

Aus der Klinik für Hämatologie, Onkologie und Klinische Immunologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Rainer Haas

Prognostische und prädiktive Faktoren für den Erfolg
der allogenen Blutstammzelltransplantation nach sequentieller Konditionierung
bei Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Neoplasien

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Anke Groten

2020

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Guido Kobbe

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Harald Rieder

Meinen Eltern und meiner Familie gewidmet
in Liebe und Dankbarkeit

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Wissenschaftlicher Artikel:

Saure C, Schroeder T, Zohren F, Groten A, Bruns I, Czibere A, u. a. Upfront Allogeneic Blood Stem Cell Transplantation for Patients with High-Risk Myelodysplastic Syndrome or Secondary Acute Myeloid Leukemia Using a FLAMSA-Based High-Dose Sequential Conditioning Regimen. *Biol Blood Marrow Transplant.* März 2012;18(3):466–72.

Zusammenfassung

Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Neoplasien haben eine schlechte Prognose. Die allogene Blutstammzelltransplantation (BSZT) ist die einzige Therapieoption, um eine langfristige Krankheitsfreiheit oder Heilung zu erzielen. Nach einer neuen Strategie, die auch in der Klinik für Hämatologie, Onkologie und Klinische Immunologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf angewendet wird, werden Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Neoplasien nach sequentieller Konditionierung mit FLAMSA-Melphalan (Mel) mit einer frühen allogenen BSZT behandelt. Die intensive Induktionstherapie (FLAMSA) und die Konditionierung (Melphalan) werden in rascher Abfolge appliziert. Die Stammzellen des Spenders werden dann während der Knochenmarkaplasie infundiert. Diese sequentielle Konditionierung soll die anti-leukämische Aktivität des Transplantats stärken und das Rezidivrisiko senken. Das FLAMSA-Mel Protokoll nutzt zwei weitere Innovationen: 1) polyklonales Anti-T-Lymphozyten Serum (ATG) zur Vorbeugung einer *Graft-versus-Host Disease* (GVHD) und 2) die frühe Rezidivtherapie mit Azacitidin und Spenderlymphozyten. Die vorliegende Arbeit untersucht retrospektiv das Transplantationsergebnis bei myeloischen Hochrisiko-Neoplasien nach Behandlung mit dem FLAMSA-Mel Protokoll. Darüber hinaus wurde der Einfluss von Faktoren des Prä- und Posttransplantationsverlaufes auf das Transplantationsergebnis untersucht. Ein besonderes Augenmerk galt dem Einfluss von ATG. Insgesamt 105 Patienten (58 männlich, 47 weiblich; Medianes Alter: 52 Jahre, Spanne: 20-68 Jahre), die im Zeitraum Dez. 2002 - Feb. 2012 transplantiert wurden, sind Grundlage dieser Arbeit. Patienten, mit Fremd- und/oder nicht vollständig passendem Spender erhielten ergänzend zu der Standard-GVHD-Prophylaxe eine in vivo T-Zell Depletion mittels ATG (n = 73, 70 %). Im Median regenerierte die Hämatopoiese nach 14 Tagen. An Tag +28 befanden sich 101 Patienten in kompletter Remission. Das Gesamtüberleben nach FLAMSA-Mel und anschließender BSZT betrug 65,5 % nach einem und 58,8 % nach vier Jahren. Das krankheitsfreie Überleben lag bei 55,0 % und 36,3 % und die Rezidivrate betrug 34,4 % und 54,6 %. Die rezidivassoziierte Mortalität war mit 27,9 % Haupttodesursache, in Anbetracht des Hochrisiko-Kollektives aber verhältnismäßig niedrig. Die kumulative Inzidenz der akuten GVHD betrug 41,7 % nach 100 Tagen und der chronischen GVHD 52,7 % nach vier Jahren. Die therapieassoziierte Mortalität betrug 14,9 % ein Jahr und 17,5 % vier Jahre nach BSZT. Neben einem hohen Blastenanteil im Knochenmark, einer HLA-*mismatch* Konstellation und einer intensiven Vortherapie war auch die in vivo T-Zell Depletion mit ATG ein Risikofaktor für ein Rezidiv. Einerseits war ATG der einzige Faktor, der die Inzidenz und Schwere der chronischen GVHD vermindern konnte (p = 0,0001), jedoch ohne die therapieassoziierte Mortalität zu beeinflussen (p = 0,547). Andererseits zeigte sich, dass ATG in diesem Hochrisiko-Kollektiv die Rezidivrate erhöhte (p = 0,014), das krankheitsfreie Überleben verminderte (p = 0,013) und die hämatologische und immunologische Rekonstitution verzögerte. Ergänzende Analysen deuten darauf hin, dass dieser Einfluss von ATG dosisabhängig war. Die Ergebnisse dieser Arbeit sprechen deshalb für eine Risiko-adaptierte Dosierung von ATG.

Summary

Patients with high-risk myeloid neoplasia have a poor prognosis. Allogeneic hematopoietic blood stem cell transplantation (HSCT) is the only treatment option to achieve long-term remission or cure. Following a new strategy also applied at the Department of Hematology, Oncology and Clinical Immunology of the Heinrich-Heine-University Düsseldorf, patients with high-risk myeloid neoplasia are treated with an early allogeneic HSCT after sequential conditioning with FLAMSA-Melphalan (Mel). Intensive induction therapy (FLAMSA) and conditioning (melphalan) are applied in rapid sequence. Donor stem cells are then infused during bone marrow aplasia. This sequential conditioning is intended to strengthen the anti-leukemic activity of the graft and reduce the risk of recurrence. The FLAMSA-Mel protocol includes two further innovations: 1) polyclonal anti-T-lymphocyte serum (ATG) for the prevention of graft-versus-host disease (GVHD) and 2) early treatment of relapse with azacitidine and donor lymphocytes. The present study retrospectively investigates the outcome of HSCT in high-risk myeloid neoplasia after treatment with the FLAMSA-Mel protocol. In addition, the influence of pre- and post-transplant factors on the outcome after HSCT was examined. Special attention was paid to the influence of ATG. A total of 105 patients (58 male, 47 female, median age: 52 years, range: 20-68 years) who were transplanted in the period Dec. 2002 - Feb. 2012 are the basis of this work. Patients with unrelated and/or mismatched grafts received in vivo T cell depletion with ATG (n = 73, 70 %) in addition to standard GVHD prophylaxis. Hematopoietic recovery was observed at a median of 14 days. On day 28, 101 patients were in complete remission. Overall survival after FLAMSA-Mel and subsequent HSCT was 65.5 % after one and 58.8 % at four years. The disease-free survival was 55.0 % and 36.3 % and the recurrence rates were 34.4 % and 54.6 %. Disease related mortality was the leading cause of death with 27.9 %, but relatively low considering the high-risk population. The cumulative incidence of acute GVHD was 41.7 % at 100 days and chronic GVHD 52.7 % at four years. The treatment-associated mortality was 14.9 % one year and 17.5 % four years after HSCT. In addition to a high proportion of blasts in the bone marrow, an HLA-mismatch constellation, intensive pre-treatment and in vivo T-cell depletion with ATG were risk factors for recurrence. On the one hand, ATG was the only factor that could reduce the incidence and severity of chronic GVHD (p = 0.0001), but without affecting the treatment-associated mortality (p = 0.547). On the other hand, ATG in this high-risk population increased the recurrence rate (p = 0.014), reduced disease-free survival (p = 0.013) and delayed hematological and immunological reconstitution. Complementary analyses indicate that this influence of ATG was dose-dependent. The results of this work therefore argue for a risk-adapted dosage of ATG.

Abkürzungsverzeichnis

A	Amsacrin (Synonym: Amsacrinum); Wirkmechanismus: Zytostatikum; Topoisomerase II-Hemmer
ABL	Murines Leukämievirus bennant nach seinem Entdecker Herbert T. Abelson (<i>Abelson Leukemia Virus</i>)
ABL1	Tyrosinkinase; Genprodukt des Protoonkogens c-ABL (<i>Abelson Murine Leukemia Viral Oncogene Homolog 1</i>)
AC	Cytarabin (Synonym: Cytosin- β -D-arabinofuranosid, Cytosinarabinosid, Ara-C); Wirkmechanismus: Zytostatikum, Cytosin-Analogon, Pyrimidin-Antagonist
aCML	Atypische chronische myeloische Leukämie; Synonym: Philadelphia-negative chronische myeloische Leukämie
aGVHD	Akute Transplantat-gegen-Wirt Krankheit (<i>Acute Graft-versus-Host Disease</i>)
AML	Akute myeloische Leukämie
AL	Alemtuzumab der Firma Sanofi/ Genzyme GmbH, Cambridge, Vereinigte Staaten von Amerika; Handelsname: MabCampath®; Monoklonaler Anti-CD52 IgG1-Kappa Antikörper; Hergestellt in einer Suspensionskultur aus Ovarialzellen des chinesischen Hamsters (CHO-Zellen) in einem Nährmedium
ATG	Anti-Human-T-Lymphozyten Immunglobulin (Synonym: Anti-T-Lymphozyten Globulin) der Firma Fresenius/Neovii Biotech GmbH, Gräfelfing, Deutschland; Handelsname: ATG-Fresenius®/Grafalon®; Polyklonales Anti-T Zell Serum aus dem Kaninchen; Zur Immunisation verwendete Zelllinie: Jurkat T-Zellen; (<i>Anti-Human-T-Lymphocyte Immunoglobulin G</i>)
ATG-T	Anti-Thymozyten Globulin der Firma Sanofi/Genzyme GmbH, Cambridge, Vereinigte Staaten von Amerika; Handelsname: Thymoglobulin®; Polyklonales Antikörperserum aus dem Kaninchen; Zur Immunisation verwendete Zelllinie: Humane Thymozyten (<i>Anti-Thymocyte Globulin (Rabbit)</i>)
AZA	Azacitidin (Synonym: 5-Azacytidin; 4-Amino-1 β -D-ribofuranosyl-1,3,5-triazin-2(1H)-on; 5-AZA); Wirkmechanismus: Zytostatikum; Cytidin-Analogon, DNA-Methyltransferase Inhibitor
BCNU	Carmustin (Synonym: Bis-Chlorethyl-NitrosoUrea; 1,3-Bis(2-Chloroethyl)-1-Nitrosourea); Wirkmechanismus: Zytostatikum; Alkyliert Nukleinsäuren
BCR	Menschliches Gen auf Chromosom 22 (<i>Breakpoint Cluster Region</i>)

Bu	Busulfan (Synonym: 1,4-Butandiol-bis(methansulfonat); 1,4-Bis(methylsulfonyloxy)butan, BUS); Wirkmechanismus: Alkylsulfonat; Alkylierendes Zytostatikum; Bifunktionelles Alkylanz; Entstehung von Carbonium Ionen durch die Freisetzung der Methansulfonatgruppen
BuFlu	Busulfan und Fludarabin
BSZT	Blutstammzelltransplantation; Allogene Stammzelltransplantation und Transplantation werden in dieser Arbeit synonym verwendet.
cGVHD	Chronische Transplantat-gegen-Wirt Krankheit (<i>Chronic Graft-versus-Host Disease</i>)
KI	Konfidenzintervall
CIBMTR	Das Register des Zentrums für Internationale Blut- und Knochenmark-Transplantation (<i>The Center for International Blood and Marrow Transplantation Register</i>)
CD	Molekül auf Zelloberflächen; dient der Differenzierung unterschiedlicher Zellen (<i>Cluster of Differentiation</i>)
CD4	Oberflächenantigen der T-Helferzellen
CD8	Oberflächenantigen der zytotoxischen T-Zellen
CD56	Oberflächenantigen der natürlichen Killerzellen
CD19	Oberflächenantigen der B-Zellen
CD34	Oberflächenantigen hämatopoietischer Stammzellen
CGH	Vergleichende genomische Hybridisierung (<i>Comparative Genome Hybridization</i>)
CML	Chronische myeloische Leukämie
CML-CP	Chronische myeloische Leukämie in chronischer Phase
CML-Ph+	Philadelphia-Chromosom positive chronische myeloische Leukämie; Synonym: Typische chronische myeloische Leukämie
CML-Ph-	Philadelphia-Chromosom negative chronische myeloische Leukämie; Synonym: Atypische chronische myeloische Leukämie
CMML	Chronische myelomonozytäre Leukämie
CMV	Cytomegalievirus
CEL	Chronische Eosinophilenleukämie
CNL	Chronische Neutrophilenleukämie
CR	Komplette Remission (<i>Complete Remission</i>)
CRp	Komplette Remission mit persistierender Zytopenie

CSA	Ciclosporin A; Immunsuppressivum; Wirkmechanismus: Calcineurin-Inhibitor, Inhibition der Transkription und Freisetzung von Zytokinen in den T-Zellen; Isolation aus den norwegischen Schlauchpilzen <i>Tolyocladium inflatum</i> und <i>Cylindrocarpon lucidum</i>
DAC	Decitabin (Synonym: 5-aza-2'-Deoxycytidin); Wirkmechanismus: Demethylierendes Zytostatikum; Desoxycytidin-Analogon; DNA-Methyltransferase Inhibitor
DLI	Spenderlymphozyten Infusion (<i>Donor Lymphocyte Infusion</i>)
DLIs	Spenderlymphozyten Infusionen (<i>Donor Lymphocyte Infusions</i>)
DFS	Krankheitsfreies Überleben (<i>Disease Free Survival</i>)
EBMT	Europäische Gesellschaft für Blut- und Knochenmark-Transplantation (<i>European Society for Blood and Marrow Transplantation</i>)
ED	Erstdiagnose
ET	Essentielle Thrombozythämie
F	Fludarabin (Synonym: 6-Amino-9-beta-D-arabinofuranosyl-2-fluorpurin; Fludarabinum); Wirkmechanismus: Zytostatikum; Purin-Analogon; Vidarabin-Analogon
FAB	Klassifikation der akuten Leukämien (<i>French-American-British</i>)
FBM	Fludarabin, Carmustin und Melphalan
FISH	Fluoreszenz in-situ Hybridisierung (<i>Fluorescence in situ Hybridization</i>)
FLAMSA	Fludarabin, Amsacrin und Cytarabin
FLAMSA-Mel	FLAMSA-Hochdosischemotherapie gefolgt von einer Konditionierung mit Melphalan
FLAMSA-Mel-Thio	FLAMSA-Hochdosischemotherapie gefolgt von einer Konditionierung mit Melphalan und Thiotepa
FLAMSA-Treo	FLAMSA-Hochdosischemotherapie gefolgt von einer Konditionierung mit Treosulfan
FM	Fludarabin und Melphalan
FK506	Tacrolimus der Firma Astellas Pharma GmbH, München, Deutschland; Handelsname: Prograf®; Wirkmechanismus: Calcineurininhibitor, Inhibition der Transkription und Freisetzung von Zytokinen in den T-Zellen
FLT3	<i>FMS-Like Tyrosin Kinase 3</i>
G-CSF	Wachstumsfaktor für Granulozyten (<i>Granulocyte-Colony-Stimulating Factor</i>)
GEKID	Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister e.V.
GVHD	Transplantat-gegen-Wirt Krankheit (<i>Graft-versus-Host Disease</i>)

GVL	Transplantat-gegen-Leukämie/Tumor (<i>Graft-versus-Leukemia</i>); GVL-Effekt
Gy	Gray
HLA	Humanes Leukozyten-Antigen (<i>Human Leukocyte Antigen</i>)
HR	Relatives Risiko (<i>Hazard Ratio</i>)
HRD	Haploidentischer Familienspender (<i>Haploidentical Related Donor</i>)
HCT-CI	Blutstammzelltransplantations-spezifischer Komorbiditätsindex (<i>Hematopoetic Cell Transplantation-specific Comorbidity Index</i>)
I	Inzidenz
INT	Mittlerer Risikobereich des IPSS-Score (<i>Intermediate</i>)
IPSS	Standardisiertes Punktesystem zur Prognoseberechnung bei MDS (<i>International Prognostic Scoring System</i>)
J	Jahre/Jahre
JMML	Juvenile myelomonozytäre Leukämie
K	Konditionierung
KG	Körpergewicht
KIR	Rezeptoren auf der Oberfläche von NK-Zellen (<i>Killer Cell Immunoglobuline-like Receptor</i>)
KM	Knochenmark
KMT	Knochenmarktransplantation
KO	Körperoberfläche
m	Männliches Geschlecht
M	Monat/Monate
MAC	Myeloablative Konditionierung (<i>Myeloablative Conditioning</i>)
MDS	Myelodysplastisches Syndrom bzw. Myelodysplastische Syndrome
MDS/MPN	Myelodysplastische/Myeloproliferative Neoplasien (CMML, aCML, JMML, MDS/MPN-U)
MDS/MPN-U	Unklassifizierbare myelodysplastische/myeloproliferative Neoplasien
Mel	Melphalan (Synonym: Melphalanum, Sarkolysin); Wirkmechanismus: Stickstoff-Lost-Derivat; Alkylierendes Zytostatikum; Bifunktionelles Alkylans; Alkylierung von Guanin, Quervernetzungen von DNA-Strängen und Induktion von Strangbrüchen
MIC	Minimal-intensive Konditionierung (<i>Minimal-Intensive Conditioning</i>)

