg) Methylprednisolon pro Kilogramm und Tag eingesetzt. Bei lokal begrenzter, kutaner GvHD erfolgte der topische Einsatz von steroidhaltigen Externa. Eine intestinale GvHD wurde in Abhängigkeit von der klinischen Ausprägung zusätzlich oder ausschließlich mit einem lokal wirksamen Steroid behandelt (Entokort 3x3 mg). Erwies sich die Therapie als erfolgreich, erfolgte eine gestaffelte Reduktion der Steroiddosis analog der Richtlinien zur Therapie der akuten GvHD. Bei Nichtansprechen wurde zusätzlich ATG eingesetzt (in der Regel 10 mg/kg an 4 aufeinander folgenden Tagen, bei fehlendem Ansprechen erfolgte die Gabe eines 2. Kurses). Alternativ wurde eine Therapie mit anti-CD25 Antikörpern, anti-TNF-alpha Antikörpern oder Pentostatin durchgeführt.

3.14 Evaluation und Statistische Auswertung

Bei allen Patienten wurde mittels einer Knochenmarkpunktion Material zur Untersuchung von Zytomorphologie, Zytogenetik, Chimärismusanalyse sowie Durchflusszytometrieanalysen am Tag+30 und +100 gewonnen.

Als komplette Remission (CR) wurde ein Blastenanteil im Knochenmark von $< 5\%$ in Kombination mit $> 1,0 \times 10^9/l$ Neutrophile Granulozyten im peripheren Blut definiert.

Der Zeitpunkt der Rekonstitution der Neutrophilen Leukozyten wurde als der Tag definiert, ab welchem sie $> 1,0 \times 10^9/l$ und die der Thrombozyten ab $> 20 \times 10^9/l$ an drei aufeinander folgenden Tagen zu beobachten waren.

Therapiebedingte Mortalität (non relapse mortality=NRM) und GvHD wurden nach den aktuellen Richtlinien definiert und eingeteilt.⁵⁰ Das Leukämie rezidivfreie Überleben (leukemia free survival=LFS) der Patienten wurde in einem zeitlichen Rahmen von insgesamt einem Jahr beobachtet. Die folgenden Endpunkte wurden im Rahmen einer statistischen Analyse untersucht. Gesamtüberleben (overall survival, OS), definiert als Zeit von der Transplantation bis zum Tod, beziehungsweise der Anteil der Patienten, welche ein und zwei Jahre nach der Transplantation noch lebten. Leukämiefreies Überleben (leukemia free survival, LFS), definiert als die Zeit von der Transplantation bis zum Tod oder Auftreten eines Rezidivs, bzw. der Anteil der Patienten welche ein und zwei Jahre nach der Transplantation noch lebten und kein Rezidiv der Leukämie erlitten hatten. Rezidivrate (relapse rate, RR), definiert als Anteil der Patienten, die ein Rezidiv der Erkrankung erlitten. Therapiebedingte Mortalität (non-relapse mortality, NRM), definiert als Anteil der Patienten, die an therapiebedingten oder anderen Ursachen verstarben ohne zuvor an einem Rezidiv der Grunderkrankung erkrankt gewesen zu sein. Zur Datenaquirierung standen vollständige Patientenakten, Studien- und Verlaufsprotokolle zur Verfügung. Die Auswertung erfolgte durch eine univariate Analyse

mittels SPSS Software (SPSS Inc, Chicago, IL), X^2 test, Student's t test und Fisher's exact test. Die daraus statistisch verwertbaren Ergebnisse wurden zusätzlich einer multivariaten Analyse unterzogen. OS, LFS, NRM und Rezidivrate wurden nach der Methode von Kaplan und Meier ausgewertet und graphisch dargestellt.⁶² Die Analyse von möglichen Risikofaktoren im Hinblick auf das Gesamtüberleben wurden mittels des Log-Rank-Test und Cox proportional hazard regression model ermittelt. Die Daten wurden einschließlich bis zum 01 Juli 2006 erfasst.

Die Daten der HLA Kompatibilität wurden uns vom hiesigen Institut für Transplantationsdiagnostik und Zelltherapeutika (ITZ) zur Verfügung gestellt.

3.15 Patientenkollektiv

In die Studie wurden insgesamt 50 Patienten mit einer Hochrisikoleukämie eingeschlossen. Davon waren 15 Patienten (30%) weiblichen und 35 Patienten (70%) männlichen Geschlechtes. Das Durchschnittsalter betrug 49,8 Jahre (Median, Spanne 16,6-64,8). Die Patienten wurden nach der Art ihrer Erkrankung zugeordnet. Insgesamt wiesen 41 (82%) Patienten eine AML/MDS und 9 (18%) Patienten eine Blastentransformation im Rahmen eines Myeloproliferativen Syndroms auf. Zum Zeitpunkt der Transplantation hatten 17 Patienten (34%) eine de novo AML, 4 Patienten (8%) ein MDS, 19 Patienten (38%) eine sekundäre AML nach einem MDS, 1 Patient (2%) eine sekundäre AML nach einem Non-Hodgkin-Lymphom (NHL) und 9 Patienten (18%) eine Chronisch Myeloproliferative Erkrankung. Die Zytogenetik wurde in günstig (2%), intermediär (40%) und schlecht (58%) eingeteilt. Zum Zeitpunkt der Transplantation befanden sich 6 Patienten (12%) in kompletter Remission, 11 Patienten (22%) im Rezidiv (1.Rezidiv = 6 (12%), 2.Rezidiv = 2 (4%),

3.Rezidiv = 2 (4%), 4.Rezidiv = 1 (8%)) und 29 Patienten (58%) in einem refraktären Krankheitszustand. Vier Patienten waren zuvor unbehandelt, qualifizierten sich jedoch für die Studie durch eine ungünstige Zytogenetik. Zum Zeitpunkt der Transplantation betrug der Anteil an Blasten im Knochenmark 22,1% (Median, Spanne 0-96), wobei bei 12 Patienten (24%) der Blastenanteil zwischen 0-5%, bei 23 Patienten (46%) zwischen 6-20% und bei 15 Patienten (30%) über 20% lag.

Patientencharakteristika	Ergebnisse
Geschlecht, n (%)	
Weiblich	15 (30)
Männlich	35 (70)
Alter im Median, (Spanne)	49,8 (16,6-64,8)
Erkrankung bei Transplantation, n (%)	
De novo AML	17 (34)
MDS	4 (8)
AML sekundär aus MDS	19 (38)
AML sekundär aus NHL	1 (2)
CMPE	9 (18)
Zytogenetik, n (%)	
Günstig	1 (2)
Intermediär	20 (40)
Ungünstig	29 (58)
Krankheitsphase Transplantation, n(%)	
CR	6 (12)
Rezidiv gesamt	11 (22)
1.	6 (12)
2.	2 (4)
3.	2 (4)
4.	1 (2)
Refraktär	29 (58)
Unbehandelt	4 (8)
Blastenanteil Knochenmark	
Median, % (Spanne)	22,1 (0-96)
>20% Blasten, n (%)	15 (30)

Tabelle 6: Patientencharakteristika; AML=Akute Myeloische Leukämie; MDS=Myelodysplastisches Syndrom; NHL=Non-Hodgkin-Lymphom; CMPE=Chronisch myeloproliferative Erkrankung; CR=komplette Remission

Als Spender konnten 12 identische Familienspender (24%), 1 partiell identischer Familienspender (2%), 27 identische Fremdspender (54%) und 10 partiell identische Fremdspender (20%) ausfindig gemacht werden.

Bei 28 Patienten (56%) stimmte das Spendergeschlecht mit dem Geschlecht des Patienten überein. Somit waren 22 Spender (44%) nicht mit dem Empfängergeschlecht identisch. Davon bestand bei jeweils 11 Patienten (50%) eine Konstellation Patient männlich/Spender weiblich und Patient weiblich/Spender männlich.

Bei 19 Patienten (38%) lag vor der Transplantation ein gemeinsamer positiver und bei 13 Patienten (26%) ein negativer CMV-Status vor. Insgesamt 17 Patienten (34%) zeigten einen unterschiedlichen CMV-Status vor der Transplantation.

Die HLA Kompatibilität zwischen Empfänger und Spender war bei 39 Patienten (78%) identisch. Bei 11 Patienten (22%) konnte ein HLA-mismatch nachgewiesen werden.