MMF	Mycophenolatmofetil der Firma Roche Pharma AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland; Handelsname: CellCept®; Wirkmechanismus: Reversibler Inhibitor der Inosinmonophosphat-Dehydrogenase (IMPDH) bzw. der Synthese von Guanosin
MMURD	Teilweise HLA-inkompatibler Fremdspender (<i>Partially HLA-mismatched Unrelated Donor</i>)
MND	Mediane Nachbeobachtungsdauer
MPA	Medianes Patientenalter
MPE	Myeloproliferative Erkrankungen; Hier MPN und MDS/MPN
MPN	Myeloproliferative Neoplasie (CML, PV, ET, PMF, CEL, CNL, MPN-U)
MPN-U	Unklassifizierbare myeloproliferative Neoplasien
MRC	<i>Medical Research Council</i> des <i>United Kingdom</i>
MRD	HLA-identischer/-kompatibler Familienspender (<i>Matched Related Donor</i>)
MS	Mediane Überlebenszeit (<i>Median Survival</i>)
MT-aGVHD	Mediane Zeit bis zum Auftreten der akuten <i>Graft-versus-Host Disease</i> (<i>Median Time to acute Graft-versus-Host Disease</i>)
MT-cGVHD	Mediane Zeit bis zum Auftreten der chronische <i>Graft-versus-Host Disease</i> (<i>Median Time to chronic Graft-versus-Host Disease</i>)
MT-R	Mediane Zeit bis zum Rezidiv (<i>Median Time to Relapse</i>)
MTX	Methotrexat; Wirkmechanismus: Zytostatikum; Folsäure-Analogen; Antagonist der Dihydrofolat-Reduktase; Bildung von Purinen und Thymidinen wird gehemmt
MUD	HLA-identischer/-kompatibler Fremdspender (<i>Matched Unrelated Donor</i>)
N	Anzahl der Patienten in der Gesamtgruppe
n	Anzahl der Patienten in einer Subgruppe
NB	Nabelschnurblut
NGS	Moderne DNA-Sequenzierungsverfahren (<i>Next Generation Sequencing</i>)
NK	Natürliche Killer; NK-Zelle
NMDP	Nationales Knochenmark Spender-Programm (<i>National Marrow Donor Program</i>)
OKT3	Muronomab-CD3 Antikörper der Firma Janssen-Cilag; Handelsname: Orthoclone OKT3®; Anti-CD3 Antikörper aus der Maus
OS	Gesamtüberleben (<i>Overall Survival</i>)
p	Überschreitungswahrscheinlichkeit, Signifikanzwert; p -Wert (<i>Probability</i>)
PBSZ	Periphere Blutstammzellen

PCR	Polymerase Kettenreaktion (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
PMF	Primäre Myelofibrose
PV	Polycythämia vera
R	Rate
RA	Refraktäre Anämie
RAEB	Refraktäre Anämie mit Exzess von Blasten
RAEB-T	Refraktäre Anämie mit Exzess von Blasten in Transformation
RARS	Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten
RD	Familienspender (<i>Related Donor</i>)
RIC	Konditionierung reduzierter Intensität (<i>Reduced-Intensity Conditioning</i>)
RR	Relatives Risiko
RRM	Rezidivassoziierte Mortalität (<i>Relapse Related Mortality</i>)
sAML	Sekundäre akute myeloische Leukämie
s	Sekundär
SF	Standardfehler
SNP	Einzelnukleotid-Polymorphismus; Variation eines einzelnen Basenpaares in einem DNA-Strang (<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>)
SM	Systemische Mastozytose
SPSS	Statistikprogramm (<i>Statistical Package of the Social Sciences</i>)
STI	Signaltransduktionsinhibitor
SWOG	<i>Southwest Oncology Group</i> der <i>United States of America</i>
T	Tag/Tage
t	Therapieassoziiert
tAML	Therapieassoziierte akute myeloische Leukämie
tMDS	Therapieassoziiertes Myelodysplastisches Syndrom
TBI	Ganzkörperbestrahlung (<i>Total Body Irradiation</i>)
Thio	Thiotepa (Synonym: N,N,N-Triethylthiophosphorsäuretriamid); Wirkmechanismus: Alkylierendes Zytostatikum
Treo	Treosulfan; Wirkmechanismus: Alkylsulfonat; Alkylierendes Zytostatikum
TRM	Therapieassoziierte Mortalität (<i>Treatment Related Mortality</i>)
TKIs	Tyrosinkinase-Inhibitoren
URD	Fremdspender (<i>Unrelated Donor</i>)
w	Weibliches Geschlecht
WHO	Weltgesundheitsorganisation (<i>World Health Organization</i>)

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Die myeloischen Stammzellerkrankungen	1
1.1.1	Definition, Pathogenese und Klassifikation	1
1.1.2	Ätiologie und Epidemiologie	4
1.1.3	Klinik und Diagnostik	6
1.1.4	Therapie und Prognose	8
1.2	Die Problematik der Hochrisiko-Erkrankung	14
1.3	Die allogene Blutstammzelltransplantation	16
1.3.1	Grundlagen	17
1.3.2	Komplikationen	18
1.3.3	Prognosefaktoren	20
1.4	Die Prognose nach allogener Blutstammzelltransplantation	21
1.5	Neue Transplantations-Strategien	22
1.5.1	Konditionierungen reduzierter Intensität	22
1.5.2	Alternative Stammzellquellen und die GVHD-Prophylaxe mit Anti-T-Lymphozyten Immunglobulin	23
1.5.3	Die allogene Blutstammzelltransplantation als Erstlinientherapie	25
1.5.4	Die frühe allogene Blutstammzelltransplantation während der Phase der Knochenmarksaplasie	26
1.5.5	Spenderlymphozyten Infusionen und adoptive Zelltherapien im Posttransplantationsverlauf	26
2	Ziele der Arbeit	28
3	Patienten und Methoden	29
3.1	Studiendesign und Studiendauer	29
3.2	Einschlusskriterien	29
3.3	Studienkollektiv	30
3.4	Therapieprotokoll	31
3.4.1	FLAMSA-Melphalan Konditionierung	32
3.4.2	Supportive Therapie und Prophylaxe der Graft-versus-Host Disease im Posttransplantationsverlauf	33
3.4.3	Nachsorge	35

3.5	Definitionen und Klassifikationen	37
3.5.1	Engraftment und Graft Failure	37
3.5.2	Immunrekonstitution	37
3.5.3	Spenderchimärisismus	38
3.5.4	Remission	38
3.5.5	Rezidiv.....	39
3.5.6	Klassifikation der Zytogenetik	39
3.5.7	Klassifikation der Komorbidität	41
3.5.8	Klassifikation der Graft-versus-Host Disease.....	42
3.6	Datenerhebung und statistische Analyse.....	47
3.6.1	Erhebungsparameter.....	47
3.6.2	Erläuterungen zum Vorgehen der Datenerhebung.....	49
3.6.3	Statistische Auswertung	50
4	Ergebnisse	52
4.1	Das Studienkollektiv	52
4.1.1	Aufteilung des Gesamtkollektivs anhand der Konditionierung.....	52
4.1.2	Das Patientenkollektiv FLAMSA-Melphalan	53
4.2	Das Transplantationsergebnis nach der Konditionierung mit FLAMSA-Melphalan.....	59
4.2.1	Engraftment und frühe hämatologische Rekonstitution	59
4.2.2	Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben.....	59
4.2.3	Rezidivrate	61
4.2.4	Therapieassoziierte Mortalität	63
4.2.5	Graft-versus-Host Disease	65
4.3	Die Immunrekonstitution	73
4.3.1	Rekonstitution der T-Helferzellen	73
4.3.2	Rekonstitution der zytotoxischen T-Zellen.....	74
4.3.3	Rekonstitution der natürlichen Killerzellen.....	76
4.3.4	Rekonstitution der B-Zellen.....	77
4.4	Ergebnisse der univariaten Analyse	82
4.4.1	Prognosefaktoren des Prätransplantationsverlaufes.....	82
4.4.2	Prognosefaktoren des Posttransplantationsverlaufes	119
4.5	Ergebnisse der multivariaten Analyse	135
4.5.1	Unabhängige Prognosefaktoren für das Gesamtüberleben.....	135
4.5.2	Unabhängige Prognosefaktoren für das krankheitsfreie Überleben	136
4.5.3	Unabhängige Prognosefaktoren für die Rezidivrate	137
4.5.4	Unabhängige Prognosefaktoren für die therapieassoziierte Mortalität.....	138
4.5.5	Unabhängige Prognosefaktoren für die Inzidenz der chronischen Graft-versus-Host Disease	139

5	Diskussion	140
5.1	Diskussion der sequentiellen Konditionierung mit FLAMSA-Melphalan.....	140
5.2	Diskussion der allogenen Blutstammzelltransplantation als Erstlinientherapie.....	149
5.3	Diskussion der Prognosefaktoren im Rahmen einer allogenen Blutstammzelltransplantation	152
5.3.1	Das Alter und die Komorbidität des Patienten.....	152
5.3.2	Die Verwandtschaft und HLA-Kompatibilität zwischen Patient und Spender	156
5.3.3	Die Geschlechterkonstellation zwischen Patient und Spender und das Spenderalter	159
5.3.4	Die Anzahl der Chemotherapiezyklen im Rahmen der Vortherapie	163
5.3.5	Die Zytogenetik.....	164
5.3.6	Der Remissionsstatus und der Blastenanteil im Knochenmark zum Zeitpunkt der Transplantation.....	169
5.3.7	Die Immunrekonstitution	170
5.3.8	Die in vivo T-Zell Depletion mit Anti-T-Lymphozyten Immunglobulin	175
6	Anhang	183
7	Literaturverzeichnis	194
8	Danksagung	235

1 Einleitung

1.1 Die myeloischen Stammzellerkrankungen

1.1.1 Definition, Pathogenese und Klassifikation

In dieser Arbeit werden die Therapie und potentielle Prognosefaktoren myeloischer Stammzellerkrankungen behandelt. Myeloische Stammzellerkrankungen sind maligne Neoplasien des hämatopoietischen Systems, denen eine gestörte Ausreifung, Differenzierung und Proliferation in den Zelllinien der Myelopoese zu Grunde liegen. Vor diesem Hintergrund können das Wachstum und die Reifung der Granulozyten, Monozyten, Erythrozyten und der Megakaryozyten im Knochenmark in unterschiedlichem Ausmaß betroffen sein. In Abhängigkeit von den betroffenen Zelllinien im Knochenmark, dem Grad der Ausdifferenzierung der Zellen, molekular- und zytogenetischen Befunden, dem Krankheitsverlauf und der Krankheitsprognose werden drei verschiedene Krankheitsentitäten unterschieden: Die akute myeloische Leukämie (AML), das myelodysplastische Syndrom (MDS) und die myeloproliferativen Neoplasien (MPN) mit unter anderem der Philadelphia-positiven chronisch myeloischen Leukämie (CML-Ph+). Eine Sonderform sind die myelodysplastisch/myeloproliferativen Neoplasien (MDS/MPN), die eine Übergangsform zwischen MDS und MPN bilden. (1,2)

Die akute myeloische Leukämie (AML) hat ihren Ursprung in einer frühen, myeloisch determinierten Vorläuferzelle (Myeloblast). Zumeist auf dem Boden chromosomaler Aberrationen und/oder spezifischer Genmutationen verliert die myeloische Vorläuferzelle die Fähigkeit zur Ausdifferenzierung und proliferiert ungehemmt. Es resultiert eine klonale Expansion unreifer Zellen im Knochenmark mit Ausschwemmung in das periphere Blut. (3–5)

Bei etwa 55 % der AML-Patienten sind chromosomale Veränderungen zum Zeitpunkt der Diagnose nachzuweisen. Charakteristische chromosomale Veränderungen bei einer De Novo AML sind beispielweise die Translokationen t(15;17), t(8;21) und t(16;16). (6–9) Bei mehr als 80 % der AML-Patienten mit einem normalen Karyotyp können spezifische Genmutationen nachgewiesen werden. In Abhängigkeit von der jeweiligen Mutation und der Koexistenz anderer Mutationen, kann sich der Nachweis einer Genmutation bei AML-Patienten unterschiedlich auf das Therapieansprechen und die Prognose auswirken. Der isolierte Nachweis einer NPM1-Genmutation oder einer CEBPA-Genmutation, beispielsweise werden als prognostisch günstig angesehen. Der Nachweis einer FLT3-Längenmutation oder die Kombination aus FLT3-Längenmutation und der NPM1-Genmutation sprechen hingegen für einen ungünstigen Krankheitsverlauf. (10–14)

Die AML wurde ursprünglich anhand von morphologischen und zytochemischen oder durchflusszytometrischen Kriterien mit dem *French-American-British* (FAB) Klassifikationssystem in

acht Gruppen unterteilt (FAB M0 bis M7) (15). Die Klassifikation der *World Health Organization* (WHO) aus dem Jahr 2008, die in dieser Arbeit verwendet wird, basiert auf zytogenetischen und molekulargenetischen Befunden und hat eine größere prognostische Aussagekraft im Vergleich zu der FAB-Klassifikation. Die WHO-Klassifikation unterscheidet acht Kategorien, worunter die AML mit rekurrenten genetischen Abnormalitäten, die AML mit Myelodysplasie-assoziierten Veränderungen, die therapieassoziierte AML und die AML-Formen ohne Spezifikation am häufigsten diagnostiziert werden. Definitionsgemäß wird von einer AML gesprochen, wenn mehr als 20 % unreife myeloische Zellen, sogenannte Blasten, im Knochenmark oder im peripheren Blut nachgewiesen werden können. (1,2,16)

Das Krankheitsbild der myelodysplastischen Syndrome (MDS) umfasst eine heterogene Gruppe von Erkrankungen der myeloischen Stammzelle, die durch eine Reifungsstörung hämatopoietischer Zellen, dem Versagen des Knochenmarks und einem erhöhten Risiko in eine AML zu transformieren, gekennzeichnet sind. Im Unterschied zur AML verfügt die neoplastische Stammzelle beim MDS zu einem gewissen Grad weiterhin über die Fähigkeit zur Ausdifferenzierung. Beim MDS sind daher oft, anders als bei der AML, morphologische Veränderungen in allen drei Zelllinien der Hämatopoese zu beobachten. Charakteristisch für das Krankheitsbild ist eine gesteigerte, jedoch ineffektive Hämatopoese mit dysplastischen Veränderungen in einer oder mehreren Zelllinien und einer peripheren Zytopenie. (17–20)

Auch in der Pathogenese der MDS sind chromosomale Veränderungen von zentraler Bedeutung. Bei etwa 50 % der Patienten mit einem primären MDS und mehr als 80 % der Patienten mit einem therapieassoziierten MDS werden abnormale Karyotypen in der zytogenetischen Untersuchung nachgewiesen (21). Oftmals handelt es sich um numerische Abnormalitäten (Aneuploidie) oder segmentale Deletionen.

Mit der Hilfe neuer, hochauflösender Techniken der Gensequenzierung, wie der Einzelnukleotid-Polymorphismen *Microarrays* (*Single Nucleotide Polymorphism*; SNP-Array, auch Genchip genannt; SNP) und der vergleichenden genomischen Hybridisierung (*Comparative Genome Hybridization*, Array-CGH, CGH), gelang es in den vergangenen Jahren, bei Patienten mit MDS zahlreiche Genmutationen aufzudecken. Bei 78 % aller MDS-Fälle, darunter viele mit einem normalen Karyotyp oder indolenten Krankheitsverläufen, kann mittlerweile mindestens eine Mutation nachgewiesen werden (22). Bislang ist die klinische Bedeutung dieser Mutationen noch nicht abschließend definiert. Für MDS-Patienten mit den Genmutationen TP53, ASXL1, DNMT3A, ETV6, EZH2 und RUNX1 konnte jedoch bereits eine ungünstige prognostische Bedeutung nachgewiesen werden. (21–26)

Im Rahmen der FAB-Klassifikation wurde das MDS erstmals 1982 anhand von zytomorphologischen Gesichtspunkten, dem Blastenanteil im Knochenmark und im peripheren Blut, sowie dem Nachweis von Monozyten im peripheren Blut in fünf Gruppen eingeteilt (RARS, RAEB, RAEBT, CMML). (27)

Das darauffolgende Klassifikationssystem der WHO baute auf der FAB-Klassifikation auf und ergänzte diese durch prognostisch wertvolle Erkenntnisse aus den Bereichen der Zytomorphologie und -genetik. (28–30) Gemäß der WHO-Klassifikation aus dem Jahr 2008 werden die MDS nach histologischen, zytomorphologischen und zytogenetischen Kriterien in sieben Gruppen unterteilt: (1) Die refraktäre Zytopenie mit unilineärer Dysplasie (RCUD), wobei anhand der betroffenen Zelllinie zwischen der refraktären Anämien (RA), der refraktären Neutropenie (RN) und der refraktären Thrombozytopenie (RT) unterschieden wird. (2) Die refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten (RARS), die durch den Nachweis von > 15 % Ringsideroblasten gekennzeichnet ist. (3) Die refraktäre Zytopenie mit multilineärer Dysplasie, bei der Dysplasiezeichen in zwei bis drei Zelllinien vorhanden sind (RCMD). (4) Das MDS mit isolierter del(5q), bei der zytogenetisch eine isolierte Deletion des Chromosomenarms 5q vorliegt und die im Vergleich zu anderen Aberrationen mit einer günstigen Prognose assoziiert ist (5q-Syndrom). Die Krankheitsbilder (1) bis (4) weisen definitionsgemäß nur einen sehr geringen Blastenanteil im Knochenmark von kleiner als 5 % und im peripheren Blut von kleiner als 1 % auf. In diesem Punkt unterscheiden sich die Gruppen (5) und (6). (5) Die refraktäre Anämie mit Blastenexzess I, bei der 5-9 % Blasten im Knochenmark (RAEB I) und (6) die refraktäre Anämie mit Blastenexzess II, bei der 10-19 % Blasten im Knochenmark nachzuweisen sind (RAEB II). (7) Zuletzt werden noch die unklassifizierten MDS abgegrenzt. Hierbei handelt es sich um eine Gruppe von Krankheitsbildern, die einerseits MDS-typische zytogenetische Aberrationen aufweisen, andererseits jedoch keine medulläre Dyserythropoese und keine Blastenvermehrung zeigen (MDS-U). (1,2)

Wie die AML und die MDS haben auch die myeloproloferativen Neoplasien (MPN) ihren Ursprung in einer genetisch veränderten myeloischen Stammzelle. Die MPN sind gekennzeichnet durch die autonome Proliferation einer oder mehrerer hämatopoietischer Zellreihen des Knochenmarks mit zeitlich wechselnder Leuko-, Erythro- und/oder Thrombozytose im peripheren Blut. Im Unterschied zu der AML und den MDS sind die Zellen im peripheren Blut bei den MPN morphologisch unverändert und häufig auch funktionell unbeeinträchtigt. Zwar sind bei den MPN auch unreife Vorstufen der Hämatopoese im peripheren Blut nachweisbar, jedoch finden sich keine reinen Blastenpopulationen, wie sie für die AML und die fortgeschrittenen Stadien der MDS typisch sind. Zu den myeloproliferativen Neoplasien (MPN) werden die folgenden Krankheitsbilder gezählt: Die chronisch myeloische Leukämie (CML), die Polycythämia vera (PV), die essentielle Thrombozythämie (ET), die primäre Myelofibrose (PMF), die systemische Mastozytose (SM), die chronische Eosinophilenleukämie (CEL), die chronische Neutrophilenleukämie (CNL) und die unklassifizierbaren myeloproliferativen Neoplasien (MPN-U). Unter den genannten Krankheitsbildern werden die essentielle Thrombozythämie (ET), die Polyzzythämia vera (PV), die primäre Myelofibrose (PMF) und die chronische myeloische Leukämie (CML) am häufigsten diagnostiziert. Die CML wird durch den

zytogenetischen Nachweis des Philadelphia-Chromosoms, beziehungsweise durch den Nachweis des Fusionsgenes BCR-ABL1 charakterisiert (BCR = *Breakpoint Cluster Region*; ABL1 = *Abelson Murine Leukemia Viral Oncogene Homolog 1*). (31,32) Die ET, PV, PMF und die selteneren Formen der myeloproliferativen Neoplasien werden mit dem Begriff Philadelphia-negative MPN der CML gegenüber abgegrenzt (MPN-Ph-). In der Pathogenese der Philadelphia-negativen MPN sind Mutationen in Genen, die für Protein-Tyrosinkinasen (PTKs) kodieren, von entscheidender Bedeutung. (33–38)

Als Sonderform der myeloischen Stammzellerkrankungen gelten die Myelodysplastisch-Myeloproliferativen Neoplasien (MDS/MPN), da sie sowohl Charakteristika des Myelodysplastischen Syndroms als auch der Myeloproliferativen Neoplasien vereinen. Ähnlich den myeloproliferativen Neoplasien, zeigen Patienten mit einem MDS/MPN eine abnorme Proliferation einer oder mehrerer Zelllinien mit in ihrer Funktion uneingeschränkten Zellklonen. Andererseits sind auch dysplastische Zellveränderungen wie bei den MDS zu beobachten. Zu der Gruppe der Myelodysplastischen/myeloproliferativen Neoplasien werden die chronisch myelomonozytäre Leukämie (CMML), die atypische CML (CML-Ph- oder aCML), die juvenile myelomonozytäre Leukämie (JMML) und die unklassifizierbaren myelodysplastischen/myeloproliferativen Neoplasien (MDS/MPN-U) gezählt. (1,39)

1.1.2 Ätiologie und Epidemiologie

Der Entwicklung myeloischer Stammzellneoplasien liegen zumeist Veränderungen im Erbgut (Genom) zu Grunde. Diese Veränderungen im Erbgut können angeboren oder erworben sein.

Angeborene Erbgutveränderungen, die für eine myeloische Stammzellneoplasie prädisponieren, sind sehr selten. Exemplarisch können folgende Syndrome genannt werden: Die Diamond-Blackfan Anämie (40), die schwere kogenitale Neutropenie (41), die Fanconi Anämie, das Shwachman-Diamond Syndrom (42) und die Dyskeratosis congenita (43). Für Patienten mit einer Fanconi Anämie oder einem Shwachman-Diamond Syndrom beträgt das Risiko ein MDS oder eine AML im Laufe des Lebens zu entwickeln etwa 30-40 %. (44–47)

Erworbene Erbgutveränderungen können durch akute oder chronische Expositionen gegenüber Zellgiften hervorgerufen werden. Beispiele solcher Zellgifte sind Chemikalien (z.B. Benzol, Benzolderivate im Rauch von Zigaretten), Zytostatika (z.B. alkylierenden Substanzen, Topoisomerase II Inhibitoren, Cisplatin) und ionisierende Strahlen (z.B. im Rahmen von Reaktorkatastrophen in Tschernobyl 1986 und in Fukushima 2011). (48–50)

Da Zytostatika und Strahlung im Rahmen der onkologischen Behandlung eingesetzt werden, kann eine myeloische Stammzellerkrankung auch Folge einer solchen Therapie sein. Darüber hinaus

werden chronische immunsuppressive Therapien als potentielle Auslöser myeloischer Stammzellneoplasien beschrieben. (1,51,52) Myeloische Stammzellerkrankungen, die im Zusammenhang mit einer Chemo- und/oder Strahlentherapie stehen, werden mit dem Begriff „therapieassoziiert“ ergänzt (z.B. therapieassoziierte AML, tAML). Etwa 10-20 % der diagnostizierten AML und MDS treten therapieassoziiert auf und die Wahrscheinlichkeit ein MDS oder eine AML in Folge einer Tumorthherapie zu entwickeln liegt in Abhängigkeit von den applizierten Therapeutika zwischen 1 und 20 %. (52–54)

Bei dem Großteil der Patienten mit myeloischen Stammzellneoplasien kann jedoch kein vererbbarer Gendefekt und keine auslösende Noxe identifiziert werden. Bei diesen Patienten spielt möglicherweise der Alterungsprozess der hämatopoietischen Stammzelle, einhergehend mit oxidativem Stress, Telomerverkürzungen und kumulativen DNA-Schäden, eine Rolle im Entstehungsprozess der Erkrankung. Das genaue Zusammenspiel von genetischer Prädisposition einerseits und somatischen Einflüssen andererseits im Rahmen der Pathogenese myeloischer Stammzellerkrankungen ist bis heute nicht vollständig geklärt. (47,55–59)

Eine Aussage über die Epidemiologie der einzelnen myeloischen Stammzellerkrankungen ist durch die Schätzungen anhand von Studiendaten und mithilfe der Daten verschiedener Krebsregister möglich (In Deutschland: Die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister e.V. (GEKID), das Zentrum für Krebsregisterdaten (ZfKD) im Robert Koch-Institut und das Statistische Bundesamt; In den USA: *Surveillance, Epidemiologie, and End Results Program des National Cancer Institute* (SEER)). (60–62)

Unter allen myeloischen Stammzellerkrankungen werden die akute myeloische Leukämie und die myelodysplastischen Syndrome am häufigsten diagnostiziert. Die AML ist mit etwa 30 % die häufigste akute Leukämie. (60,63) Die Inzidenz der AML wird auf 3-4 pro 100.000 Einwohner und Jahr geschätzt und steigt mit dem Alter kontinuierlich an. In der Altersgruppe ≥ 65 Jahre werden jährlich etwa 18 Fälle pro 100.000 neu diagnostiziert. (61,62,64,65)

In der westlichen Welt liegt die jährliche Inzidenz der MDS zwischen 4-5 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner und steigt ebenfalls mit dem Alter stark an. In der Bevölkerungsgruppe der über 70-Jährigen werden jährlich bis zu 50 Erkrankungen pro 100.000 beobachtet. (61,62,66,67) Dem Düsseldorfer MDS-Register zu Folge beträgt die jährliche Inzidenz der MDS 4 pro 100.000 Einwohner und die Prävalenz 7 pro 100.000 in der Stadt Düsseldorf. (68)

Die Inzidenz der MPN wird auf 2-3 pro 100.000 Einwohner und Jahr geschätzt. (67,69)

Myeloische Stammzellerkrankungen werden in allen Altersgruppen diagnostiziert, dennoch sind es vorwiegend Erkrankungen des erwachsenen und alten Menschen. Der Zeitpunkt der Krankheitsdiagnose liegt bei den meisten Patienten zwischen dem 4. und 7. Lebensjahrzehnt.

Patienten mit einer De Novo AML sind zum Zeitpunkt der Diagnose im Median etwa 65 Jahre alt. Für MDS-Patienten liegt das mediane Erkrankungsalter bei etwa 70 Jahren. (20,62,64)

Alle myeloischen Stammzellerkrankungen werden etwas häufiger bei Männern beobachtet als bei Frauen. (61,62)

1.1.3 Klinik und Diagnostik

Die myeloischen Stammzellneoplasien lassen sich im Hinblick auf die Geschwindigkeit des Krankheitsfortschreitens in Erkrankungen mit akuten und chronischen Krankheitsverläufen unterteilen. Die AML ist eine myeloische Stammzellneoplasie mit einem akuten Krankheitsverlauf und endet ohne eine Therapie innerhalb kürzester Zeit tödlich. Im Unterschied zu der AML zeigen Patienten mit den anderen myeloischen Stammzellneoplasien MDS, MPN, MDS/MPN in der Regel einen langjährigen, chronischen Krankheitsverlauf. Mit zunehmender Krankheitsdauer steigt jedoch die Wahrscheinlichkeit einer Transformation in eine akute Leukämie. Eine akute myeloische Leukämie, die auf dem Boden eines MDS, einer MPN oder eines MDS/MPN entsteht, wird als sekundäre AML bezeichnet (sAML). Etwa 20-30 % der Patienten mit einem MDS transformieren im Verlauf ihrer Erkrankung in eine sekundäre AML. (70,71) Bei der CML entspricht die Blastenkrise klinisch einer akuten Leukämie. (72) Ohne eine Therapie erreichen nahezu alle CML-Patienten diese finale Krankheitsphase 5-7 Jahre nach der Diagnose. (73,74) Für Patienten mit einer PV oder ET beträgt die Wahrscheinlichkeit einer Transformation in eine sekundäre AML etwa 2 % nach 10 Jahren. Patienten mit einer PMF transformieren nach einem Zeitraum von 10 Jahren etwa zu 8-23 % in eine sekundäre AML. (75)

Im Initialstadium werden viele myeloische Stammzellneoplasien durch unspezifische Allgemeinsymptome auffällig. Die Patienten leiden beispielweise unter Abgeschlagenheit, Leistungsschwäche und häufig auch unter einer B-Symptomatik, die durch die Symptomtrias Fieber, Nachtschweiß und Gewichtsverlust gekennzeichnet ist. Im weiteren Krankheitsverlauf wird das klinische Erscheinungsbild der einzelnen myeloischen Stammzellneoplasien durch krankheitsspezifische Aspekte geprägt. Das jeweilige klinische Bild hängt von den betroffenen Zelllinien im Knochenmark, dem Ausmaß der resultierenden Knochenmarkinsuffizienz und der Zellzahl im peripheren Blut ab. (20,75–77)

Bei der AML steht die Knochenmarkinsuffizienz infolge blastärer Infiltration im Vordergrund des klinischen Bildes. Die Verdrängung der Erythropoese im Knochenmark bedingt eine Anämie, die sich durch Müdigkeit, verminderte Leistungsfähigkeit, Belastungsdyspnoe und Tachykardie bemerkbar macht. In Folge der Granulozytopenie treten bakterielle und mykotische Infektionen auf. Durch die Verdrängung der Megakaryopoese entsteht eine Thrombozytopenie im peripheren Blut, die sich in Form von Blutungen, beispielsweise als Petechien der Haut, äußert. Im weiteren Krankheitsverlauf

können Symptome durch die leukämische Infiltration extramedullärer Organe hinzukommen. Im Falle sehr hoher Leukozytenwerte im peripheren Blut ab etwa 100.000/ μ l können lebensgefährliche Mikrozirkulationsstörungen auftreten, die sich klinisch durch Dyspnoe, Zyanose, Sehstörungen und Benommenheit unter anderen neurologischen Symptomen bemerkbar machen (sog. Leukostase). Dieses Krankheitsbild wird jedoch nur selten, in etwa 5 % der AML-Patienten beobachtet. (75)

Wie bei der akuten myeloischen Leukämie ist auch das klinische Bild der Myelodysplastischen Syndrome durch die Folgen einer insuffizienten Hämatopoiese gekennzeichnet. Im Unterschied zur AML, ist diese Knochenmarkinsuffizienz jedoch nur langsam über mehrere Jahre hin progredient und pathogenetisch durch Reifungsstörungen aller drei Zelllinien der Hämatopoiese gekennzeichnet. Bei etwa 80 % der Patienten zeigen sich Symptome in Folge der peripheren Panzytopenie, wobei die Anämiesymptomatik im Vordergrund steht. Seltener kommt es zu Infektionen oder Blutungen. Oftmals wird die Diagnose MDS rein zufällig im Rahmen routinemäßiger Blutuntersuchungen gestellt. (20,75)

Während die MDS einen Mangel funktionstüchtiger Zellen im peripheren Blut aufweist, wird die Klinik der MPN durch einen Überschuss peripherer Zellen geprägt. Bei der CML ist die Zahl der Leukozyten im peripheren Blut erhöht, bei der PV finden sich erhöhte Erythrozyten- und bei der ET erhöhte Thrombozyten-Zahlen. Bei der PMF beobachtet man zunächst eine Thrombozytose im peripheren Blut, im weiteren Verlauf entwickeln die Patienten jedoch eine Panzytopenie in Folge einer progredienten Fibrosierung und Sklerosierung des Knochenmarks. Bei CML, ET, PV und zu Beginn der PMF können in Folge der massiv gesteigerten Zelldichte im peripheren Blut Mikrozirkulationsstörungen bis hin zu arteriellen und venösen Thrombembolien/Thrombosen auftreten. Insbesondere im fortgeschrittenen Krankheitsstadium der MPN wird regelmäßig eine Milzvergrößerung beobachtet, die zu einem Druckgefühl im linken Oberbauch führen kann. (74,75,77,78)

Die Diagnostik der myeloischen Stammzellerkrankungen umfasst Anamnese, klinische Untersuchung, labordiagnostische Analyse des peripheren Blutes inklusive Differentialblutbild und die Untersuchung des Knochenmarks. Die Untersuchung des Knochenmarks ist essentiell, um die Diagnose zu sichern, die Subgruppe der myeloischen Stammzellerkrankungen festzulegen und die Prognose der Erkrankung abschätzen zu können. Das Knochenmark wird durch eine Punktion des Beckenkamms gewonnen. Die Untersuchung des Knochenmarks beinhaltet einerseits die zytomorphologische und zytochemische Untersuchung der Zellen im Knochenmarkausstrich und andererseits zytogenetische und molekulargenetische Untersuchungen. Im Rahmen der zytomorphologischen und zytochemischen Untersuchung werden die Knochenmarkzellen anhand ihrer spezifischen Morphologie, dem Verhalten gegenüber Spezialfärbungen und der Darstellung markanter Zelleinschlüsse unter dem Mikroskop beurteilt. Das Ziel ist es, die abnormen Zellen ihrem Ursprung

nach der jeweiligen hämatologischen Stammzellneoplasie zuzuordnen und den Blastenanteil möglichst exakt zu bestimmen. Ergänzend zur zytologischen Untersuchung wird häufig eine Immunphänotypisierung durchgeführt. Hierbei werden mit Hilfe monoklonaler Antikörper spezifische Antigene auf den Zelloberflächen sichtbar gemacht. Das so gewonnene Antigen-Expressionsmuster der Knochenmarkszellen ermöglicht Aussagen zu deren Differenzierungsgrad und deren Abstammung. Beispielsweise sind die Oberflächenantigene CD13 und CD33 charakteristisch für eine Zelle myeloischen Ursprungs, während das Antigen CD34 für das Vorliegen unreifer Zellen spricht.