Spendercharakteristika	Ergebnisse
Spender, n (%)	
Identischer Familienspender	12 (24)
Partiell identischer Familienspender	1 (2)
Identischer Fremdspender	27 (54)
Partiell identischer Fremdspender	10 (20)
Geschlechterrealition, n (%)	
Übereinstimmung	28 (56)
Patient männlich/Spender weiblich	11 (22)
Patient weiblich/Spender männlich	11 (22)
CMV Status, n (%)	
Patient ^{neg.} /Spender ^{neg.}	13 (26)
Patient ^{pos.} /Spender ^{neg.}	10 (20)
Patient ^{neg.} /Spender ^{pos.}	7 (14)
Patient ^{pos.} /Spender ^{pos.}	19 (38)

Tabelle 7: Spendercharakteristika; CMV=Cytomegalievirus

Es wurden überwiegend periphere Blutstammzellen (90%) transplantiert. In einem Fall wurden Stammzellen aus Nabelschnurblut (2%) und in vier Fällen aus dem Knochenmark (8%) verwendet.

Die im Transplantat beinhalteten CD 34⁺ Zellen betragen 7,4x10⁶/kg Körpergewicht (KG) (Median, Spanne 0,85-17,6). Weiter aufgeschlüsselt erhielten 37 Patienten (74%) <10x10⁶/kg KG CD34⁺ Zellen. Zweiundvierzig Patienten (48%) erhielten das FLAMSA Regime, 7 Patienten (14%) das Basisregime Fludarabine in Kombination mit Hochdosis Cytarabine. In einem Fall bestand das Transplantat aus selektierten ionisierten CD34⁺ Zellen. Dieser Patient erhielt zur GvHD Prophylaxe eine Monotherapie mit Tacrolimus. Alle anderen Patienten erhielten eine GvHD Prophylaxe mit Tacrolimus und MMF. Als Konditionierung erhielten 34 Patienten (68%) eine Kombination aus Melphalan und Thiotepa, 12 Patienten (24%) eine Monotherapie mit Melphalan 150 mg und 3 Patienten (6%) eine Monotherapie mit nur 100 mg Melphalan. Ein Patient (2%) erhielt eine hyperfraktionierte Ganzkörperbestrahlung mit 6x2 Gy. Fünfunddreißig (70%) Patienten

wurde 30 mg/kg, 14 Patienten (28%) 60 mg/kg und einem Patienten (2%) kein ATG zugeführt. Ein Patient mit Knochenmarkstransplantat erhielt Cyclosporine A in Kombination mit MMF.

Transplantatcharakteristika	Ergebnisse
Transplantat, n (%)	
PBSC	45 (90)
BM	4 (8)
CB	1 (2)
Median CD34 ⁺ Zellen, x*10 ⁶ /kg (Spanne)	7,4 (0,85-17,6)
Induktionstherapie, n (%)	
FLAMSA	42 (48)
Flu+HD-AraC	7 (14)
Flu mono	1 (2)
ATG absolut, n (%)	
30mg/kg	35 (70)
60mg/kg	14 (28)
Keine	1 (2)
Konditionierung, n(%)	
Melphalan/Thiotepa	34 (68)
Melphalan 150mg/m ²	12 (24)
Melphalan 100mg/m ²	3 (6)
6x2 Gy, TBI	1 (2)

Tabelle 8: Transplantatcharakteristika; PBSC=peripheral blood stem cells; BM=bone marroe; CB=cord blood; FLAMSA=fludarabine+highdosis cytarabine+amsacrine; Flu=fludarabine; HD-AraC=highdosis cytarabine; ATG=antithymocyte globulin; TBI=total body irradiation.

IV. Ergebnisse

In dem Zeitraum von Juni 2003 bis Februar 2006 wurden insgesamt 50 Patienten mit einer Hochrisikoleukämie behandelt. Das Kollektiv gliederte sich in 17 Patienten (34%) mit einer de novo AML, 23 Patienten (46%) mit Progression eines MDS beziehungsweise sekundärer AML (sAML/MDS), 1 Patient (2%) mit sekundärer AML nach NHL und 9 Patienten (18%) mit einer Blastentransformation eines MPD. Der stationäre Aufenthalt belief sich auf 37 Tage (Median, Spanne 23-119).

Die FLAMSA Konditionierung zeigte eine erfolgreiche Zellreduktion und daraus folgende Panzytopenie bei allen Patienten. Bei 46 Patienten erfolgte ein Anwachsen des Transplantates, zwei starben in Aplasie (Tag+8, +9) und bei zwei Patienten wuchsen die peripheren Blutstammzellen (PBSC) des Spenders nicht an. Die Leukozyten ($>1.0 \times 10^9/l$) sowie die Thrombozytenrekonstitution ($>20 \times 10^9/l$) erfolgte 15 Tage nach Anwachsen der Spenderzellen (Median, Leukozyten-Spanne 8-24; Thrombozyten-Spanne 7-30). In zwei Fällen wuchsen die infundierten peripheren Blutstammzellen (PBSC) nicht beim Empfänger an. Dabei handelte es sich in einem Fall um ein frühes Transplantatversagen, daß heißt eine sogenannte Rejection (Transplantatabstoßung), bereits am Tag+28, der andere Fall trat nach bereits kompletter hämatologischer Rekonstitution auf. Nachdem beiden Patienten kryokonservierte CD34⁺ Zellen des allogenen Spenders infundiert wurden, kam es zur erfolgreichen Rekonstitution des Blutbildes. Bei dem Patienten, der ein Nabelschnurbluttransplantat erhalten hatte, blieb eine Rekonstitution einer Hämatopoiese aus. Deshalb wurde an Tag+40 ein T-Zell depletiertes Transplantat eines haploidentischen Spenders infundiert, woraufhin es nach 3 Wochen zu einer Regeneration der Leukozyten kam. Am Tag+30 befanden sich 45 von 50 Patienten (90%) in kompletter Remission. Drei von 48 Patienten (6,3%) erreichten keine komplette Remission. Zwei Fälle konnten nicht evaluiert werden, da die

Patienten frühzeitig (Tag+8/+9) verstarben. Bei einem Patienten mit partieller Remission (Blastenanteil von 6%) zeigte sich nach Reduktion der initial applizierten Immunsuppressiva am Tag+100 eine komplette Remission.

Die Anzahl der infundierten Erythrozytenkonzentrate betrug 12 Einheiten (Median, Spanne 2-34), die der Thrombozytenkonzentrate 22 Einheiten (Median, Spanne 8-82). Bis zum Tag+30 zeigten 18 Patienten (36%) ein normwertiges (< 0,9 mg/dl) und 32 Patienten (64%) ein erhöhtes Serumkreatinin (> 0,9 mg/dl). In sieben Fällen erhöhte sich das Serumkreatinin auf das doppelte des jeweiligen Ausgangswertes. Bei 22 Patienten (44%) stieg das Bilirubin über 2,0 mg/dl mit einem maximalen Bilirubinanstieg bis einschließlich Tag+30 auf 7,85 mg/dl (Median 1,84). In einem Fall kam es zu einer Venenverschlusserkrankung (VOD). Eine Mukositis Grad I trat bei 3 Patienten (6%), Grad II-III bei 25 Patienten (50%) und Grad IV bei 20 Patienten (40%) auf. Eine akute GvHD entwickelte sich bei insgesamt 31 Patienten (62%). Davon wiesen 27 Patienten (56,3%) eine akute GvHD Grad I-II und 4 Patienten (8,3%) einen Grad III-IV auf. Drei Patienten verstarben an einer Sepsis im Rahmen einer therapeutisch nicht ausreichend beeinflussbaren akuten GvHD. Für die Bearbeitung der chronischen GvHD wurden nur Patienten betrachtet, die an Tag +100 lebten (43 Patienten; 86%). Von diesen entwickelten 21 (48,8%) eine chronische GvHD, wobei 7 Fälle (33,3%) de novo und 14 Fälle (66,6%) aus einer akuten GvHD entstanden. Eine limitierte chronische GvHD trat bei 15 Patienten (30%) und eine ausgedehnte chronische GvHD bei 7 Patienten (14%) auf. Innerhalb der Gruppe mit einer ausgedehnten chronischen GvHD verstarben zwei Patienten an dieser.