Seitdem man den enormen Einfluss von Chromosomen- und Genveränderungen auf die Prognose von Stammzellerkrankungen erkannt hat, sind auch die Zytogenetik und die Molekulargenetik ein fester Bestandteil der Diagnostik. Die Zytogenetik deckt chromosomale Aberrationen auf, indem der Karyotyp des Patienten ermittelt wird. Mit Hilfe der Molekulargenetik können zudem spezifische Mutationen auf Genebene identifiziert werden. Die gängigsten Verfahren in der Zytogenetik sind die mikroskopischen Chromosomenanalysen und die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH). In der Molekulargenetik kommen vor allem die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) und neuerdings moderne Sequenzierungsverfahren (*Next Generation Sequencing*, NGS) zur Anwendung. (1,75)

Die Ergebnisse der Chromosomen- und Genanalysen sind ein wichtiger Bestandteil der Klassifikationen myeloischer Stammzellerkrankungen und bilden die Grundlage für die Risikostratifikation der einzelnen Neoplasien. (79,80) Anhand der Klassifikation und der Prognose der Erkrankung wird das therapeutische Vorgehen festgelegt. (81)

1.1.4 Therapie und Prognose

Die Therapie myeloischer Stammzellneoplasien erfolgt in spezialisierten hämatologisch-onkologischen Zentren und im Rahmen von klinischen Studien. Die Therapie umfasst drei Säulen: Die Chemotherapie bzw. die zielgerichtete Arzneimitteltherapie, die supportive Therapie und die Knochenmark- bzw. Blutstammzelltransplantation. Das therapeutische Vorgehen wird anhand des individuellen Risikos bzw. der Prognose der myeloischen Stammzellerkrankung festgelegt.

Die Prognose einer akuten myeloischen Leukämie kann anhand von zytogenetischen und molekulargenetischen Krankheitsmarkern abgeschätzt werden. Beispielsweise ermöglicht die im Jahr 2010 veröffentlichte Risikobewertung des *European LeukemiaNET*, eine Einteilung der AML-Patienten anhand ihrer Zytogenetik in vier Risikogruppen (*favorable*, *intermediate I*, *intermediate II* und *adverse*). (82) Zum Vergleich siehe Tabelle 1.

Tabelle 1 Genetische Risikogruppen gemäß der *European LeukemiaNET*-Expertenrunde (82)

Genetische Risikogruppe	Genetische Marker
Günstig (<i>Favorable</i>)	t(8;21)(q22;q22), RUNX1-RUNX1T1 inv(16)(p13.1q22) oder t(16;16)(p13.1;q22), CBFB-MYH11 Mutiertes NPM1 ohne FLT3-ITD (CN-AML) Bi-allelische Mutation des CEBPA (CN-AML)
Intermediär-I (<i>Intermediate-I</i>)	Mutiertes NPM1 und FLT3-ITD (CN-AML) Wildtyp NPM1 und FLT3-ITD (CN-AML) Wildtyp NPM1 ohne FLT3-ITD (CN-AML)
Intermediär II (<i>Intermediate-II</i>)	t(9;11)(p22;q23), MLLT3-MLL Zytogenetische Abnormalitäten, die nicht als günstig oder ungünstig klassifiziert werden können
Ungünstig (<i>Adverse</i>)	inv(3)(q21q26.2) oder t(3;3)(q21;q26.2), RPN1-EV11 t(6;9)(p23;q34), DEK-NUP214 t(v;11)(v;q23), MLL neu geordnet -5 oder del(5q), -7, Abnormales (17p) Komplexer Karyotyp *

* Ein komplexer Karyotyp ist definiert als 3 oder mehr Chromosomen-Abnormalitäten in Abwesenheit der nach WHO-bezeichneten rekurrenten Translokationen oder Inversionen: t(15;17), t(8;21), inv(16) oder t(16;16), t(9;11), t(v;11)(v;q23), t(6;9), inv(3) oder t(3;3). CN-AML = AML mit normaler Zytogenetik (*Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia*)

Patienten mit einer AML werden primär chemotherapeutisch behandelt. Ziel der Chemotherapie ist es, die neoplastische Zellpopulation zu eliminieren. Die Chemotherapie gliedert sich in eine Induktionstherapie und eine darauf folgende Konsolidierungstherapie, die meist in mehreren Blöcken appliziert wird. Durch die Induktionstherapie sollen eine weitest gehende Tumorfreiheit und eine Wiederherstellung der normalen Hämatopoiese im Knochenmark erreicht werden. (75) Der Goldstandard der Induktionstherapie bei Patienten mit einer AML bildet seit mehr als 30 Jahren das 3+7-Schema. Diesem Schema zu Folge werden ein Anthrazyklin und ein Cytosinarabinosid (Cytarabin/Ara-C) miteinander kombiniert. Das Anthrazyklin (z.B. Idarubicin 10-12 mg/m² KO, Daunorubicin 60 mg/m² KO oder Mitoxantron 10-12 mg/m² KO) wird drei Tage lang appliziert, parallel zu einer 7-tägigen Dauerinfusion von 100-200 mg/m² Cytarabin (3+7 Schema). (5,82,83) Als Zeichen einer erfolgreichen Induktionstherapie stellt sich nach etwa drei bis sechs Wochen eine komplette Remission ein (CR = *Complete Remission*; CR: ≤ 5 % Blasten im KM, keine Blasten im PB). (75,84) Wird in einer frühen Knochenmarkuntersuchung, etwa zwei Wochen nach der Induktionstherapie, weiterhin ein hoher Blastenanteil im Knochenmark nachgewiesen (Non-CR: > 5 % Blasten im KM; *Persistent Disease*, PD: > 15 % Blasten im KM), kann eine erneute Induktion mit dem gleichen Regime oder einem intensiveren Regime versucht werden. (85,86)

Bei Patienten, die nach der Induktionstherapie eine komplette Remission erreichen, folgt eine Konsolidierungstherapie, die auch Postremissionstherapie genannt wird. Die Konsolidierungstherapie hat die Funktion, residuelle Leukämie-Zellen im Knochenmark zu eliminieren und auf diesem Weg einem Krankheitsrückfall (Rezidiv) vorzubeugen. (75) Die Konsolidierungstherapie kann aus einer

erneuten intensiven Chemotherapie (Meist 3-4 Zyklen hochdosiertes Cytarabin: Ein Zyklus entspricht einer 3-tägigen Therapie mit 1-3 g/m² Cytarabin alle 12 Stunden, an Tag 1, 3 und 5; kurz HIDAC), einer zyklischen myelosuppressiven Erhaltungstherapie oder einer Knochenmark-/Blutstammzelltransplantation (BSZT) bestehen. Die Wahl der geeigneten Konsolidierungstherapie hängt von dem Risikoprofil der AML und dem Gesundheitszustand des Patienten ab. (82,87)

Durch eine intensive Induktionstherapie gemäß dem 3+7-Schema erreichen 65 % der Patienten mit einer De Novo AML und 41 % der Patienten mit einer sekundären AML eine komplette Remission. Insgesamt können heutzutage etwa 40-60 % der jüngeren AML-Patienten und 15-20 % der über 60-Jährigen Patienten geheilt werden. (88)

In Abhängigkeit von dem Risikoprofil des Patienten kann das therapeutische Vorgehen bei MDS von einer zurückhaltenden Strategie (abwarten und beobachten; *wait-and-see strategy*) bis hin zu einer intensiven Therapie, wie der allogenen BSZT, reichen. (89) Um die Prognose von MDS-Patienten abschätzen zu können, stehen mittlerweile eine Vielzahl von Prognosesystemen zur Verfügung. (90–95) Das klinisch am häufigsten angewandte Prognosesystem ist das 1997 von Greenberg et al. veröffentlichte *International Prognostic Scoring System* (IPSS). Anhand der drei Merkmale Karyotyp, Blastenanteil im Knochenmark und Anzahl der Zytopenien im peripheren Blut können Patienten in vier Risikogruppen eingeteilt werden (niedrig, intermediär I, intermediär II und hoch). (90) Im Jahr 2012 wurde eine Überarbeitung des ursprünglichen IPSS, das *revised International Prognostic Scoring System* (IPSS-R), vorgestellt. Anstatt ursprünglich drei, bewertet der IPSS-R fünf zytogenetische Risikogruppen. Über einen höheren Punktwert kommt den intermediären und ungünstigen zytogenetischen Risikogruppen ein größerer prognostischer Stellenwert zu. Darüber hinaus werden im IPSS-R der Blastenanteil im Knochenmark neu bewertet und das genaue Ausmaß der Zytopenien im peripheren Blut beurteilt. Molekulare Abnormalitäten werden jedoch nicht berücksichtigt. (93,96) Zum Vergleich siehe Tabelle 2 und 3.

Tabelle 2 Risikostratifikation des MDS anhand des revised International Prognostic Scoring System (93)

Punkte	0	0.5	1.0	1.5	2	3	4
Blasten im Knochenmark (%)	≤ 2	-	3-4	-	5-10	> 10	-
Hämoglobin (g/dl)	> 10	-	8- < 10	< 8	-	-	-
Thrombozyten pro µl	≥ 100	50- < 100	< 50	-	-	-	-
Granulozyten pro µl	≥ 800	< 800	-	-	-	-	-
Karyotyp	Sehr gut	-	Gut	-	Intermediär	Schlecht	Sehr schlecht

Zytogenetische Risikogruppen		
Sehr gut (<i>very good</i>)	-Y, del(11q)	
Gut (<i>good</i>)	Normal, del(5q), del(12p), del(20q), doppelte Klone mit del(5q)	
Intermediär (<i>intermediate</i>)	del(7q), i(17q), +8, +19, sonstige einzelne oder doppelte Klone	
Schlecht (<i>poor</i>)	-7, inv(3)/t(3q)/del(3q), 2 Abnormalitäten inklusive -7/del(7q), komplexer Karyotyp: 3 Abnormalitäten	
Sehr schlecht (<i>very poor</i>)	Komplexer Karyotyp: > 3 Abnormalitäten	

Tabelle 3 Risikogruppen des revised International Prognostic Scoring Systems und deren Prognose (93)

Risikogruppe	IPSS-R (Punkte insgesamt)	Mediane Überlebenszeit (Jahre)	Zeit bis 25 % eine sAML entwickeln (Jahre)
Sehr gut	≤ 1,5	8,8	In der Regel keine sAML
Gut	> 1,5-3	5,3	10,8
Intermediär	> 3-4,5	3,0	3,2
Schlecht	> 4,5-6	1,6	1,4
Sehr schlecht	> 6	0,8	0,7

sAML = sekundäre akute myeloische Leukämie

Patienten mit einem Niedrigrisiko-Profil werden typischerweise mit unterstützenden Therapiemaßnahmen (*Supportive care*) und Pharmakotherapien niedriger Intensität behandelt. Hierzu zählen Transfusionen im Falle schwerer Anämien und Thrombozytopenien, der Antibiotikaeinsatz im Falle eines Infektionsverdachtes, die Applikation von Erythrozytenstimulierenden Agentien (ESAs; z.B. Epoetin oder Darbepoetin) bei einem Erythropoetin-Spiegel unter 500 IE/L und der Einsatz des immunmodulatorischen Arzneistoffs Lenalidomid bei Patienten mit dem zytogenetischen Nachweis einer Deletion im langen Arm des Chromosoms 5. (20,21,97–100) Darüber hinaus kann in der MDS-Subgruppe mit hypozellulärem Knochenmark eine immunsuppressive Therapie (Anti-T-Zell Antikörper: z.B. Anti-Thymozyten Globulin und Alemtuzumab; Cyclosporin A) helfen, den Transfusionsbedarf zu senken, jedoch ist das Ansprechen auf eine solche Therapie bislang schwer vorherzusagen. (21,101)

MDS-Patienten mit einem Hochrisiko-Profil werden in der Regel in repetitiven Zyklen mit einem DNA-Methyltransferase Inhibitor (Hypomethylierenden Agentien, HMA) Azacitidine oder Decitabine behandelt (AZA, DAC). Azacitidine ist bislang der einzige Arzneistoff, der bei MDS-Patienten mit einem Hochrisiko-Profil das Gesamtüberleben verbessert im Vergleich zu alleinigen unterstützenden Therapiemaßnahmen. Wenn der Gesundheitszustand es zulässt und ein passender Spender zur

Verfügung stehen sollten MDS-Patienten mit einem Hochrisiko-Profil baldmöglichst allogene Stammzelltransplantiert werden. (21,102–104)

Eine intensive Induktionschemotherapie, wie sie üblicherweise bei der AML angewendet wird, wird in MDS-Patienten nur noch zwecks Zytoreduktion vor einer allogenen Blutstammzelltransplantation eingesetzt und auch nur wenn das Alter und der Gesundheitszustand dies erlauben. (105) Derzeit wird die Effektivität einiger neuer Substanzen in der MDS-Therapie untersucht, unter anderem von Antikörpern gegen den PD-1/PDL-1-Signalweg, die die Immuntoleranz gegenüber neoplastischen MDS-Zellen aufheben sollen (*Programmed Death 1* auf aktivierten B- und T-Zellen/ *Programmed Death Ligand 1* auf Tumor-Zellen). (21,106–109)

In Abhängigkeit von dem jeweiligen Risikoprofil kann das mediane Überleben von MDS-Patienten zwischen wenigen Monaten und mehreren Jahren variieren. Durch die Therapie mit dem immunmodulatorischen Arzneistoff Lenalidomide erreichen Niedrigrisiko MDS-Patienten mit einer del(5q) zu 76 % eine Transfusionsunabhängigkeit und zu 45 % eine zytogenetische Remission. (110,111) Auf eine Therapie mit hypomethylierenden Agentien (Azacitidine, Decitabine) sprechen insgesamt 40-60 % der MDS-Patienten an, 10-20 % erreichen eine komplette Remission, die im Median 12-14 Monate anhält. (102,112,113) Für Hochrisiko-MDS Patienten mit einer Azacitidine-Therapie liegt das mediane Gesamtüberleben bei etwa 2 Jahren. (102) MDS-Patienten mit einem Hochrisiko-Profil, die nicht auf Azacitidine oder Decitabine ansprechen, hingegen, leben im Median weniger als 6 Monate. (114)

Die typische chronische myeloische Leukämie, die sich durch den Nachweis eines Philadelphia-Chromosoms auszeichnet (CML-Ph+), nimmt aus therapeutischer und prognostischer Sicht eine Sonderrolle unter den myeloproliferativen Neoplasien (MPN) ein. (32) Die Therapie der CML richtet sich nach dem Krankheitsstadium (Chronische Phase vs. akzelerierte Phase und Blastenkrise). Alle Patienten, bei denen die CML in der chronischen Krankheitsphase diagnostiziert wird, werden zielgerichtet mit einem Tyrosinkinase-Inhibitor (TKI) behandelt. (73,74,115,116) Mittlerweile existieren drei Generationen von Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKIs). Imatinib mesylate (Glivec) war der erste Tyrosinkinase-Inhibitor mit einer Zulassung für die Therapie der CML in chronischer Phase (CML-CP). (117,118) Tyrosinkinase-Inhibitoren der zweiten Generation sind Dasatinib (119–122), Nilotinib (123–126) und Bosutinib (127–129). In Patienten, die auf eine Therapie mit Imatinib nicht ausreichend oder gar nicht ansprechen, können TKIs der zweiten Generation dennoch ein hämatologisches und zytogenetisches Therapie-Ansprechen induzieren. Ponatinib ist derweilen der einzige Tyrosinkinase-Inhibitor, der bei Patienten mit der TKI-Resistenz vermittelnden „gatekeeper“ Mutation (T315I-Mutation der Kinase Domäne der BCR-ABL) ein Therapieansprechen erzielen kann. Ponatinib wird daher als Drittgeneration-Tyrosinkinaseinhibitor bezeichnet. (130–134)

Aktuell werden Imatinib, Dasatinib und Nilotinib als Erstlinientherapie der CML-CP empfohlen. Bosutinib und Ponatinib stehen als Zweitlinientherapie zur Verfügung. Das Ansprechen auf die Tyrosinkinase-Inhibitoren wird 3, 6 und 12 Monate nach Therapiebeginn evaluiert (Molekulargenetisches Ziel: BCR-ABL1^{IS} ≤ 10% nach 3 Monaten, ≤ 1% nach 6 Monaten, ≤ 0,1% nach 12 Monaten). (115,135)

Bei CML-CP Patienten, die auf die Therapie mit zwei verschiedenen TKIs nicht ansprechen, sowie CML-CP Patienten mit der T315I Mutation, die auf eine Therapie mit Ponatinib nicht ansprechen, sollte eine allogene Stammzelltransplantation in Erwägung gezogen werden. (136)

CML-Patienten in der akzelerierten Phase oder mit einer Blastenkrise werden, wenn möglich, frühzeitig allogene Stammzelltransplantiert. Tyrosinkinase-Inhibitoren der zweiten und dritten Generation werden alleine (akzelerierte Phase) oder in Kombination mit einer Chemotherapie (Blastenkrise) vor der Transplantation appliziert, um die Krankheitslast zu senken und ein Zeitfenster für die Spendersuche zu schaffen. (137,138)

Die Prognose von CML-Patienten hat sich seit der Einführung der TKIs erheblich verbessert. Die 10 Jahres Gesamtüberlebensrate von CML-Patienten ist in weniger als 10 Jahren von ursprünglich etwa 20 % auf 80-90 % angestiegen. (73,139,140) Die Progressionsrate von der chronischen Phase in die akzelerierte Phase oder die Blastenkrise hat sich durch die TKIs von ursprünglich 20 % pro Jahr auf etwa 1-1,5 % pro Jahr verringert. (141–143) Durch eine Imatinib-Erstlinientherapie in der chronischen Phase der CML wird eine *major molecular response* (MMR; BCR-ABL1 ≤ 0,1 %) nach 12 Monaten bei etwa 66 % der Patienten erreicht und nach 6 Jahren bei etwa 85 % der Patienten. Die geschätzte Gesamtüberlebensrate liegt nach 6 Jahren bei etwa 89 % unter Imatinib-Erstlinientherapie und die geschätzte Rate leukämieassoziierter Todesfälle bei nur 5 %. (144)

Das mediane Gesamtüberleben von Patienten mit einer CML in der chronischen Phase wird auf 25-30 Jahre geschätzt. Das mediane Überleben nach der Diagnose einer Blastenkrise, hingegen, beträgt aktuell etwa 7-11 Monate im Vergleich zu 3-4 Monaten, als noch keine TKI-Therapie zur Verfügung stand. (141–143)

Im Allgemeinen können die myeloischen Stammzellneoplasien in ihren frühen Krankheitsphasen und im Falle günstiger zytogenetischer Befunde oftmals durch eine Chemotherapie und/oder eine spezifische Arzneimitteltherapie erfolgreich behandelt werden. Anders sieht es bei Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Neoplasien aus.

1.2 Die Problematik der Hochrisiko-Erkrankung

Myeloische Hochrisiko-Neoplasien zeichnen sich durch ein oder mehrere Charakteristika, die mit einer sehr hohen Mortalität assoziiert sind, aus. Ein solches Charakteristikum ist der Nachweis eines ungünstigen zytogenetischen und/oder molekulargenetischen Markers. Patienten mit ungünstigen zytogenetischen und/oder molekulargenetischen Abnormalitäten haben sowohl ein erhöhtes Risiko auf eine konventionelle Induktionstherapie nicht anzusprechen, als auch ein erhöhtes Risiko nach erfolgreicher Induktionstherapie ein Rezidiv zu entwickeln. (6,13,145–149)

AML-Patienten, die nach zytogenetischen und molekulargenetischen Gesichtspunkten in die ungünstige Risikogruppe der *European LeukemiaNET Genetic Prognostic Risk Groups* fallen, entwickeln beispielweise mit einer 70-90%-igen Wahrscheinlichkeit ein Rezidiv nach konventioneller Chemotherapie. (82,150) Weniger als 20 % der AML-Patienten mit einem ungünstigen Karyotyp leben 5 Jahre nach der Erstdiagnose noch. (6,145–147)

Für MDS-Patienten, die gemäß dem IPSS-R in die schlechte und sehr schlechte zytogenetische Risikogruppe fallen, beträgt das geschätzte mediane Gesamtüberleben etwa 18 und 8 Monate. (93) Auch CML-Patienten, bei denen kein Philadelphia Chromosom $t(9;22)(q34;q11)$ und/oder kein BCR-ABL Fusionsgen nachgewiesen werden kann, haben eine sehr schlechte Prognose (sogenannte atypische CML, aCML). Das geschätzte mediane Gesamtüberleben für Patienten mit einer aCML liegt bei etwa 12 Monaten und das geschätzte mediane Überleben ohne eine sAML zu entwickeln bei nur 11 Monaten (sog. progressionsfreies Überleben). (39) Unter den Philadelphia Chromosom-positiven CML-Patienten ist der Nachweis der BCR-ABL T315I Mutation mit einer sehr schlechten Prognose assoziiert, da sie eine Resistenz der CML gegenüber den gängigen Tyrosinkinase-Inhibitoren der ersten und zweiten Generation vermittelt (Imatinib, Dasatinib, Nilotinib, Bosutinib). Je nachdem wann die BCR-ABL T315I Mutation im Krankheitsverlauf der CML nachgewiesen wird, erreichen die Patienten ein medianes Überleben von 22 Monaten (Nachweis in der chronischen/ akzelerierten Phase), 28 Monaten (Nachweis in der akzelerierten Phase) oder 4 Monaten (Nachweis in der Blastenphase). Das entsprechende progressionsfreie Überleben liegt bei nur 12 Monaten (Nachweis in der chronischen Phase), 22 Monaten (Nachweis in der akzelerierten Phase) und 2 Monaten (Nachweis in der Blastenkrise). (151)

Zwei weitere Charakteristika der myeloischen Hochrisiko-Erkrankung sind erstens, ein verzögertes oder fehlendes Ansprechen auf die Induktionstherapie und zweitens, ein Rezidiv im Verlauf nach der initialen Therapie. Aus pathogenetischer Sicht stehen beide Charakteristika oft mit einem ungünstigen zytogenetischen und/oder molekulargenetischen Befund in Zusammenhang. (105,147,152–154) Jedoch können auch Patienten mit initial günstigen oder intermediären zytogenetischem/molekulargenetischem Risikoprofil, im weiteren Verlauf ein Induktionsversagen,

eine refraktäre Erkrankung und/oder ein Rezidiv entwickeln und somit unter einer Hochrisiko-Erkrankung leiden. (155)

Von einem primären Induktionsversagen wird gesprochen, wenn nach dem ersten Induktionszyklus an Tag +15 weiterhin mehr als 15 % Blasten im Knochenmark nachgewiesen werden oder die Knochenmarksuntersuchung zwischen Tag +21 und Tag +35 keine komplette/partielle Remission zeigt (Zu Englisch *Primary Induction Failure*; PIF). (85,156,157) Patienten, die nach zwei Zyklen einer intensiven Induktionstherapie keine komplette Remission erreichen, werden als primär refraktär bezeichnet (sog. primär refraktäre Erkrankung; Zu Englisch *Primary Refractory Disease*; RD). (84,158) Unter Patienten mit neudiagnostizierter De Novo AML finden sich etwa 10-40 % primär refraktäre Erkrankungen. (159) Weniger als 5 % der Patienten, die keine komplette Remission nach der initialen oder den darauffolgenden *salvage* Chemotherapien erreichen, sind nach 3 Jahren noch am Leben. (160)

MDS-Patienten der IPSS-Risikogruppen INT-2 und *high-risk*, sowie ehemals MDS-Patienten mit einer sekundären AML, erreichen nur zu 40-60 % eine komplette Remission nach einer intensiven Chemotherapie und die Dauer der Remission beträgt in der Regel weniger als 12 Monate. (105,161–165) Drei Jahre nach einer intensiven Chemotherapie sind weniger als 5 % der Hochrisiko-MDS Patienten noch am Leben. (166)

Auch durch die Therapie mit hypomethylierenden Agentien gelingt es nur selten, eine komplette Remission zu induzieren. Unter einer Therapie mit Azacitidine beispielweise, erreichen nur etwa 17 % der Hochrisiko-MDS Patienten eine komplette Remission. Jedoch können die Hochrisiko-MDS Patienten unter Azacitidine-Behandlung ein längeres Gesamtüberleben und eine niedrigere Rate an Transformationen in eine sAML erzielen im Vergleich zu konventionellen Therapiemöglichkeiten (Medianes OS: 24 Monate vs. 15 Monate; Mediane Zeit bis sAML: 26 Monate vs. 12 Monate). (102,164)

Im Hinblick auf Therapieansätze mit einer intensiven Chemotherapie kann die Definition der refraktären Erkrankung bei AML-Patienten, auch für MDS-Patienten problemlos angewandt werden. Werden Hochrisiko-MDS jedoch mit hypomethylierenden Agentien, Lenalidomide, Stimulantien der Erythropoese oder alternativen Substanzen behandelt, muss aufgrund des oft sehr langsamen Ansprechens eine andere Definition angewandt werden. (110,167,168) Hier gilt ein MDS als refraktär, wenn nach einer Therapiedauer von 4-6 Monaten bzw. nach etwa 6 Therapiezyklen die Blasten im Knochenmark nicht vermindert sind und das periphere Blutbild keine Besserung erkennen lässt. (164,169) Bei Patienten mit BCR-ABL-positiver CML kann man eine Resistenz gegenüber dem Tyrosinkinase-Inhibitor (TKI) Imatinib (IM), einer refraktären Erkrankung gleichsetzen. Etwa 20-50 % der BCR-ABL1-positiven CML-Patienten, die als Ersttherapie Imatinib erhalten, entwickeln eine

Resistenz gegenüber dem Wirkstoff. Das mediane Überleben von Patienten mit einer Imatinib-refraktären CML liegt bei nur 3 Monaten. (170,171)

Auch für Patienten, die nach initialem Erreichen einer kompletten Remission ein Rezidiv erleiden, ist die Prognose ernst. (172–176) Im Durchschnitt erreichen weniger als 50 % der rezidierten AML-Patienten durch eine erneute Induktion, eine sogenannte *salvage* Chemotherapie, eine zweite komplette Remission. Eine Kuration der rezidierten AML ist, nach dem aktuellen Stand der Wissenschaft, durch eine alleinige Chemotherapie nicht möglich. Das mediane Überleben nach einer *salvage* Chemotherapie liegt bei 3-12 Monaten und die 3-Jahres-Überlebensraten werden auf 8-29 % geschätzt. (159,173) Eine besonders schlechte Prognose weisen Patienten mit einem Frührezidiv, einem Rezidiv innerhalb der ersten 6 Monate nach dem Erreichen der ersten CR, auf. Für AML-Patienten mit einem Frührezidiv betragen die Reinduktionsraten etwa 10 %, im Vergleich zu mehr als 50 % für AML-Patienten, deren erste komplette Remission > 18–24 Monate andauert hat. (153,172,174,177,178)

Myeloischen Stammzellerkrankungen mit den Charakteristika ungünstige Zyto- und/oder Molekulargenetik, refraktäre Erkrankung und rezidierte Erkrankung, werden unter dem Begriff Hochrisiko-Neoplasie zusammengefasst. Für Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Neoplasien stellt die allogene Blutstammzelltransplantation die einzige Chance dar, eine langanhaltende Krankheitsfreiheit und im besten Falle eine Kuration zu erreichen (AML (179–184); MDS (185–190); MPN (77,191)).

1.3 Die allogene Blutstammzelltransplantation

Die allogene Blutstammzelltransplantation (BSZT) ist heutzutage ein fester Bestandteil in der Therapie hämatologischer Neoplasien und nichtmaligner Stammzelldefekte. In den vergangenen 50 Jahren hat sich die Stammzelltransplantation von einem experimentellen Therapieansatz zu einem Standard-Verfahren gewandelt. Dank zahlreicher Fortschritte auf den Gebieten der Transplantationsimmunologie, der Stammzellbiologie und im Bereich der immunsuppressiven und supportiven Therapien weitet sich das Indikationsgebiet für die BSZT stetig aus. Die ehemals starren Anwendungsgrenzen, definiert beispielsweise über das Alter, verschieben sich derzeit. Im Hinblick auf die große Gruppe der myeloischen Stammzellneoplasien hat sich die BSZT insbesondere bei der Therapie von Hochrisiko-Erkrankungen bewährt. (150,192,193)

1.3.1 Grundlagen

Das Therapieprinzip der BSZT beruht auf dem Austausch bzw. dem Ersatz des erkrankten hämatopoietischen Systems durch ein gesundes. Das gesunde hämatopetische System bildet sich aus den hämatopoietischen Stammzellen eines gesunden Spenders. Für eine erfolgreiche Transplantation spielt in diesem Zusammenhang die Oberflächenstruktur der transfundierten Stammzellen, die *Human Leukocyte Antigen* (HLA)-Merkmale, eine bedeutende Rolle. Humane Leukozyten (HL)-Antigene, auch Histo-Kompatibilitäts- oder Gewebeverträglichkeits-Antigene genannt, sind Glykoproteine, die auf den Zelloberflächen exprimiert der Unterscheidung zwischen körpereigen und körperfremd durch das Immunsystem dienen. Jedes Individuum, eineiige Zwillinge ausgenommen, unterscheiden sich in der spezifischen Ausprägung dieser HL-Antigene voneinander. Im Hinblick auf die Transplantation körperfremder Stammzellen ist eine größtmögliche Übereinstimmungen der HL-Antigene von Spender und Empfänger wünschenswert. Denn je ähnlicher die HLA-Merkmale von Spender und Empfänger, desto geringer ist die Gefahr, dass die transplantierten Zellen vom Empfängerorganismus abgestoßen werden (sog. Transplantatversagen, *Graft Failure*) und umso seltener treten immunvermittelte Erkrankungen durch die Spenderzellen auf (sog. Spender-gegen-Empfänger Erkrankung, *Graft-versus-Host Disease*, GVHD). Die Wahrscheinlichkeit einen in den HLA-Merkmalen identischen Spender zu finden ist bei bei Geschwistern am größten. Die Chance, dass ein Geschwister HLA-identisch zum Patienten ist beträgt 25 %. Steht kein geeigneter Familienspender zur Verfügung, stellt aktuell die Transplantation mit einem HLA-passenden Fremdspender die bestmögliche Alternative dar (*HLA-matched Unrelated Donor*, MURD). (194)

Anfängliche Unterschiede im Transplantationsergebnis von Patienten mit HLA-identischen Familienspendern einerseits und von Patienten mit HLA-passenden Fremdspendern andererseits findet man mittlerweile nicht mehr. Generell haben Patienten mit einer Fremdspender-Transplantation ein höheres Risiko eine *Graft-versus-Host Disease* zu entwickeln und in Folge dieser Komplikation eine erhöhte therapieassoziierte Morbidität und Mortalität. Andererseits könnten Fremdspender-Transplantationen bei Patienten mit Hochrisiko-Erkrankungen von Vorteil sein, da aufgrund von minimalen Unterschieden in den HLA-Merkmalen auch eine verstärkte Reaktivität des transplantierten Immunsystems gegenüber residuellen Leukämiezellen beobachtet wird (sog. Spender-gegen-Leukämie Effekt, *Graft-versus-Leukemia Effect*, GVL). (195–200) Der GVL-Effekt im Verlauf nach der Transplantation ist zusammen mit einer Chemo-/Strahlentherapie vor der Transplantation von entscheidender Bedeutung für die Elimination der neoplastischen Zellen und somit für die Prävention eines Krankheitsrückfalls (Rezdiv). (201,202)

Die Hochdosistherapie vor der BSZT wird Konditionierung genannt. Neben der Reduktion oder bestenfalls Elimination der neoplastischen Zellen, schafft die Konditionierung im

Empfängerorganismus die Voraussetzungen für ein erfolgreiches Anwachsen der transplantierten Stammzellen (sog. *Engraftment*), indem sie zum Einen immunsuppressiv wirkt und zum Anderen das Knochenmark des Empfängers irreversibel zerstört (Myeloablation). Die transplantierten Stammzellen können entweder dem Knochenmark (KM) oder dem peripheren Blut entstammen (sog. periphere Blutsstammzellen, PBSZ). Bei der Knochenmarktransplantation werden die Stammzellen durch eine Knochenmarkpunktion gewonnen. Bei der Transplantation peripherer Blutsstammzellen werden sie mit Hilfe eines Zellseparators aus der peripheren Blutbahn des Spenders durch Zentrifugation isoliert. Zuvor wird das Knochenmark mit einem Granulozyten-Kolonie-stimulierenden Faktor (*Granulocyte-Colony-Stimulating Factor*, G-CSF) zur Proliferation angeregt. Im Vergleich zur Knochenmarktransplantation werden nach der Transplantation mit PBSZ eine schnellere hämatopoietische Rekonstitution und seltener infektiologische Komplikationen beobachtet. Auch wegen der schnelleren und einfacheren Entnahme peripherer Blutsstammzellen ohne eine Vollnarkose beim Spender, der Möglichkeit größere Stammzellzahlen zu gewinnen und der höheren Anzahl immunologisch aktiver Zellen im Transplantat, ist die Transplantation PBSZ seit nun mehr als 10 Jahren die Methode der ersten Wahl bei der Transplantation von Patienten mit malignen hämatologischen Erkrankungen. (194,203–205)

Durch die Konditionierungstherapie wird das Immunsystem der Patienten vollständig ausgeschaltet mit der Folge einer Knochenmarkaplasie. In dieser Phase wachsen die Stammzellen des Spenders im Knochenmark des Patienten an und generieren ein neues, gesundes hämatopoietisches und Immunsystem. Als Zeichen einer erfolgreichen BSZT zeigen sich nach etwa 3 Wochen eine vollständige Regeneration der Hämatopoiese, sowie ein krankheitsfreies Knochenmark und Blutbild (sog. komplette Remission, *Complete Remission*, CR). Die vollständige Regeneration des Immunsystems kann jedoch bis zu einem Jahr, manchmal auch länger dauern.