Infektionsbedingte Komplikationen waren bakteriellen oder mykologischen Ursprungs. Bei 14 Patienten (28%) kam es zu einer Virusreaktivierung (6x CMV,

6x EBV, 4x HHV, 2x HSV). Zwei Patienten (4%) verstarben an Tag+8 beziehungsweise Tag+9 infolge eines Septischen Schocks. Eine therapiebedürftige hämorrhagische Zystitis, welche durch das Polyomavirus-BK (BK-Virus) ausgelöst wurde, trat bei 13 Patienten (26%) auf. Nach der Transplantation trat bei 19 Patienten (38%) eine febrile Neutropenie auf. Bei 11 Patienten (22%) bestand das klinische Bild einer Enzephalitis und 10 Patienten (20%) mussten auf die interdisziplinäre internistische Intensivstation verlegt werden. In einem Zeitraum von Tag+8 bis Tag+661 (Median Tag+208) verstarben 18 Patienten (36%) an therapiebedingten Komplikationen, die nicht im Zusammenhang mit einem Krankheitsrezidiv standen. Gründe dafür waren Infektionen (n=8), das alleinige Auftreten einer GvHD (n=2) oder in Kombination mit einer Infektion (n=6), kardial bedingte Ursachen (n=1) und in einem Fall eine thrombotisch thrombozytopenische Purpura (n=1).

Zum Zeitpunkt der letzten Datenerhebung (01.07.2006) lebten 22 Patienten (44%). Die Nachbeobachtungszeit betrug 349 Tage (Median, Spanne 178-520). An Tag+100, ein Jahr und 2 Jahre nach der Transplantation zeigte sich ein Gesamtüberleben von 84%, 49% und 27%. Das Leukämiefreie Überleben betrug zu diesen Zeitpunkten 82%, 45% und 27% (Abbildung 5).

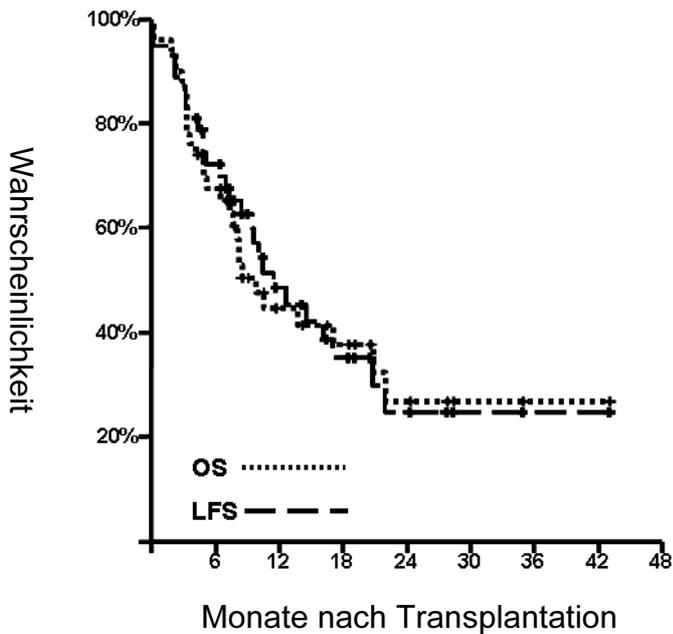


Abbildung 5: Gesamtüberleben(OS), und Leukämiefreies Überleben (LFS) der gesamten Gruppe

In der univariaten Analyse zeigte sich, dass eine GvHD ($p=0,07$) und die Konditionierung bei Patienten unter dem 55. Lebensjahr mit einer Kombination aus Melphalan und Thiotepa ($p=0,002$) ein erhöhtes Risiko für eine NRM aufwiesen.

Bei einer Nachbeobachtungszeit von 15,2 Monaten (Median, Spanne 4-43) zeigte sich bei 11 Patienten (22%) ein Rezidiv der Leukämie (hämatologisch, $n=10$; extramedullär, $n=1$) 6 Monate (Median, Spanne 1,8-13,7) nach Transplantation. In 10 von diesen 11 Fällen (91%) trat das Rezidiv innerhalb des ersten Jahres auf. Innerhalb von 9,9 Monaten nach Transplantation (Median, Spanne 3,8-16,2) verstarben 8 Patienten (16%) an einem Rezidiv und 2 Patienten (4%) an einer Persistenz der Leukämie. Die Rezidivrate an Tag+100, ein und zwei Jahre nach Transplantation belief sich auf 6,5 +/- 3,62%, 28,3 +/- 8,0% und 34,4 +/- 8,9%.

Die Auswertung zeigt eine therapiebedingte Mortalität (NRM) am Tag+100 von 16+/- 5,2% und ein Jahr nach der Transplantation von 35 +/- 7,1% (Abbildung 6).

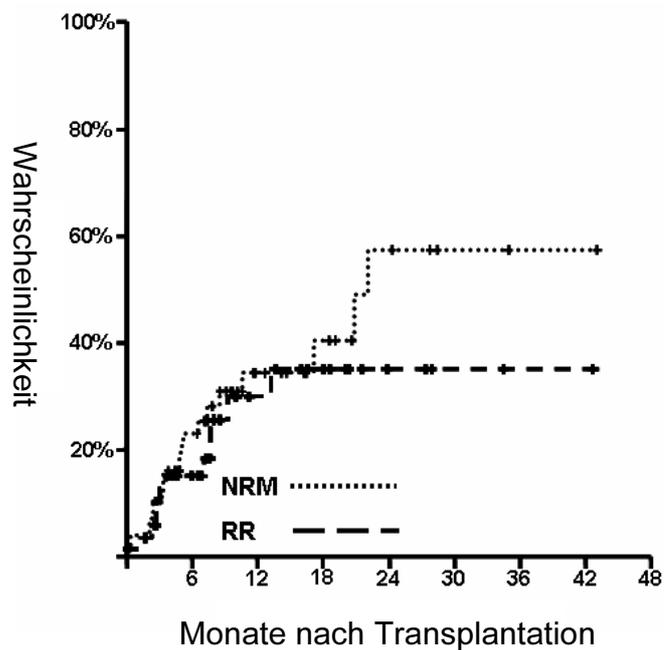


Abbildung 6: Rezidivrate (RR), Therapiebedingte Mortalität (NRM) der gesamten Gruppe

Eine HLA-Inkompatibilität, der Karyotyp und der Blastenanteil zum Zeitpunkt der Transplantation standen in keinem Zusammenhang mit dem Risiko eines Rezidivs.

Von 18 Patienten (36%), die im Beobachtungszeitraum an therapiebedingten Komplikationen verstarben, hatten 17 Patienten (94,4%) eine Kombinationstherapie aus Thiotepa und Melphalan erhalten. Bei genauerer Analyse dieser Subgruppe zeigt sich in der 1-Jahres NRM eine klare Differenz von 47% bei Kombinationstherapie mit Melphalan und Thiotepa zu 7% bei Monotherapie ausschließlich mit Melphalan. Die Wahl der Konditionierung hatte nicht nur Einfluss auf das Überleben bei NRM sondern auch auf das Gesamt- (OS) und Leukämiefreie Überleben (LFS) (Abbildung 7D). Bei einer Konditionierung mittels Kombinationstherapie aus Melphalan und Thiotepa vs.

Monotherapie Melphalan zeigte sich ein signifikanter Unterschied im Hinblick auf LFS und OS (OS= 41% vs. 72% (p=0,02); LFS=34% vs. 71% (p=0,03)). Die Konsequenz aus diesen Ergebnissen sollte ein Zurücknehmen der Thiotepa-Therapie bei zukünftiger Konditionierung sein. Ungeachtet dessen konnte bei Patienten mit einer Hochrisikoleukämie unter Monotherapie mit Melphalan eine hohe Effektivität im Hinblick auf das 1-Jahres Gesamtüberleben von 72% beobachtet werden. Die weiteren, von uns untersuchten Variablen wie zum Beispiel Zytogenetik (Abbildung 7A) und der Blastenanteil im Knochenmark (Abbildung 7B) zum Zeitpunkt der Transplantation hatten keinen signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben, das LFS und die RR. Das Auftreten einer akuten oder chronischen GvHD stand nach statistischer Auswertung nicht im Zusammenhang mit der Dosis transfundierter CD34⁺ Zellen, dem Alter, dem Geschlecht, dem CMV-Status, der Auswahl des Konditionierungsschemas oder der Spendercharakteristika.

Die Entwicklung einer akuten GvHD hatte jedoch einen signifikanten Einfluss auf das Studienergebnis. Patienten mit Nachweis einer akuten GvHD wiesen im Vergleich zu denen ohne eine bessere Gesamtüberlebens- (OS) und Leukämiefreie (LFS) Zeit auf (OS=53% vs. 36, p=0,01; LFS=55% vs. 29%, p=<0,01 (Abbildung 7C)). Bei Patienten mit einer akuten GvHD Grad I-II konnten deutlich weniger Rezidive beobachtet werden. In der Gruppe der Patienten mit einer akuten GvHD Grad III-IV konnten wir genau das Gegenteil beobachten. In dieser Gruppe zeigte sich eine erhöhte Sterblichkeit. Das Auftreten einer akuten und späteren chronischen GvHD war assoziiert mit einer geringeren Rezidivrate (aGvHD=18% vs. 48%, p< 0,01; cGvHD= 16% vs. 43%, p 0,01). Es zeigte sich, dass mit Vorkommen einer extensiven cGvHD die therapiebedingte Mortalität ansteigt (33% vs. 12%, p=0,07) und somit einen entscheidenden Einfluss auf das Überleben ausübt.

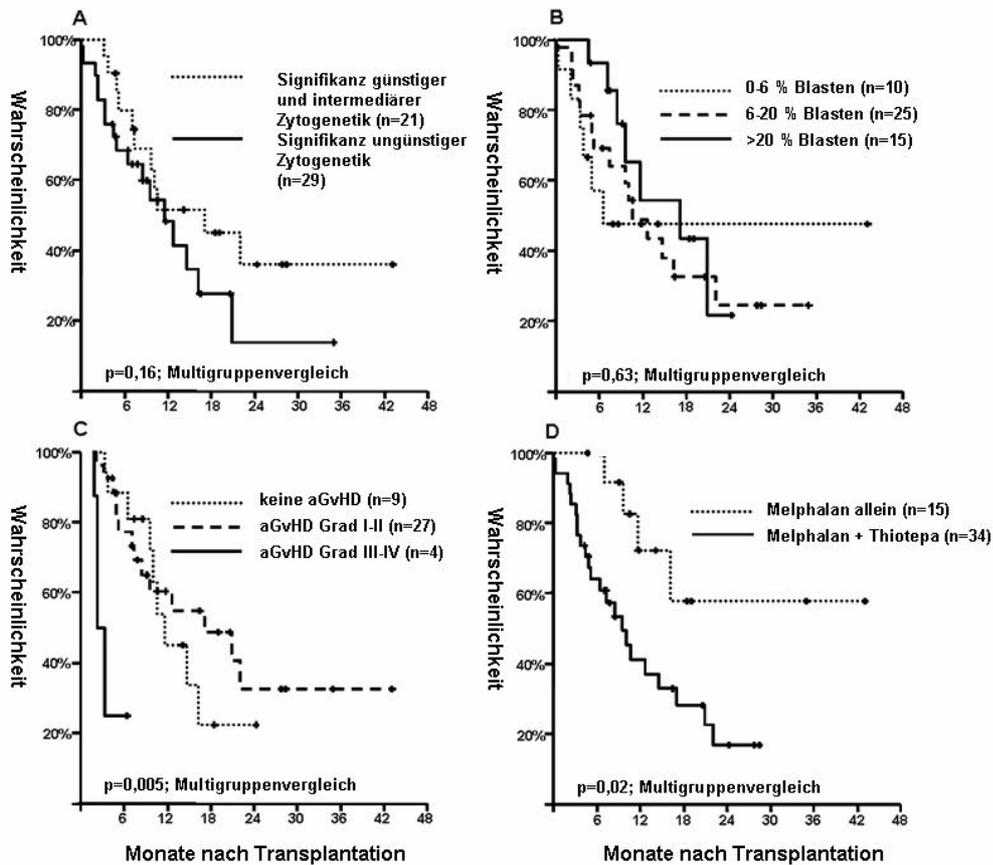


Abbildung 7: Gesamtüberleben (OS) bei verschiedenen Risikofaktoren. (A) Einfluss der Zytogenetiksubgruppen. (B) Einfluss des initialen Blastenanteils im Knochenmark direkt vor Transplantation. (C) Einfluss der verschiedenen Stadien einer akuten GvHD auf das Gesamtüberleben der gesamten Gruppe. (D) Einfluss im Hinblick auf die zwei verschiedenen angewandten Konditionierungsregimes auf das Gesamtüberleben.

V. Diskussion

Die akute myeloische Leukämie und die fortgeschrittenen Formen des myelodysplastischen Syndroms und myeloproliferativer Erkrankungen zeigen in der Regel einen rasch progredienten Verlauf, welcher in wenigen Monaten zum Tode des Patienten führen kann. Zwar ist es möglich bei etwas mehr als 50% der Patienten durch eine konventionelle Chemotherapie eine Remission der Erkrankung zu induzieren, die überwiegende Mehrzahl der Patienten erleidet jedoch ein Rezidiv der Erkrankung und Heilungen durch Chemotherapie sind selten. Deshalb besteht die Therapie der Wahl in einer allogenen Blutstammzelltransplantation in erster Remission. Mit dieser Therapie können mehr als die Hälfte der Patienten geheilt werden. Die Überlegenheit der allogenen Transplantation gegenüber alleiniger Chemotherapie oder autologer Transplantation resultiert aus einem immunologischen Effekt, den die Spenderzellen im Körper des Patienten erzeugen. Dieser Graft-versus-Leukämie (GvL) Effekt ist am eindrucksvollsten bei der chronischen myeloischen Leukämie nachzuweisen.⁶³ Aber auch bei der AML und beim MDS konnte in der Vergangenheit die Bedeutung des GvL Effektes für das Langzeitüberleben der Patienten eindeutig nachgewiesen werden.⁶⁴

Da diese Krankheitsbilder jedoch sehr heterogen sind bestehen auch große prognostische Unterschiede zwischen verschiedenen Subgruppen der genannten Erkrankungen. So ist die Prognose von Patienten mit einem Blastenschub einer myeloproliferativen Erkrankung oder die von Patienten mit AML oder MDS und komplexem Karyotyp besonders ungünstig. Eine weitere prognostisch ungünstige Untergruppe stellen Patienten dar, die unabhängig vom Karyotyp auf die Induktionstherapie nicht ansprechen, oder noch während der laufenden Chemotherapie ein Rezidiv ihrer Erkrankung erleiden. In der Literatur wird das Überleben von Patienten mit primär refraktärer Erkrankung nach 5 Jahren mit etwa 20% angegeben.⁶⁵ Die

Ergebnisse für Patienten mit einem refraktären Rezidiv sind noch ungünstiger. Allgemein anerkannt ist, dass der Remissionsstatus zum Zeitpunkt der Transplantation einen entscheidenden Einfluss auf den Erfolg der allogenen Blutstammzelltransplantation hat. Eine Studie aus Stanford zeigte, dass Patienten mit einer AML, die eine Transplantation in erster Remission erhalten hatten, eine 5-Jahres-Überlebensrate von 62% zu beobachten ist. Bei Patienten, die im ersten Rezidiv, oder in zweiter Remission transplantiert worden waren, sank die Überlebensrate auf 27% und nur 12% der Patienten mit noch weiter fortgeschrittener Erkrankung waren nach 5 Jahren noch am Leben.⁶⁶ Auch in einer Zusammenstellung von Patienten mit AML oder MDS, die in Düsseldorf zwischen 1989 und 2003 allogene transplantiert worden waren zeigte sich, dass Patienten, die zum Zeitpunkt der Transplantation nicht in Remission waren eine sehr schlechte Prognose hatten. Das mittlere Überleben dieser Gruppe betrug weniger als ein Jahr, und zum Beobachtungszeitpunkt (2006) lebten lediglich 2 von 30 Patienten.⁶⁷ Der Hauptgrund für diese schlechten Ergebnisse ist die hohe Rezidivrate, die sowohl im Stanford-Kollektiv, als auch bei den Düsseldorfer Patienten mehr als 60% betrug.