Damit das neue, körperfremde Immunsystem eine Toleranz gegenüber dem Empfängerorganismus aufbauen kann, wird es zunächst aktiv medikamentös supprimiert. Diese Immunsuppression wird schrittweise reduziert und kann in der Regel zwischen Tag 100 und Tag 200 nach der allogenen BSZT vollständig abgesetzt werden. (75,206)

1.3.2 Komplikationen

Die allogene Blutsstammzelltransplantation bietet für Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Neoplasien die Aussicht auf eine Kuration oder zumindest auf eine deutliche Verlängerung des Überlebens. Jedoch ist dieses Therapieverfahren auch mit dem Risiko potentiell tödlicher Komplikationen verbunden. In Abhängigkeit von dem Zeitpunkt des Auftretens, werden frühe Komplikationen (bis zu 3 Monate nach BSZT), verzögerte Komplikationen (zwischen 3 Monaten und 2 Jahren), späte (zwischen 2 Jahren und 10 Jahren) und sehr späte Komplikationen unterschieden (> 10

Jahre). Zu den frühen, akuten Komplikationen zählen die Mukositis, die Lebervenenverschluss-Krankheit (*Veno-Occlusive Disease*, VOD) und das Transplantatversagen (*Graft Failure*). Infektologische Komplikationen, eine GVHD und ein Rezidiv können sowohl frühzeitig als auch spät nach einer BSZT auftreten. Bei den sehr späten Komplikationen handelt es sich um Organschäden oder sekundäre Malignome, die aus der Zytotoxizität der Konditionierung und etwaiger Vortherapien resultieren können.

Ein *Graft Failure* ist eine ernste, frühe Komplikation nach allogener Blutstammzelltransplantation und resultiert oftmals aus einer unzureichenden Unterdrückung des Empfänger-Immunsystems. Je nach immunsuppressivem Potential des Therapie-Regimes beträgt die Rate an Transplantatversagern zwischen 1 und 30 %. Darüber hinaus können Unterschiede in den HL-Antigenen zwischen Spender und Patient, eine hohe Krankheitslast zum Zeitpunkt der Transplantation, sowie Störungen im Knochenmarkmikroenvironment durch Virusinfekte, einen *Graft Failure* begünstigen. (75,207–209)

In der frühen Phase der Knochenmarkaplasie, sowie im weiteren Posttransplantationsverlauf erkranken viele Patienten an zum Teil lebensbedrohlichen Infektionen (z.B. Pilze: Aspergillus; Bakterien: *Pneumocystis jirovecii/carinii*; Viren: Cytomegalievirus, Varizella Zoster Virus, Herpes Zoster Virus). (75,193,208) Infektionen sind für etwa 14-17 % der Todesfälle nach einer allogenen BSZT verantwortlich. (210) Das Risiko In Folge von Infektionen zu versterben unterscheidet sich jedoch deutlich zwischen jungen und alten, sowie körperlich gesunden und komorbiden Patienten. (59)

Eine häufige Komplikation nach allogener BSZT ist die GVHD, die nicht nur die Lebensqualität nach einer BSZT einschränken, sondern auch durch direkte Organschäden oder in Folge einer verstärkten immunsuppressiven Therapie zum Tode führen kann. (193,211–214) Auf dem Boden von Unterschieden in den HLA-Merkmalen von Spender und Empfänger, greifen die Immunzellen des Spenders den Körper des Empfängers an. Schäden der Haut/ Schleimhaut, des Darms, der Leber und in selten Fällen auch der Lunge sind die Folge. In Abhängigkeit von der Geschwindigkeit des Auftretens und dem Verlauf der GVHD, wird zwischen einer akuten und einer chronischen Form unterschieden (aGVHD, cGVHD). Anhand der Symptome und der Dysfunktion der einzelnen betroffenen Organe können die akute und die chronische GVHD in verschiedene Schweregrade gegliedert werden. (215–217) Generell haben Patienten, die mit einem Fremdspender oder einem HLA-*mismatch* Spender transplantiert werden, ein höheres Risiko im Verlauf nach der Transplantation eine GVHD zu entwickeln als vergleichsweise Patienten mit einem HLA-identischen Familienspender. (198,199,210,218,219) Bis heute ist die GVHD mit einer sehr hohen Mortalität und Morbidität assoziiert. Etwa 17-20 % der Todesfälle nach einer allogenen BSZT sind auf eine GVHD zurückzuführen. (210). Andererseits ist die immunvermittelte Leukämieabwehr stärker ausgeprägt, wenn gleichzeitig eine GVHD beobachtet wird, weil GVL- und GvH-Reaktionen dem gleichen

immunologischen Mechanismus unterliegen. Bei Patienten mit einem hohen Rezidivrisiko könnte daher eine milde Form der GVHD toleriert werden, wenn so ein Krankheitsrückfall nach allogener BSZT verhindert werden kann. (220–222)

Der Krankheitsrückfall ist, insbesondere bei Patienten mit Hochrisikoerkrankung, auch heute noch die häufigste Komplikation nach einer allogenen BSZT. Etwa 37-48 % der Todesfälle nach einer allogenen BSZT sind auf ein Rezidiv der Grunderkrankung zurückzuführen. (210)

1.3.3 Prognosefaktoren

Prognosefaktoren, die den Erfolg einer allogenen BSZT kennzeichnen, können in zeitabhängige, patientenabhängige, spender- bzw. transplantatabhängige, krankheitsspezifische und therapieassoziierte Faktoren unterteilt werden. Darüber hinaus können Faktoren, die erst im Verlauf nach der Transplantation beobachtet werden, Einfluss auf das Transplantationsergebnis nehmen. Hierzu zählen die Geschwindigkeit der hämatologischen und immunologischen Rekonstitution, die Befunde zum Spenderchimärismus, sowie das Auftreten einer GVHD im Verlauf nach der Transplantation.

Bekannte patientenabhängige Prognosefaktoren sind das Alter, die Komorbidität und die Leistungsfähigkeit zum Zeitpunkt der BSZT. (223–226)

Im Hinblick auf die spenderabhängigen Faktoren ist die HLA-Kompatibilität zwischen Spender und Empfänger von größter Bedeutung für den Erfolg einer BSZT. Patienten mit einem HLA-*mismatched* Spender zeigen ein spätes *Engraftment* und haben ein erhöhtes Risiko eine schwere GVHD im Verlauf nach der Transplantation zu entwickeln. Dem zu Folge liegt die therapieassoziierte Mortalität nach HLA-*mismatched* Transplantationen höher als nach HLA-*matched* Transplantationen. (200,227–232)

Neben der HLA-Kompatibilität scheint neuerdings auch das Alter des Spenders für das Transplantationsergebnis von Bedeutung zu sein. (233,234)

Unter den therapieassoziierten Prognosefaktoren werden die Art und Intensität des Konditionierungs-Regimes, sowie der Einsatz spezifischer Medikamente und deren Dosierung zusammengefasst. Alle Modalitäten der Therapie im Rahmen der allogenen BSZT können potentiell einen Einfluss auf das Transplantationsergebnis haben. Im Allgemeinen ist bekannt, dass Patienten nach einer Konditionierung reduzierter Intensität häufiger ein Rezidiv nach BSZT entwickeln, während Patienten nach standard-dosierten myeloablativen Konditionierungen häufiger therapieassoziierte Komplikationen erleiden. (235–237)

Bei den krankheitsspezifischen Prognosefaktoren handelt es sich um Charakteristika der Stammzellerkrankung. Sie zählen zu den bedeutendsten und am besten untersuchten Prognosefaktoren für den Erfolg einer allogenen BSZT. Folgende krankheitsspezifische Prognosefaktoren haben einen negativen Einfluss auf das Transplantationsergebnis: Der Nachweis

ungünstiger zytogenetischer und/oder molekulargenetischer Abnormalitäten, ein fehlendes Ansprechen auf eine Induktionstherapie bzw. eine Zytostatikaresistenz und die Krankheitslast zum Zeitpunkt der allogenen Stammzelltransplantation. Alle drei Faktoren prädisponieren für ein Rezidiv und einen rezidivassoziierten Tod im Verlauf nach der Transplantation. (82,160,182,183,236,238–240)

1.4 Die Prognose nach allogener Blutstammzelltransplantation

Das *Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR)* stellt statistische Daten über die Prognose von Patienten nach einer allogenen BSZT zur Verfügung. Die folgenden Angaben beziehen sich auf Patientenpopulationen, die in der westlichen Welt zwischen 2003 und 2013 allogene blutstammzelltransplantiert wurden. (210)

Myeloische Stammzellneoplasien sind mit 53 % die häufigste Indikation für eine allogene BSZT.

Das Gesamtüberleben von AML-Patienten nach einer allogenen BSZT variiert in Abhängigkeit von dem Therapieansprechen und Krankheitsfortschritt zum Zeitpunkt der Transplantation: Die geschätzte 3-Jahres Gesamtüberlebensrate beträgt 50-59 % für Patienten mit einer ersten kompletten Remission (CR1), 47-51 % für Patienten mit einer zweiten oder darauffolgenden Remission (\geq CR2) und 24-27 % für Patienten mit einer fortgeschrittenen Erkrankung (Primäres Induktionsversagen, PIF; Aktive Erkrankung, AD) zum Zeitpunkt der Transplantation.

MDS-Patienten, die sich zum Zeitpunkt der Transplantation in einer frühen Krankheitsphase befinden (RA und RARS), leben mit einer 44-53 % Wahrscheinlichkeit 3 Jahre nach der allogenen Stammzelltransplantation. Für MDS-Patienten in einer fortgeschrittenen Krankheitsphase (RAEB, CMML), liegt die 3-Jahres-Gesamtüberlebensrate bei 39-49 %.

Für CML-Patienten, die aufgrund einer TKI-Intoleranz oder Resistenz allogene stammzelltransplantiert werden, hängt das Transplantationsergebnis von der Krankheitsphase der CML ab. Die geschätzte 3-Jahres-Gesamtüberlebensrate beträgt etwa 68 %, 53 % und 24 %, jeweils für Patienten mit einer allogenen Stammzelltransplantation von HLA-matched Familienspendern in der ersten chronischen Phase (CP), der akzelerierten Phase (AP)/der zweiten oder darauffolgenden CP und der Blastenkrise (BK).

Unter den Patienten mit myeloproliferativen Erkrankungen, die allogene stammzelltransplantiert werden, leben etwa 51-56 % der Patienten mit Myelofibrose (MF) und 43-50 % der Patienten mit anderen myeloproliferativen Erkrankungen 3 Jahre nach der Transplantation.

In Abhängigkeit von dem individuellen Risikoprofil und dem Zeitpunkt der Transplantation erreichen etwa 20-50 % der AML-Patienten, 30-50 % der Patienten mit MDS, 20-60 % der Patienten mit CML

und 40-50 % der Patienten mit MPN ein Langzeitüberleben von 6 Jahren nach einer allogenen BSZT. (210)

Patienten, die 5 Jahre nach einer BSZT ohne eine Rückkehr der Grunderkrankung noch am Leben sind, haben sehr gute Chancen auch die darauffolgenden 15 Jahre krankheitsfrei zu leben. (241)

Um die Prognose nach einer allogenen BSZT zu verbessern, werden neue Medikamente mit spezifischen Genveränderungen als Angriffspunkt (*Targeted Therapy*) erprobt und neue Transplantationsstrategien ins Leben gerufen. (242)

1.5 Neue Transplantations-Strategien

Für Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Neoplasien stellt die allogene BSZT die einzige Chance auf eine Kuration dar. Leider ist die allogene BSZT mit potentiell tödlichen Komplikationen assoziiert und selbst nach einer Transplantation besteht das Risiko einer Rückkehr der Hochrisikoerkrankung. In den vergangenen Jahren wurden neue Transplantationsstrategien ins Leben gerufen, um einerseits mehr Hochrisiko-Patienten den Zugang zu einer Transplantation zu ermöglichen, und andererseits, um das Überleben der Patienten nach einer allogenen BSZT weiter zu verbessern. Strategien, die vielen Patienten erstmals eine allogene Stammzelltransplantation ermöglichten, sind einerseits die Reduktion der Konditionierungsintensität und andererseits die Nutzung alternativer Stammzellquellen in Kombination mit einer in-vivo T Zell Depletion zwecks GVHD-Prophylaxe. Neue Strategien, die auf eine Verbesserung des Transplantationsergebnis abzielen sind die allogene Stammzelltransplantation als Erstlinientherapie, die frühe allogene Stammzelltransplantation während der Phase der Aplasie, sowie die Infusion von Donor Lymphoyten (DLIs) und der Einsatz adoptiver Zelltherapie im Verlauf nach der Transplantation.

1.5.1 Konditionierungen reduzierter Intensität

Durch die hohe Toxizität der Hochdosistherapie vor der BSZT, war älteren Patienten und Patienten mit relevanten Komorbiditäten lange Zeit die Therapieoption der allogenen Blutstammzelltransplantation verwehrt. Seit der Einführung von Therapie-Regimen niedriger und minimaler Intensität (*Reduced-Intensity Conditioning*, RIC und *Minimal-Intensity Conditioning*, MIC), stellt das Alter, und zu einem gewissen Grad auch die Komorbidität des Patienten, kein Hindernis für eine Transplantation mehr dar. (224,235,243–245) Da myeloische Stammzellerkrankungen vorwiegend bei älteren Patienten diagnostiziert werden, eröffneten die RIC und MIC für viele Patienten eine neue, potentiell kurative Therapieoption. Dies spiegelt sich auch in der Statistik wider. Zwischen 2003 und 2012 sind die Transplantationen nach RIC stetig angestiegen. Im Jahr 2013

wurden 40 % aller allogenen BSZT nach einer Konditionierung reduzierter Intensität durchgeführt. (210)

Im Unterschied zu den standard-dosierten myeloablativen Konditionierungen, bewirken intensitätsreduzierte Konditionierungen oder nonmyeloablative Konditionierungen vorwiegend eine Immunsuppression des Patientenorganismus, um das Anwachsen der Spenderzellen zu gewährleisten.