Es lag dementsprechend auf der Hand, dass insbesondere für diese Hochrisikogruppe neue Therapieverfahren entwickelt werden mussten. Da auf der einen Seite die Krankheitsaktivität zum Zeitpunkt der Transplantation, auf der anderen Seite aber auch Resistenzmechanismen in den Leukämiezellen eine Rolle zu spielen scheinen, wurde der Gedanke geboren, die Transplantation bei Hochrisikopatienten möglichst früh im Krankheitsverlauf durchzuführen. Da eine volle allogene Transplantation mit einer myeloablativen Konditionierung jedoch sehr toxisch ist, musste die Dosisintensität reduziert werden, um die Transplantation zeitlich möglichst nahe an einer konventionellen Induktionstherapie zu platzieren. Als erste führte die Arbeitsgruppe um

Kolb eine allogene Transplantation direkt im Anschluss an eine Induktionstherapie durch.^{68,69} Nach einer konventionellen Therapie mit Fludarabin, Cytarabin und Amsacrine wurde eine dosisreduzierte Ganzkörperbestrahlung mit 4 Gy und eine immunsuppressive Therapie mit Cyclophosphamid durchgeführt. Die durch dieses Vorgehen erzielten Ergebnisse waren den bisher publizierten Daten deutlich überlegen. Wir griffen dieses Therapieprinzip auf und ersetzten Ganzkörperbestrahlung und Cyclophosphamid in der Konditionierung durch die Substanzen Melphalan (150 mg/kg) und Thiotepa (10 mg/kg). Berücksichtigt wurde dabei das Alter des Patienten. Patienten über 55 Jahre erhielten kein Thiotepa und die Melphalandozis wurde bei Patienten, welche das 60. Lebensjahr überschritten hatten auf 100 mg/m² reduziert. Obwohl bei Patienten zum Zeitpunkt der Transplantation eine fortgeschrittene aktive Erkrankung vorlag, konnte in der ersten Knochenmarkspunktion am Tag+30 nach der Transplantation bei 90% der Patienten eine komplette Remission dokumentiert werden. Dies spricht für eine hohe antileukämische Aktivität der verwendeten Substanzen. Insgesamt trat bei 11 Patienten (22%) während der Nachbeobachtungszeit ein Rezidiv der Leukämie auf. Die relativ niedrigere Rezidivrate in unserer Hochrisiko-Studiengruppe, von denen 58% einen ungünstigen Karyotyp aufwiesen und 38% sich in refraktärer Phase befanden, ist sehr wahrscheinlich auf die besondere Art der Konditionierung und einen ausgeprägten GvL-Effekt zurückzuführen. Insgesamt konnte eine Überlebensrate nach einem Jahr von 49% und nach zwei Jahren von 27% beobachtet werden. Das rezidivfreie Überleben lag nach einem Jahr bei 45% und nach 2 Jahren bei 27%. Die Kombination aus Thiotepa und Melphalan wurde gewählt, weil die Substanzen eine höhere antileukämische Wirksamkeit hatten als Cyclophosphamid und eine niedrig dosierte Ganzkörperbestrahlung.^{70,71} Die Bedeutung der Dosisintensität ist sehr wahrscheinlich auf die geringere Wirksamkeit des GvL-Effektes bei Patienten mit

fortgeschrittenen Erkrankungen zurückzuführen. So dass es sinnvoll erscheint zunächst die Menge an malignen Zellen durch die Konditionierung stark zu verringern, um bessere Voraussetzungen für die Wirkung eines GvL-Effektes zu schaffen. Um diese Dosisintensität zu erreichen wurde auf die relativ toxische GvHD Prophylaxe mit Cyclosporin A und Methotrexat verzichtet, und statt dessen eine weniger toxische Prophylaxe mit Tacrolimus oder Cyclosporin A in Kombination mit Mycophenolatmofetil verwendet.

Eindrucksvoll ist, dass im Vergleich zwischen Konditionierung mit und ohne Hochdosis-Thiotepa signifikant bessere Ergebnisse in der Patientengruppe ohne Thiotepagabe (>55 Jahre) erzielt wurden (Abbildung 7D). Obwohl eine schlechtere Therapieverträglichkeit bei Patienten über dem 55. Lebensjahr zu erwarten gewesen wäre⁷², hat unsere Studie gezeigt, dass 17 von 18 Patienten (<55 Jahre), die an therapiebedingten Komplikationen verstarben, mit Melphalan und Thiotepa behandelt wurden. In der Gruppe ohne Hochdosis-Thiotepatherapie beziehungsweise bei älteren Patienten (>55 Jahre) konnten bessere Ergebnisse im Gesamtüberleben, in der Rezidivrate und der Rezidivfreien Mortalität beobachtet werden (OS=72% vs. 41%, $p=0,002$; RR=29% vs. 28%, $p=0,65$; NRM=7% vs. 48%, $p=0,002$). Dies lässt auf ungewöhnlich starke Nebenwirkungen der Thiotepatherapie schließen, welche nicht unmittelbar nach der Konditionierung, sondern verspätet auftraten. Ab Tag+50 traten Komplikationen wie GvHD, Enzephalitis, Herz-Kreislauf- und Multiorganversagen auf, welche durch Sepsis, Pneumonie und virale Infektionen bedingt waren. In einigen Fällen wird ein kausaler Zusammenhang zwischen Thiotepagabe und Toxizität im Zentralen Nervensystem vermutet. In der Vergangenheit wurde bereits über einen möglichen Zusammenhang zwischen Thiotepatherapie und dem Auftreten von Toxizität insbesondere Neurotoxizität berichtet. Es wurde beobachtet, dass die Substanzen

Thiotepa und Busulfan schnell durch die Blut-Hirnschranke diffundieren können und tonisch-klonische Krämpfe sowie epileptische Anfälle auslösen können.⁷³⁻⁷⁶ In einer Studie von Valteau-Couanet et al. aus dem Jahr 2005 konnte gezeigt werden, dass eine Beziehung zwischen einer Hochdosis-Thiotepatherapie und resultierender Neurotoxizität besteht.⁷⁷

Bei einem Patienten führte eine thrombotisch-thrombozytopenischen Purpura zum Tode. Einige aktuell publizierte Untersuchungen lassen vermuten, dass eine frühe allogene Stammzelltransplantation insbesondere die Prognose von Patienten mit Hochrisikoleukämien verbessern kann. Platzbecker et al. führte ein Studie durch, bei welcher 26 Patienten eine de novo akute myeloische Leukämie mit einem ungünstigem Karyotyp (n=19) oder eine inadäquate Blastenreduktion nach primärer Induktionstherapie (n=7) aufwiesen. Es wurde eine dosisreduzierte Konditionierung nach zytoreduktiver Induktionstherapie vor allogener hämatopoietischer Stammzelltransplantation durchgeführt.⁷⁸ Alle 26 Patienten zeigten ein schnelles Anwachsen des Transplantates und erreichten eine komplette Remission. Eine cGvHD Grad II-IV konnte bei 14 Patienten (56%), eine extensive cGvHD bei 8 Patienten (35%) beobachtet werden. Das Gesamtüberleben sowie das leukämiefreie Überleben betrug jeweils 61%. Innerhalb einer Nachbeobachtungszeit von 22 Monaten (Median, Spanne 7-85) lebten 19 (73%) von 26 Patienten und befanden sich in kompletter Remission. Es konnte gezeigt werden, dass ein früher Therapiebeginn mit möglichst wenig zuvor applizierten Chemotherapiezyklen ein besseres outcome bei Patienten mit Hochrisikoleukämie ermöglicht. Ähnliche Daten wurden bereits in einer Studie von Schmid et al. erhoben.⁶⁸ In einer multivariaten Analyse der Arbeitsgruppe Schmid et al im Jahr 2006 wurden potentielle Risikofaktoren ermittelt, die für bessere Ergebnisse verantwortlich gemacht werden. Dabei zeigte sich ein Zusammenhang zwischen der

Anzahl verabreichter Chemotherapiezyklen vor allogener Stammzelltransplantation und der Gesamtüberlebenszeit beziehungsweise des leukämiefreien Überlebens.⁶⁹ Es wurden insgesamt 103 Patienten mit refraktärer akuter myeloischer Leukämie in die Studie eingeschlossen. 41 Patienten (42%) waren mit vier oder mehr Chemotherapiezyklen vorthera­piert und 10 Patienten (9,7%) erhielten bereits zuvor eine autologe Stammzelltransplantation. Das Protokoll besteht aus einer sequentiellen Chemotherapie (FLAMSA) gefolgt von einer frühen, dosisreduzierten Konditionierung als Vorbereitung für die Stammzelltransplantation. Zusätzlich wurden den Patienten praophylaktisch Spenderlymphozyten infundiert. Am Tag+30 erreichten 94 von 103 Patienten (91,2%) eine komplette Remission, 6 Patienten (5,8%) unterlagen einem primären Therapieversagen und 3 (2,9%) Patienten konnten wegen vorzeitigen Versterbens nicht evaluiert werden. In einer Nachbeobachtungszeit von 25 Monaten (Median, Spanne 3-68) kam es bei 35 Patienten zu einem Rezidiv der Leukämie. 5,5 Monate (Median, Spanne 1-31) nach der Transplantation verstarben 36 Patienten (35%) an einer persistierenden (n=6) oder rezidivierenden Leukämie (n=30). Die Inzidenz an einer Leukämie zu versterben betrug 1 Jahr nach der Transplantation 28,7% und 2 Jahre danach bereits 39,3%. Es konnte gezeigt werden, dass Patienten mit mehr als 2 Chemotherapiezyklen oder vorheriger autologer Stammzelltransplantation ein potentielles Risiko darstellen. Je weniger Chemotherapiezyklen vor Transplantation durchgeführt wurden, desto besser scheint das Gesamtüberleben (OS p=0,007) und das leukämiefreie Überleben (LFS p=0,002) zu sein.

Ganz im Gegensatz zu unserer Patientengruppe, welche zum großen Teil eine starke Vorbehandlung aufwies. In 92% der Fälle erhielten die Patienten mehr als drei Chemotherapiezyklen und zeigten eine lange, schwere Krankenanamnese (sAML aus MPD oder MDS).

Ergebnisse unserer Studie und anderer Arbeitsgruppen zeigen, dass eine möglichst frühe intensiviertere Induktionstherapie mit anschließender intensiverer Konditionierung eine höhere Überlebensrate bei Patienten mit einer Hochrisikoleukämie ermöglicht. Dieses Therapieschema ist gut durchführbar und scheint eine viel versprechende Methode in der Therapie bei Hochrisiko-myeloischen-Leukämien und hier besonders bei Patienten mit einem ungünstigen Karyotyp zu sein. Das Therapiekonzept sollte in Zukunft so früh wie möglich bei Patienten mit einer Hochrisikoleukämie eingesetzt werden, um die Ausbildung einer Chemoresistenz zu verhindern. Zudem befinden sich, bei Verzicht auf eine wiederholte konventionelle Chemotherapie, die Patienten in einem besseren Allgemeinzustand. Das optimale Gleichgewicht zwischen antileukämischen Effekt und aufkommender Toxizität ist noch nicht gefunden und definiert worden. Unsere Ergebnisse weisen jedoch daraufhin, dass eine intensive Konditionierung mit Melphalan effizient und gut verträglich ist. Die antileukämische Wirkung von Hochdosis Melphalan bei akuten myeloischen Leukämien wurde bereits von Bug et al. untersucht, der 14 Patienten mit rezidivierender AML mit einer Hochdosis-Melphalan Therapie mit anschließender autologer Stammzelltransplantation behandelte.⁷⁹ Dreizehn Patienten (93%) erreichten eine komplette Remission. Die Toxizität war akzeptabel, therapiebedingte Todesfälle traten nicht auf. Die von uns zusätzlich durchgeführte Therapie mit Thiotepa erhöhte lediglich die Toxizität. Deshalb wurde noch im laufenden Protokoll auf die Gabe von Thiotepa verzichtet.

VI. Zusammenfassung

Die aktuell noch sehr unbefriedigenden Behandlungsergebnisse akuter myeloischer Leukämien (AML), fortgeschrittener myelodysplastischer (MDS) und myeloproliferativer Syndrome (MPS) erfordern es, neue Therapiekonzepte zu entwickeln und bestehende Behandlungsschemata immer wieder kritisch zu evaluieren.

Die vorliegende Arbeit untersuchte deshalb prospektiv den therapeutischen Effekt und die Toxizität einer neuen, allogenen Transplantationsstrategie an einer Gruppe von 50 Patienten mit prognostisch ungünstiger AML (n=37), MDS (n=4) oder dem Blastenschub einer zuvor bestehenden myeloproliferativen Erkrankung (n=9). Dabei war die ungünstige Prognose entweder durch den Karyotyp oder durch ein inadäquates Ansprechen auf die vorausgegangene Therapie definiert. Das Protokoll bestand aus einer sequentiellen Chemotherapie gefolgt von einer frühen, intensiven Konditionierung entweder mit einer Kombination aus Melphalan und Thiotepa bei Patienten unter 55 Jahren, oder mit einer Melphalan Monotherapie bei älteren Patienten. Anschließend erfolgte eine Transplantation allogener Blutstammzellen eines Geschwister- oder Fremdspenders. Zur Beurteilung der Effektivität dieses neuen Vorgehens wurden Krankheits- und Patientenspezifische Einflussfaktoren auf das Therapieergebnis untersucht.

Zum Zeitpunkt der letzten Datenerhebung lebten 22 Patienten (44%), was eine Verbesserung gegenüber den Ergebnissen in einem vergleichbaren, historischen Patientenkollektiv darstellt. Einhundert Tage, ein und zwei Jahre nach Transplantation zeigte sich ein Gesamtüberleben von 84%, 49% und 27% und ein Leukämiefreies Überleben von 82%, 45% und 27%. In der univariaten Analyse fanden wir, dass eine akute GvHD ($p=0,07$) und die Konditionierung mit der Kombination aus Melphalan und Thiotepa ($p=0,002$) im Vergleich zur Monotherapie mit Melphalan ein erhöhtes Risiko für eine therapiebedingte Mortalität (NRM) aufwiesen. Den negativen Einfluss von akuter GvHD und Kombinationstherapie konnten wir auch in der Multivariatanalyse bestätigen. Insgesamt hatten 17 der 18 an therapiebedingten Nebenwirkungen verstorbenen Patienten die Kombinationstherapie erhalten. Dessen ungeachtet konnte mit der Monotherapie eine hohe Effektivität im Hinblick auf ein 1-Jahres Gesamtüberleben von 72% beobachtet werden.

Die Konsequenz aus diesen Ergebnissen war eine Modifikation des laufenden Protokolls. Zur Verringerung der therapiebedingten Mortalität erhalten nun alle Patienten nach der initialen Chemotherapie zur Konditionierung eine Melphalan Monotherapie in einer altersangepassten Dosierung.

VII. Danksagung

Meine Danksagung gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Guido Kobbe,
Prof. Dr. med. Ulrich Germing und Dr. med. Thorsten Gräf, die mich mit
außerordentlichem Bemühen und viel persönlichem Einsatz bei meiner Fertigstellung
der Dissertation begleitet haben. Ich danke ihnen für die Bereicherung, die mein
Studium hierdurch erfuhr.

Ich danke Frau Anke Boeckmann, Frau Hildegard Gaussmann, Frau Kalmutzke und
Frau Elke Rosenbaum-König für die labortechnische Unterstützung.

Diese Arbeit wurde von der Leukämie Liga e.V., Düsseldorf unterstützt.

Ich möchte mich ganz herzlich bei Univ.-Prof. Dr. med. Rainer Haas, Direktor der
Medizinischen Klinik für Hämatologie, Onkologie und Klinische Chemie der Heinrich-
Heine-Universität Düsseldorf, für die Bereitstellung des Themas bedanken.

Ein sehr persönlicher und somit größter Dank gilt meiner Mutter und meiner Familie.