Die antileukämische Wirkung der allogenen BSZT nach einer intensitätsreduzierten Konditionierung oder nonmyeloablativen Konditionierung, wird hauptsächlich über den GVL-Effekt vermittelt. Die Rezidivwahrscheinlichkeit von Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Neoplasien ist dementsprechend nach RIC und MIC höher als nach MAC. (246–248) Ein großes Feld der immunologischen Forschung beschäftigt sich daher intensiv damit, den immunvermittelten GVL-Effekt weiter zu verstärken und somit die Rezidivwahrscheinlichkeit nach einer allogenen BSZT, insbesondere nach RIC und MIC, zu senken. (249–251)

1.5.2 Alternative Stammzellquellen und die GVHD- Prophylaxe mit Anti-T-Lymphozyten Immunglobulin

Neben der Toxizität des Therapie-Regimes stellt die Verfügbarkeit eines geeigneten Spenders wohl den limitierenden Faktor bei der Entscheidung für/oder gegen ein allogene BSZT dar. Nur etwa 30 % der Patienten haben einen HLA-identischen Familienspender (*Matched Related Donor*, MRD). (252) Für die übrigen 70 % der Patienten wird in großen Spender-Registern (253) ein HLA-identischer Fremdspender gesucht. Da die genetische Diversität in der westlichen Welt stetig zunimmt, wird es jedoch zusehends schwieriger für jeden Patienten einen passenden Fremdspender (*Matched Unrelated Donor*, MUD) zu finden. Vor diesem Hintergrund werden aktuell alternative Stammzellquellen erprobt: Die Transplantation mit einem nur partiell passenden Fremdspender (*Partially HLA-mismatched Unrelated Donor*, MMURD), die Transplantation mit einem haploidentischen Familienspender (*Haploidentical Related Donor*, HRD) und die Transplantation von Nabelschnurblut eines nicht-verwandten Neugeborenen (NB) stellen Alternativen zu einer Transplantation mit HLA-identischen Familienspendern oder passenden Fremdspondern dar. Bei nur partiell passendem Fremdspender handelt es sich um erwachsene Fremdsponder, die in mindestens einem Antigen oder Allel der HLA-A, -B, -C oder -DR nicht mit dem Empfänger übereinstimmen. Haploidentische Familienspender sind Familienmitglieder, die per Definition nur in der Hälfte der HLAs mit dem Patienten übereinstimmen (meistens 3 von 6 oder 4 von 8). Nabelschnurblut von einem unverwandten Neugeborenen stimmt in der Regel in einem HL-Antigen oder Allel nicht mit dem Empfänger überein. Aufgrund der geringen Anzahl an T-Zellen im Nabelschnurblut, können bei Nabelschnurblut-Transplantationen gegebenenfalls weitere *mismatches* toleriert werden. Im

Vergleich zu Transplantationen von HLA-identischen Familienspendern resultieren Fremdspender-Transplantationen (197,198,218,254–259), Fremdspender-Transplantationen mit Unterschieden in dem HLA-DP1 (260–265), Nabelschnurbluttransplantationen von unverwandten Spendern (204,266–268) und haploidentische Transplantationen (267,269–271) in Anhängigkeit von der verwendeten Immunsuppression oftmals in einer niedrigen Rezidivrate, jedoch auch in einem Anstieg der GVHD-Inzidenz und/oder der therapieassoziierten Mortalität.

Um von der gesteigerten GVL-Aktivität, die mit alternativen Spenderquellen einhergeht, insbesondere in Hochrisikoerkrankungen profitieren zu können muss die Inzidenz und Schwere der GVHD reguliert werden. Denn die GVHD ist auch heute noch eine der Hauptursachen für Morbidität und Mortalität nach einer allogenen Blutstammzelltransplantation. (272)

Schon frühzeitig wurde erkannt, dass die alloreaktiven T-Lymphozyten eine Schlüsselfunktion, sowohl in der Pathogenese der GVHD als auch in der Vermittlung des GVL-Effektes übernehmen. (221,273,274) Mittlerweile existieren eine Reihe von Immunsuppressiva, die auf unterschiedlichem Wege, nach ihrer Applikation eine Abnahme der T-Lymphozyten- und oft auch der B-Lymphozyten-Aktivität bewirken. Gängige Immunsuppressiva sind beispielsweise Glucocorticoide, die Calcineurininhibitoren Ciclosporin und Tacrolimus, der Guanosin-Synthese-Inhibitor Mycophenolatmofetil, die mTOR-Inhibitoren Sirolimus und Everolimus, der Antimetabolit Methotrexat und das alkylierte Zytostatikum Cyclophosphamid. Während die Wirkung der genannten Immunsuppressiva nur über einen begrenzten Zeitraum anhält, kann mit einer sogenannten T-Zell Depletion die Immunantwort längerfristig unterdrückt werden. Eine ex vivo T-Zell Depletion des Transplantates vor dessen Infusion (275–279), sowie die GVHD-Prophylaxe mit Calcineurininhibitor Cyclosporin (246,279–281) im Verlauf nach der Transplantation führte jedoch zu einem Anstieg der Infektionen, Rezidive und Transplantatversagern. (282)

Eine in vivo T-Zell Depletion mit Hilfe polyklonaler Anti-T-Zell Seren, die im Rahmen der Konditionierung dem Patienten appliziert werden, versprechen eine Reduktion der GVHD-Rate ohne unerwünschte fatale Nebenwirkungen. Das Anti-Human-T-Lymphozyten Immunglobulin der Firma Neovii Fresenius Biotech GmbH (ATG-Fresenius®, seit 2016 Grafalon®; ATG) (283) ist ein solches Serum, welches in den vergangenen Jahren bei Fremdspender-Transplantationen, und Transplantationen mit alternativen Spenderquellen zunehmend zum Einsatz gekommen ist. Bei ATG handelt es sich um einen polyklonalen Antikörper (Ig G), der aus dem Serum von Kaninchen gewonnen wird. Hierzu werden die Kaninchen mit der humanen Jurkat T-lymphoblastischen Zelllinie, einer Zelllinie die aktivierten immortalisierten T-Zellen gleichkommt, immunisiert. Die im Kaninchenorganismus gebildeten Immunglobuline werden anschließend von menschlichen Plazentazellen absorbiert. Die so gewonnenen Antikörper binden an diverse Epitope auf den Oberflächenantigenen hämatopoietischer Zellen. Das primäre Ziel des Anti-Human-T-Lymphozyten

Immunglobulins sind aktivierte, alloreaktive T-Lymphozyten. Auf direktem Wege oder indirektem Wege, über eine komplement-vermittelte Lyse oder eine Apoptose-Induktion durch Antigen-präsentierende Zellen, werden die T-Lymphozyten eliminiert. Darüber hinaus vermag ATG die Anzahl an B-Lymphozyten und dendritischen Zellen zu reduzieren. (284,285) Die multiplen Wirkmechanismen von ATG sind jedoch bis heute nicht vollständig entschlüsselt. Im Detail ist nicht bekannt mit welchen und wie vielen Oberflächenmolekülen ATG interagiert. Ein anderes Immunglobulin-Serum, das durch die Immunisierung von Kaninchen mit humanen Thymozyten gewonnen wird (Thymoglobulin®, ATG-T), ist besser erforscht. (282,286)

Sicher ist jedoch, dass der Einsatz von Anti-Human-T-Lymphozyten Immunglobulin (ATG-Fresenius®/Grafalon®, ATG) einen wichtigen Beitrag leistet, die GVHD und die mit ihr verbundene Morbidität in Fremdspender- und alternativen Spendertransplantationen zu senken. In den vergangenen 15 Jahren konnten retrospektive, wie auch prospektive Studien zeigen, dass der Einsatz von ATG die GVHD-Inzidenz effektiv senkt, ohne die Rezidivrate nach allogener BSZT zu erhöhen. (272,287–291) Zu ihrer Einschränkung betrachteten die genannten Studien jedoch Patientenkollektive mit größeren Heterogenitäten im Hinblick auf das Risikoprofil, die Diagnosen und die Konditionierungs-Regime. Die Fragen, ob ATG doch ein Rezidiv begünstigen könnte und in welchem Ausmaß die Immunrekonstitution durch den Einsatz von ATG beeinträchtigt wird, wurde in einem reinen Hochrisiko-Kollektiv noch nicht beantwortet.

1.5.3 Die allogene Blutstammzelltransplantation als Erstlinientherapie

Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Erkrankungen, die erst spät im Krankheitsverlauf für eine allogene BSZT vorgeschlagen werden, haben oftmals eine Chemoresistenz bzw. eine refraktäre Erkrankung entwickelt und damit eine sehr schlechte Prognose auch nach einer allogenen BSZT. Kumulative Toxizitäten, die aus einer intensiven Vortherapie resultieren, können sogar dazu führen, dass Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Erkrankungen zu einem späten Zeitpunkt nicht mehr allogene stammzelltransplantiert werden können.

Um eine Chemoresistenz der Erkrankung und toxische Organschäden durch eine intensive Vortherapie zu verhindern, kann die potentiell kurative allogene BSZT als Erstlinientherapie eingesetzt werden. Dieser Therapiestrategie zu Folge werden die Patienten als erstes, unmittelbar nach der Krankheitsdiagnose chemotherapiert, konditioniert und anschließend allogene stammzelltransplantiert. Voraussetzung für diese Therapiestrategie ist die schnelle Verfügbarkeit eines passenden Spenders. (292,293)

Bislang hat sich die allogene BSZT als Erstlinientherapie vor allem bei Patienten mit Hochrisiko-Erkrankungen als effektiv erwiesen. Dennoch ist der ideale Zeitpunkt für eine allogene BSZT bei

myeloischen Stammzellerkrankungen weiterhin ein breit diskutiertes und lange noch nicht abgeschlossenes Thema. (189,190,192,294–297)

1.5.4 Die frühe allogene Blutstammzelltransplantation während der Phase der Knochenmarksaplasie

Eine weitere Transplantationsstrategie, die auf eine Reduktion der Rezidivrate nach der allogenen BSZT abzielt, ist die frühe Transplantation, noch während der Chemotherapie-induzierten Phase der Knochenmarksaplasie und noch bevor eine komplette Remission diagnostiziert werden kann. Nur 3 Tage nach einer intensiven, rasch aufeinanderfolgenden Chemotherapiesequenz folgt die Konditionierung als Vorbereitung für die allogene BSZT. Diese Transplantationsstrategie setzt auf eine frühzeitige Transplantatvermittelte Leukämie-Abwehr durch den GVL-Effekt. Hierdurch soll verhindert werden, dass sich verbleibende neoplastische Zellen noch während der Phase der Aplasie erneut vermehren können. Die frühe allogene BSZT während der Aplasie kann als Erstlinientherapie oder zu einem späteren Zeitpunkt im Verlauf der Erkrankung eingesetzt werden. Bislang konnten wenige Studien zeigen, dass die frühe allogene BSZT bei AML und MDS eine wirkungsvolle Strategie ist, um die Rezidivrate von Hochrisiko-Patienten im Posttransplantationsverlauf zu senken. (295,296,298,299) Beispielsweise beträgt die geschätzte 2-Jahres-Rezidivrate von AML-Patienten mit einer primär refraktären Erkrankung, einer zytogenetischen Hochrisiko-Erkrankung und einer rezidierten Erkrankung jeweils 17 %, 11 % und 27 %, wenn eine frühe Transplantation während der Phase der Knochenmarksaplasie durchgeführt wurde. (299)

1.5.5 Spenderlymphozyten Infusionen und adoptive Zelltherapien im Posttransplantationsverlauf

Eine wirkungsvolle Strategie die Rezidivrate nach allogener BSZT zu senken ist die Steigerung des immunvermittelten GVL-Effektes. Der GVL-Effekt kann durch das frühe Ausschleichen der Immunsuppression und die Infusion von Spenderlymphozyten im Posttransplantationsverlauf gesteigert werden. Die Kehrseite einer Spenderlymphozyten Infusion (DLI) ist jedoch ein hohes GVHD-Risiko. (300,301)

Im vergangenem Jahrzehnt wurden DLIs bei Patienten mit Hochrisiko-Erkrankungen zu verschiedenen Zeitpunkten im Posttransplantationsverlauf und mit verschiedenen Intentionen appliziert: Zum einen zur Prävention eines Rezidivs bei ausbleibender GVHD oder im Falle eines Abfalls des Spenderchimärismus/ der Wiederkehr eines molekulargenetischen Markers als Zeichen eines drohenden Rezidivs und zum anderen als Therapie eines manifesten Rezidivs. Im direkten Vergleich des präventiven Therapieansatzes mit DLIs und der Rezidivtherapie mit DLIs, zeigte sich ein

deutlich höheres Therapieansprechen und ein besseres Langzeitüberleben, wenn DLIs innerhalb der ersten 6 Monate, vor einem manifesten Rezidiv, im Krankheitsverlauf appliziert wurden. (302) Andererseits ist eine frühe DLI-Applikation mit stärkeren GVHD-Reaktionen und einer deutlich erhöhten GVHD-assoziierten Morbidität und Mortalität verbunden. In den vergangenen Jahren gab es daher mehrere Bemühungen den GVL-Effekt von der GVHD zu entkoppeln. Durch den Einsatz des FLT3-Inhibitors Imatinib in CML-Patienten unmittelbar nach der Transplantation, konnte der Einsatz von DLIs auf einen späteren Zeitpunkt verschoben werden, an dem die DLI-Gabe mit weniger Nebenwirkungen assoziiert ist. (150,303) Ähnliches könnte durch die präventive Applikation von Azacitidin im Posttransplantationsverlauf erzielt werden. (150,304)

Darüber hinaus wird aktuell versucht, die transfundierten Spenderzellen derart zu modifizieren und zu selektieren, dass sie vorwiegend die neoplastischen Zellklone, nicht aber die Gewebe der Patienten angreifen. Beispiele dieser sogenannten adoptiven Zelltherapien, sind die Transfusion von genetisch veränderten Spender T-Zellen mit einem "safety switch"(251,305–308), Gamma-delta Donor T-Zell Infusionen (251,309–312), Infusionen von T-Zellen mit einem chimären Antigen-Rezeptor (CARs) (251,313–316), sowie die Infusion von ex vivo-vermehrten NK-Zellen (317–321).

2 Ziele der Arbeit

Die in der vorliegenden Arbeit beschriebene retrospektive *Single-Center* Studie der Klinik für Hämatologie, Onkologie und Klinische Immunologie am Universitätsklinikum Düsseldorf hat zum Ziel, das Überleben von Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Neoplasien nach einem spezifischen, neuen Therapieansatz, der sequentiellen Konditionierung mit FLAMSA-Melphalan und der frühen allogenen Blutstammzelltransplantation während der Phase der Knochenmarkaplasie, zu evaluieren. Ein weiteres zentrales Ziel dieser Arbeit besteht in der Identifikation potentieller Prognosefaktoren für den Erfolg der allogenen BSZT in dem Hochrisiko-Kollektiv der Studie. In diesem Zusammenhang soll der Einfluss von Prognosefaktoren des Prätransplantationsverlaufes und Prognosefaktoren des Posttransplantationsverlaufes auf die fünf Zielvariablen Gesamtüberleben, krankheitsfreies Überleben, therapieassoziierte Mortalität, Rezidivrate und Inzidenz der *Graft-versus-Host* Disease geprüft werden. Als Prognosefaktoren des Prätransplantationsverlaufes werden zeitabhängige, patientenabhängige, spender- und transplantatabhängige, krankheitsspezifische und therapieassoziierte Prognosefaktoren untersucht. Als Prognosefaktoren des Posttransplantationsverlaufes werden der Spenderchimerismus, das Auftreten einer *Graft-versus-Host* Disease und die Immunrekonstitution beleuchtet.

Unter den potentiellen therapieassoziierten Prognosefaktoren legt diese Arbeit ein besonderes Augenmerk auf die in-vivo T-Zell Depletion mit Anti-Human-T-Lymphozyten Immunglobulin, da es bislang keine Untersuchungen zu der Bedeutung von ATG in einem reinen Hochrisiko-Kollektiv gab. Die Arbeit geht der Frage nach, ob und in welchem Ausmaß, der Einsatz von ATG im Rahmen der Konditionierung mit FLAMSA-Melphalan, das Transplantationsergebnis und die Immunrekonstitution im Verlauf nach der Transplantation beeinflusst. Die Bedeutung von ATG in dem untersuchten Hochrisiko-Kollektiv soll letztlich im Kontext mit allen anderen Prognosefaktoren bewertet werden. Für die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen liegen zwei positive Ethikvoti für die Studie und für das *Amendment 1* der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf vor (Studennummer: 2395).

3 Patienten und Methoden

3.1 Studiendesign und Studiendauer

Die vorliegende Arbeit zeigt Ergebnisse einer retrospektiven klinischen Studie der Klinik für Hämatologie, Onkologie und Klinische Immunologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. Klinische Daten wurden retrospektiv aus ambulanten und stationären Patientenakten, dem Transplantationsregister, dem Archiv und dem Krankenhaus-Informationssystem der Klinik für Hämatologie, Onkologie und Klinische Immunologie gesammelt und im Anschluss ausgewertet.

In einem Beobachtungszeitraum von etwa 10 Jahren wurden insgesamt 150 Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Leukämien in die Studie aufgenommen. Der erste Studienteilnehmer wurde am 17.02.2002 allogene Stammzelltransplantiert. Der letzte Studienteilnehmer, der in diese Analyse einging, wurde am 01.02.2012 transplantiert. Das Gesamtkollektiv wurde am 20.09.2012 zuletzt nachbeobachtet. Vor Beginn der Studie lag ein positives Votum der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf vor (Studiennummer: 2395, positives Votum vom 13.07.2004 und positives Votum für das *Amendment 1* vom 14.12.2007). Von allen Patienten lag eine schriftliche Einverständniserklärung vor.