VIII. Literaturverzeichnis

- 1 Manfred Dietel PK-BWua. Berliner Medizinhistorisches Museum, Version 1.0 / *Blachwell Wiss.-Verlag* 1996.
- 2 Informationsdienst Wissenschaft RKI. Krebs in Deutschland. Häufigkeit und Trends. *Krebsregister* 2006.
- 3 A. Hellenbrecht DM, N. Gökbuget (Teilprojekte 2 + 21) Stand: 2003, Hartog) AdA-IM. Häufigkeit von Leukämien bei Erwachsenen in Deutschland. 2003-2007.
- 4 N.Gökbuget AG, R.F.Schlenk. Akute Leukämien. In: Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie, 2005.
- 5 Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y et al. Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. *Blood* 2001; **97**: 2434-9.
- 6 Yokota S, Kiyoi H, Nakao M et al. Internal tandem duplication of the FLT3 gene is preferentially seen in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome among various hematological malignancies. A study on a large series of patients and cell lines. *Leukemia* 1997; **11**: 1605-9.
- 7 Karow/Lang-Roth. Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie 2006 Vorlesungsorientierte Darstellung und klinischer Leitfaden, 15. Auflage. 2006: 1161 Seiten.
- 8 Verhaak RG, Goudswaard CS, van Putten W et al. 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* 2005; **106**: 3747-54.
- 9 Appelbaum FR, Kopecky KJ, Tallman MS et al. The clinical spectrum of adult acute myeloid leukaemia associated with core binding factor translocations. *Br J Haematol* 2006; **135**: 165-73.
- 10 Appelbaum FR, Gundacker H, Head DR et al. Age and acute myeloid leukemia. *Blood* 2006; **107**: 3481-5.
- 11 Kainz B, Fonatsch C, Schwarzinger I et al. Limited value of FLT3 mRNA expression in the bone marrow for prognosis and monitoring of patients with acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2005; **90**: 695-6.
- 12 Levis M. FLT3 and acute myeloid leukemia: what is the wild type receptor up to? *Haematologica* 2005; **90**: 1586.

- 13 Kuchenbauer F, Kern W, Schoch C et al. Detailed analysis of FLT3 expression levels in acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2005; **90**: 1617-25.
- 14 Harris NL JE, Diebold J, Landrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J, Lister TA, Bloomfield CD. The World Health Organization classification of the hematological malignancies report of the Clinical Advisory Committee Meeting, Airlie House, Virginia, November 1997. *Modern pathology :an official journal of the United States and Canadian academy of Pathology, Inc* 2000 Feb; 2000; **13(2)**: 193-207.
- 15 Aul C. Myelodysplastische Syndrome-Präleukämien HIPPOKRATES – Schriftenreihe Medizinische Forschungsergebnisse, Bd. 27. Hamburg, 1994.
- 16 Aul C, Gattermann N, Germing U et al. [Myelodysplastic syndromes. The epidemiological and etiological aspects]. *Dtsch Med Wochenschr* 1992; **117**: 1223-31.
- 17 Bennett JM. A comparative review of classification systems in myelodysplastic syndromes (MDS). *Semin Oncol* 2005; **32**: S3-10.
- 18 2003 HNVJ. WHO Klassifizierung der Leukämien. 1999;2003.
- 19 Jakobsen LO ME, Robson MJ et al. Effect of spleen ptotection on mortality following x-irradiation. *J Lab Clin Med* 1949 1949: 1538-43.
- 20 Lorenz E, Uphoff D, Reid TR et al. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. *J Natl Cancer Inst* 1951; **12**: 197-201.
- 21 Ford CE, Hamerton JL, Barnes DW et al. Cytological identification of radiation-chimaeras. *Nature* 1956; **177**: 452-4.
- 22 Thomas ED, Lochte HL, Jr., Cannon JH et al. Supralethal whole body irradiation and isologous marrow transplantation in man. *J Clin Invest* 1959; **38**: 1709-16.
- 23 Thomas ED, Collins JA, Herman EC, Jr. et al. Marrow transplants in lethally irradiated dogs given methotrexate. *Blood* 1962; **19**: 217-28.
- 24 Epstein RB, Storb R, Clift RA et al. Transplantation of stored allogeneic bone marrow in dogs selected by histocompatibility typing. *Transplantation* 1969; **8**: 496-501.
- 25 Gatti RA, Meuwissen HJ, Allen HD et al. Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency. *Lancet* 1968; **2**: 1366-9.
- 26 Thomas ED, Buckner CD, Banaji M et al. One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation, and allogeneic marrow transplantation. *Blood* 1977; **49**: 511-33.

- 27 Goldman JM, Horowitz MM. The international bone marrow transplant registry. *Int J Hematol* 2002; **76 Suppl 1**: 393-7.
- 28 Gratwohl A, Hermans J, Baldomero H et al. Indications for haemopoietic precursor cell transplants in Europe. European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Br J Haematol* 1996; **92**: 35-43.
- 29 Udomsakdi C, Lansdorp PM, Hogge DE et al. Characterization of primitive hematopoietic cells in normal human peripheral blood. *Blood* 1992; **80**: 2513-21.
- 30 Gordon MY, Ford AM, Greaves MF. Cell interactions and gene expression in early hematopoiesis. *Int J Cell Cloning* 1990; **8 Suppl 1**: 11-24; discussion -5.
- 31 Gordon MY, Clarke D, Atkinson J et al. Hemopoietic progenitor cell binding to the stromal microenvironment in vitro. *Exp Hematol* 1990; **18**: 837-42.
- 32 Simmons PJ, Masinovsky B, Longenecker BM et al. Vascular cell adhesion molecule-1 expressed by bone marrow stromal cells mediates the binding of hematopoietic progenitor cells. *Blood* 1992; **80**: 388-95.
- 33 Richman CM, Weiner RS, Yankee RA. Increase in circulating stem cells following chemotherapy in man. *Blood* 1976; **47**: 1031-9.
- 34 Pettengell R, Morgenstern GR, Woll PJ et al. Peripheral blood progenitor cell transplantation in lymphoma and leukemia using a single apheresis. *Blood* 1993; **82**: 3770-7.
- 35 Socinski MA, Mudd PN, Jr., Radomski KM et al. Phase I trial of a 96 h paclitaxel infusion with filgrastim support in refractory solid tumor patients. *Anticancer Drugs* 1998; **9**: 611-9.
- 36 Hansson M, Svensson A, Engervall P et al. Increase of monocytes predicts mobilization of peripheral stem and progenitor cells after chemotherapy followed by G-CSF administration. *Eur J Haematol* 1995; **54**: 321-8.
- 37 Rosenfeld CS, Gremba C, Shadduck RK et al. Engraftment with peripheral blood stem cells using noncontrolled-rate cryopreservation: comparison with autologous bone marrow transplantation. *Exp Hematol* 1994; **22**: 290-4.
- 38 Henon PR, Liang H, Beck-Wirth G et al. Comparison of hematopoietic and immune recovery after autologous bone marrow or blood stem cell transplants. *Bone Marrow Transplant* 1992; **9**: 285-91.
- 39 Hartmann LC, Tschetter LK, Habermann TM et al. Granulocyte colony-stimulating factor in severe chemotherapy-induced afebrile neutropenia. *N Engl J Med* 1997; **336**: 1776-80.

- 40 Russell JA, Poon MC, Jones AR et al. Allogeneic bone-marrow transplantation without protective isolation in adults with malignant disease. *Lancet* 1992; **339**: 38-40.
- 41 Bender JG, To LB, Williams S et al. Defining a therapeutic dose of peripheral blood stem cells. *J Hematother* 1992; **1**: 329-41.
- 42 Weaver CH, Hazelton B, Birch R et al. An analysis of engraftment kinetics as a function of the CD34 content of peripheral blood progenitor cell collections in 692 patients after the administration of myeloablative chemotherapy. *Blood* 1995; **86**: 3961-9.
- 43 Bensinger W, Appelbaum F, Rowley S et al. Factors that influence collection and engraftment of autologous peripheral-blood stem cells. *J Clin Oncol* 1995; **13**: 2547-55.
- 44 Tricot G, Jagannath S, Vesole D et al. Peripheral blood stem cell transplants for multiple myeloma: identification of favorable variables for rapid engraftment in 225 patients. *Blood* 1995; **85**: 588-96.
- 45 Rocha V, Labopin M, Sanz G et al. Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *N Engl J Med* 2004; **351**: 2276-85.
- 46 Laughlin MJ, Barker J, Bambach B et al. Hematopoietic engraftment and survival in adult recipients of umbilical-cord blood from unrelated donors. *N Engl J Med* 2001; **344**: 1815-22.
- 47 Ooi J, Iseki T, Takahashi S et al. Unrelated cord blood transplantation for adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2004; **18**: 1905-7.
- 48 Sanz GF, Saavedra S, Planelles D et al. Standardized, unrelated donor cord blood transplantation in adults with hematologic malignancies. *Blood* 2001; **98**: 2332-8.
- 49 Sanz MA. Cord-blood transplantation in patients with leukemia--a real alternative for adults. *N Engl J Med* 2004; **351**: 2328-30.
- 50 Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant* 1995; **15**: 825-8.
- 51 Ottinger HD, Albert E, Arnold R et al. German consensus on immunogenetic donor search for transplantation of allogeneic bone marrow and peripheral blood stem cells. *Bone Marrow Transplant* 1997; **20**: 101-5.

- 52 Dreger P, Viehmann K, Steinmann J et al. G-CSF-mobilized peripheral blood progenitor cells for allogeneic transplantation: comparison of T cell depletion strategies using different CD34+ selection systems or CAMPATH-1. *Exp Hematol* 1995; **23**: 147-54.
- 53 Huang NE, Schumm J, Budowle B. Chinese population data on three tetrameric short tandem repeat loci--HUMTHO1, TPOX, and CSF1PO--derived using multiplex PCR and manual typing. *Forensic Sci Int* 1995; **71**: 131-6.
- 54 Polymeropoulos MH, Rath DS, Xiao H et al. Tetranucleotide repeat polymorphism at the human c-fes/fps proto-oncogene (FES). *Nucleic Acids Res* 1991; **19**: 4018.
- 55 Polymeropoulos MH, Rath DS, Xiao H et al. Tetranucleotide repeat polymorphism at the human coagulation factor XIII A subunit gene (F13A1). *Nucleic Acids Res* 1991; **19**: 4306.
- 56 Moller A, Wiegand P, Gruschow C et al. Population data and forensic efficiency values for the STR systems HumVWA, HumMBP and HumFABP. *Int J Legal Med* 1994; **106**: 183-9.
- 57 Allen RC, Zoghbi HY, Moseley AB et al. Methylation of HpaII and HhaI sites near the polymorphic CAG repeat in the human androgen-receptor gene correlates with X chromosome inactivation. *Am J Hum Genet* 1992; **51**: 1229-39.
- 58 Huckenbeck W KK, Scheil HG. The distribution of the human DNA-PCR Polymorphisms. *Köster-Verlag, 1997* 1997.
- 59 Huckenbeck W SH. The distribution of the human DNA-PCR Polymorphisms. *A worldwide database. Internet-Suppl. I, Internet Adresse: <http://www.uni-duesseldorf.de/WWW/MedFak/Serology/DNA-Systeme/whats.html>.*
- 60 Jones DA. Blood samples: probability of discrimination. *J Forensic Sci Soc* 1972; **12**: 355-9.
- 61 Glucksberg H. Transplantation 18. 1974: 295-304.
- 62 Kaplan E MP. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc.* 1958(53): 457-62.
- 63 Kolb HJ, Mittermuller J, Clemm C et al. Donor leukocyte transfusions for treatment of recurrent chronic myelogenous leukemia in marrow transplant patients. *Blood* 1990; **76**: 2462-5.
- 64 Ringden O, Sundberg B, Lonnqvist B et al. Allogeneic bone marrow transplantation for leukemia: factors of importance for long-term survival and relapse. *Bone Marrow Transplant* 1988; **3**: 281-90.

- 65 Gluckman E, Horowitz MM, Champlin RE et al. Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: influence of conditioning and graft-versus-host disease prophylaxis regimens on outcome. *Blood* 1992; **79**: 269-75.
- 66 Stockerl-Goldstein KE BK. *Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation for Adult Patients with Acute Myeloid Leukemia*, 2004.
- 67 Graef. *Haematological Oncology in press* 2007.
- 68 Schmid C, Schleuning M, Ledderose G et al. Sequential regimen of chemotherapy, reduced-intensity conditioning for allogeneic stem-cell transplantation, and prophylactic donor lymphocyte transfusion in high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol* 2005; **23**: 5675-87.
- 69 Schmid C, Schleuning M, Schwerdtfeger R et al. Long-term survival in refractory acute myeloid leukemia after sequential treatment with chemotherapy and reduced-intensity conditioning for allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2006; **108**: 1092-9.
- 70 de Lima M, Anagnostopoulos A, Munsell M et al. Nonablative versus reduced-intensity conditioning regimens in the treatment of acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome: dose is relevant for long-term disease control after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2004; **104**: 865-72.
- 71 Shimoni A, Hardan I, Shem-Tov N et al. Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in AML and MDS using myeloablative versus reduced-intensity conditioning: the role of dose intensity. *Leukemia* 2006; **20**: 322-8.
- 72 Estey E. Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes in older patients. *Journal of Clinical Oncology* 2007; **Vol 25**: 1908-15.
- 73 Wolff SN, Herzig RH, Fay JW et al. High-dose N,N',N"-triethylenethiophosphoramidate (thiotepa) with autologous bone marrow transplantation: phase I studies. *Semin Oncol* 1990; **17**: 2-6.
- 74 Vassal G, Deroussent A, Hartmann O et al. Dose-dependent neurotoxicity of high-dose busulfan in children: a clinical and pharmacological study. *Cancer Res* 1990; **50**: 6203-7.
- 75 Kalifa C, Hartmann O, Demeocq F et al. High-dose busulfan and thiotepa with autologous bone marrow transplantation in childhood malignant brain tumors: a phase II study. *Bone Marrow Transplant* 1992; **9**: 227-33.

- 76 Meloni G, Nasta L, Pinto RM et al. Clonazepam prophylaxis and busulfan-related myoclonic epilepsy in autografted acute leukemia patients. *Haematologica* 1995; **80**: 532-4.
- 77 Valteau-Couanet D, Fillipini B, Benhamou E et al. High-dose busulfan and thiotepa followed by autologous stem cell transplantation (ASCT) in previously irradiated medulloblastoma patients: high toxicity and lack of efficacy. *Bone Marrow Transplant* 2005; **36**: 939-45.
- 78 Platzbecker U, Thiede C, Fussel M et al. Reduced intensity conditioning allows for up-front allogeneic hematopoietic stem cell transplantation after cytoreductive induction therapy in newly-diagnosed high-risk acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2006; **20**: 707-14.
- 79 Gesine Bug JA, Stefan A.Klein,Bernd Hertenstein,Lothar Bergmann,Simone Boehrer,Sabine Mousset,Dieter Hölzer,Hans Martin. High-dose melphalan is an effective salvage therapy in acute myeloid leukaemia patients with refractory relapse an relapse after autologous stem cell transplantation. *Ann Hematol* 84 2005: 748-54.

IX. Tabellarischer Lebenslauf

Persönliche Angaben

- Nikola Schmittner
- Geburtsdatum: 08 August 1978
- Geburtsort: Leverkusen
- Familienstand: ledig
- Konfession: evangelisch
- Staatsangehörigkeit: deutsch

Ausbildung

1985 – 1989	Grundschule Mitte, Oberursel/Taunus
1989 – 1998	Bischof Neumann Schule, Königstein/Taunus Abschluss: Allgemeine Hochschulreife
1999 - 2000	Studium der Humanmedizin an der Technischen Universität Dresden
2000 – 2006	Studium der Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf - 08/2002 Physikum - 08/2003 1. Staatsexamen - 08/2005 2. Staatsexamen - 11/2006 3. Staatsexamen
10/2005-05/2006	Praktisches Jahr: Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf Innere Medizin, Chirurgie
06/2006-10/2006	Azienda Sanitaria di Bolzano, Italien Wahlfach Dermatologie
seit 03/2007	Assistenzärztin Dermatologie St.Bernhard Hospital, Praxis Dr.Fuchs/Dr.Späth Kamp Lintfort

Publikation

- | | |
|------|---|
| 2005 | Mirmohammadsadegh A, Hassan M, Gustrau A, Doroudi R, Schmittner N, Nambiar S, Tannapfel A, Ruzicka T, Hengge UR.
Constitutive expression of epidermal growth factor receptors on normal human melanocytes.
J Invest Dermatol.2005 Aug;125(2):392-4. |
|------|---|