3.2 Einschlusskriterien

In der Studie wurden ausschließlich Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Neoplasien im Alter zwischen 18 und 70 Jahren eingeschlossen. Eine Hochrisiko-Neoplasie wurde über das Vorliegen von mindestens einem der folgenden drei Kriterien definiert: (1) Der Nachweis eines ungünstigen Karyotyps. Ein ungünstiger Karyotyp wurde durch einen komplexen Karyotyp (≥ 3 Abnormalitäten, davon mindestens eine strukturelle Aberration), Veränderungen an Chromosom 5 und Chromosom 7, Veränderungen an dem Chromosomenarm 11q23 oder über das Vorliegen eines Philadelphia-Chromosoms bei Patienten mit CML, charakterisiert. (2) Nicht-Erreichen einer kompletten Remission nach intensiver Chemotherapie, wobei mindestens 2 Zyklen hochdosierten Cytarabins oder eine Behandlung mit einem Tyrosinkinaseinhibitor bei CML-Patienten mitinbegriffen sein müssen. (3) Vorliegen eines Frührezidivs (Dauer der ersten Remission unter 6 Monaten) oder Vorliegen von mehr als zwei Rezidiven in der Vorgeschichte. Schwere Organfunktionsstörungen, ein zu geringes Zeitintervall von weniger als sechs Monaten zu einer vorangegangenen Hochdosischemotherapie, mehr als eine Hochdosischemotherapie in der Vorgeschichte, oder eine fehlende schriftliche Einverständniserklärung galten als Ausschlusskriterien für die Studienteilnahme.

3.3 Studienkollektiv

Das gesamte Studienkollektiv umfasst 150 Patienten. Im Median waren die Patienten zum Zeitpunkt der Transplantation 50 Jahre alt (Spanne: 17-69 Jahre). Der jüngste Patient war 18 Jahre, der älteste 69 Jahre alt. Einundneunzig Patienten waren zum Zeitpunkt der Transplantation zwischen 40 und 59 Jahre alt (61 %). Sechszwanzig Patienten (17 %) waren jünger als 40 Jahre und 33 Patienten (22 %) waren älter als 60 Jahre zum Zeitpunkt der Transplantation. Achtundachtzig Patienten (59 %) waren männlichen und 62 (41 %) weiblichen Geschlechtes. Bei allen Patienten lag die Diagnose einer myeloischen Hochrisiko-Neoplasie vor. Alle Patienten wurden mit einer einheitlichen Hochdosistherapie vor der allogenen BSZT behandelt (FLAMSA). Die Konditionierung variierte in dem Beobachtungszeitraum zwischen drei Wirkstoffen bzw. Wirkstoffkombinationen (Melphalan; Thiotepa und Melphalan; Treosulfan). Der Großteil der Patienten (70 %) wurde allein mit dem alkylierenden Zytostatikum Melphalan konditioniert. Zum Vergleich siehe Tabelle 4.

Tabelle 4 Überblick über das Gesamtkollektiv

	Anzahl (n)	Prozentualer Anteil (%)
Gesamtkollektiv	150	100
Patientengeschlecht		
Männlich	88	59
Weiblich	62	41
Diagnose zum Zeitpunkt der BSZT		
Akute myeloische Leukämie	110	73
De Novo	71	47
Sekundär	39	26
Myelodysplastische Syndrome und myeloproliferative Erkrankungen	40	27
MDS	25	17
MPN & MPN/MDS	15	10
Patientenalter (Jahre)		
18-29	10	7
30-39	16	11
40-49	43	29
50-59	48	32
≥ 60	33	22
Konditionierung		
Melphalan	105	70
Melphalan und Thiotepa	34	23
Treosulfan	11	7

3.4 Therapieprotokoll

Das Therapieprotokoll der vorliegenden Studie basiert auf dem Therapieprinzip einer frühen allogenen BSZT noch während der Phase der Knochenmarkaplasie und orientiert sich an dem FLAMSA-Protokoll der Münchener Arbeitsgruppe um Professor Kolb. (298,322) Das Münchener FLAMSA-Protokoll nach Kolb et al. setzt sich aus einer Hochdosischemotherapie, bestehend aus Fludarabin (Flu), Amsacrin und Cytarabin (Ara-C) und einer dosisreduzierten, sequentiellen Konditionierung (RIC) mittels Ganzkörperbestrahlung (4 Gy) und Cyclophosphamid zusammen (FLAMSA-RIC). Der Begriff sequenziell beschreibt hier, dass die Hochdosischemotherapie und die Konditionierung in einem kurzen Zeitraum unmittelbar aufeinander erfolgen. Die Spenderzellen werden frühzeitig nach einer kurzen Auswaschphase unmittelbar nach der Konditionierung infundiert. Zudem sieht das Münchener FLAMSA-Protokoll eine prophylaktische Gabe von Spenderlymphozyten (*Donor Lymphocyte Infusion, DLI*) nach der allogenen BSZT vor. Alle drei Charakteristika des Münchener FLAMSA-Protokolls, die sequentielle Applikation der Konditionierung, die frühe Transplantation und die Infusion von Spenderlymphozyten im Posttransplantationsverlauf, zielen auf eine Verstärkung des GVL-Effektes und einer Reduktion der Rezidivrate ab. (295,298)

In Düsseldorf wurde dieses Therapiekonzept zur Behandlung von Patienten mit hämatologischen Hochrisiko-Neoplasien aufgegriffen. An die Stelle der dosisreduzierten Konditionierung aus Ganzkörperbestrahlung und dem eher immunsuppressiv wirkenden Cyclophosphamid, wurde eine altersadaptierte Konditionierung mit dem alkylierenden Zytostatikum Melphalan (FLAMSA-Mel) gesetzt. Vierundreißig Patienten, die zwischen 2002 und 2005 transplantiert wurden erhielten eine Konditionierung mit der Wirkstoffkombination Thiotepa und Melphalan, welche sich jedoch als zu toxisch erwies und daher aus dem Protokoll entfernt wurde (FLAMSA-Thio-Mel). Seit 2011 wurden 11 Patienten aufgrund eines fortgeschrittenen Alters und/oder aufgrund von relevanten Komorbiditäten anstatt mit Melphalan mit dem alkylierenden Zytostatikum Treosulfan konditioniert (FLAMSA-Treo). Insgesamt wurden 105 Patienten mit FLAMSA-Melphalan behandelt und anschließend allogene Stammzelltransplantiert.

3.4.1 FLAMSA-Melphalan Konditionierung

Im Rahmen des Düsseldorfer FLAMSA-Mel Protokolls erhielten die Patienten 120 mg/m² Körperoberfläche (KO) Fludarabin (4 × 30 mg/m² KO), 400 mg/m² KO Amsacrin (4 × 100 mg/m² KO) und 8 g/m² KO Cytarabin (4 × 2 g/m² KO) an vier aufeinanderfolgenden Tagen, von Tag -9 bis Tag -6 vor der Transplantation (FLAMSA). (295,298) Zwei Tage vor der Transfusion der Spenderzellen wurde die Konditionierung mit Melphalan in einer altersadaptierten Dosierung verabreicht (200 mg/m² KO für Patienten jünger als 50 Jahre, 150 mg/m² KO für Patienten im Alter zwischen 50 und 60 Jahren und 100 mg/m² KO für Patienten älter als 60 Jahre). Aus individuellen Gründen wurde bei 11 Patienten von der Melphalan-Standarddosierung abgewichen (75 mg/m² anstatt 100 mg/m² KO in 1 Patienten; 140 mg/m² anstatt 150 mg/m² KO in 8 Patienten; 175 mg/m² anstatt 200 mg/m² KO in 2 Patienten). Sieben Patienten der Altersgruppe 50-60 Jahre erhielten aufgrund ungünstiger krankheitsspezifischer Prognosefaktoren (Nicht Erreichen einer CR, Frührezidiv) eine hohe Melphalan-Dosierung von 200 mg/m² KO (1 Patient mit einem HCT-CI von 0, 3 Patienten mit einem HCT-CI von 1-2 und 3 Patienten mit einem HCT-CI von ≥ 3). Aufgrund des fortgeschrittenen Alters und der Komorbiditäten erhielten 14 Patienten (13 %) kein Amsacrin im Rahmen der Konditionierung. Bei 7 dieser Patienten, wurde die Cytarabin-Dosis ebenfalls reduziert (4 × 1 g/m²). Sechs Patienten (6 %) erhielten eine reduzierte Cytarabin-Dosierung (4 × 1 g/m²), aber Amsacrin in der Standarddosierung. Im Rahmen der Konditionierung wurden Patienten mit einem Fremdspender oder einem *mismatched* Familienspender mit Anti-Human-T-Lymphozyten Immunglobulin (ATG) behandelt, um der Entwicklung einer GVHD vorzubeugen. ATG wurde in drei gleichwertigen Fraktionen von Tag -5 bis Tag -3 vor der Transplantation appliziert (bis 2006: 3 × 10 mg/kg KG; nach 2006: 3 × 20 mg/kg KG). Insgesamt wurde bei 73 (70 %) Patienten eine ATG-vermittelte in vivo T-Zell Depletion vor der allogenen BSZT durchgeführt. Hingegen wurden 32 (30 %) Patienten ohne ATG konditioniert. Unter den 73 (70 %) Patienten mit einer ATG-Behandlung, erhielten 12 (16 %) Patienten eine Gesamtdosis von 30 mg/kg und 61 (84 %) Patienten eine Gesamtdosis von 60 mg/kg Körpergewicht. Tabelle 5 dient der chronologischen Übersicht über das therapeutische Vorgehen gemäß dem Düsseldorf FLAMSA-Mel Protokoll unmittelbar um den Zeitpunkt der Transplantation herum.

Tabelle 5 Das FLAMSA-Melphalan Therapieprotokoll

Tag vor der BSZT	Therapeutisches Vorgehen
Tag - 10	Aufnahme auf die KMT-Station und Beginn der Hyperhydratation mit 2 l/m ² KO 0,9% NaCl, Beginn der Infektionsprophylaxe mit Sulfamethoxazol/Trimethoprim 2 x 800 mg/160 mg pro Tag
Tag - 9 bis - 6	Hochdosischemotherapie: Fludarabin 30 mg/m ² KO in 250 ml 0,9% NaCl über 1 Stunde Amsacrin 100 mg/m ² KO in 500 ml G5% über 1 Stunde 4 Stunden später: Ara-C 2000 mg/m ² KO in 1000 ml 0,9% NaCl über 2 Stunden
Tag - 5 bis - 3	Patienten mit Fremd Spendern oder <i>mismatched</i> Familienspendern: ATG-Fresenius®/Grafalon® 10-20 mg/kg KG in 250 ml 0,9% NaCl über 12 Stunden
Tag - 2	Konditionierung: Patienten < 50 Jahre: Melphalan 200 mg/m ² KO Patienten 50-60 Jahre: Melphalan 150 mg/m ² KO Patienten > 60 Jahre: Melphalan 100 mg/m ² KO Jeweils in 500 ml 0,9% NaCl über 1 Stunde
Tag - 1	Pause. Spülung mit 3 l/m ² KO 0,9% NaCl, intestinale Dekontamination mit Ciprofloxacin 2 x 750 mg, Metronidazol 500 - 250 - 500 mg und Fluconazol 1 x 200 mg per os
Tag 0	Transfusion des Stammzellpräparates

BSZT = Blutstammzelltransplantation, KO = Körperoberfläche, KG = Körpergewicht, 0,9% NaCl = 0,9%ige Natriumchloridlösung, G5% = 5%ige-Glukoselösung

3.4.2 Supportive Therapie und Prophylaxe der Graft-versus-Host Disease im Posttransplantationsverlauf

Während der gesamten stationären Behandlung wurden die Patienten in Einzelzimmern mit HEPA-gefilterter Luft versorgt. Einen Tag vor der Transfusion der Spenderzellen wurde mit der medikamentösen Infektionsprophylaxe begonnen. Eine selektive intestinale Dekontamination zur Prophylaxe von Infektionen durch Darmkeime wurde mit Ciprofloxacin (2 x 750 mg), Metronidazol (Gesamtdosis: 1250 mg, aufgeteilt auf 3 Gaben) und Fluconazol (1 x 200 mg) durchgeführt. Zur Prophylaxe bakterieller Infektionen erhielten die Patienten bis zur Infusion der Spenderzellen zweimal täglich Cotrimoxazol (800 mg Sulfamethoxazol/Trimethoprim 160 mg) und ab Tag +28 zweimal wöchentlich Cotrimoxazol bis zum Absetzen der Immunsuppression. Zur Prophylaxe mykotischer Infektionen wurde bis zum Absetzen der Immunsuppression einmal täglich Fluconazol (200 mg) verabreicht. Die Prophylaxe einer Infektion mit dem Cytomegalievirus (CMV) richtete sich nach dem vorbestehenden Infektionsstatus von Spender und Patient. Patienten mit einem CMV-identischen Spender und CMV-negative Patienten, die mit einem CMV-positiven Spender transplantiert wurden, erhielten dreimal täglich Aciclovir 500 mg/m² KO intravenös von Tag +1 nach der Transplantation bis zum Zeitpunkt der stationären Entlassung. Nach der stationären Entlassung bis Tag +180 nach Transplantation wurden diese Patienten zweimal täglich mit Famciclovir 250 mg

oder dreimal täglich mit Valaciclovir 500 mg oral therapiert. Für Patienten mit einem positiven CMV-Status vor der Transplantation, die mit einem CMV-negativen Spender transplantiert wurden, wurde die CMV-Prophylaxe mit Aciclovir (3x 500 mg/m² KO i.v.) an dem Tag der Neutrophilen- und Thrombozyten-Rekonstitution (*Engraftment*) beendet. Vom Tag des *Engraftments* bis zur stationären Entlassung wurde die CMV-Prophylaxe bei diesen Patienten mit Ganciclovir 5 mg/kg KG einmal täglich intravenös fortgeführt. Nach der stationären Entlassung bis zum Tag +180 nach Transplantation erhielten CMV-positive Patienten mit einem CMV-negativen Spender zweimal täglich 450 mg Valganciclovir oral.

Um die Regeneration der neutrophilen Granulozyten im Verlauf nach der Transplantation zu beschleunigen und somit die Phase der Neutropenie zu verkürzen, konnte in individuellen Fällen ein Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor (G-CSF) appliziert werden. Insgesamt wurden 70 (67 %) der mit FLAMSA-Mel therapierten Patienten innerhalb von 7 Tagen vor der Transplantation einmal G-CSF subcutan appliziert (Pegfilgrastim, Neulasta® s.c.: n = 53; Lenograstim, Granocyte® s.c.: n = 15; Filgrastim, Neupogen® s.c.: n = 2).

Zwecks GVHD-Prophylaxe im Posttransplantationsverlauf erhielten die Patienten nach der Transplantation Mycophenolatmofetil (MMF) dreimal täglich in einer initialen Dosierung von 15 mg/kg KG (Beginn 1 Stunde nach der Transplantation) und Tacrolimus (FK506) zweimal täglich mit dem Ziel, eine Konzentration zwischen 10 und 15 ng/ml im peripheren Blut zu erreichen (Beginn an Tag -1). Die Dosierung von Mycophenolatmofetil wurde zunächst an Tag +28 nach BSZT halbiert und im Falle des Ausbleibens einer GVHD an Tag +42 nach BSZT vollständig abgesetzt. Die Behandlungsdauer mit Tacrolimus wurde individuell an das GVHD-Risiko, das Auftreten und die Schwere einer GVHD angepasst. Entwickelten Patienten keine GVHD, wurde Tacrolimus zwischen Tag +80 und Tag +100 nach der Transplantation ausgeschlichen. Wenn möglich sollte die Immunsuppression zwischen Tag +120 und +160 nach der Transplantation vollständig abgesetzt sein.

Vor der Entlassung von der KMT-Station wurden alle Patienten über Verhaltensmaßnahmen zur Prophylaxe von Infektionen aufgeklärt. Hierzu zählen das Tragen eines virussicheren Mundschutzes der Klasse FFP3 in Menschenansammlungen und öffentlichen Einrichtungen, sowie die Einhaltung einer keimarmen Ernährung bis zum Absetzen der Immunsuppression.

3.4.3 Nachsorge

Nach der stationären Entlassung wurden die Patienten in der Knochenmarktransplantations (KMT)-Ambulanz betreut. In den ersten 100 Tagen nach der allogenen BSZT wurden die Patienten ein- bis zweimal wöchentlich ambulant untersucht. Die Untersuchungen umfassten eine Anamnese, eine körperliche Untersuchung und eine laborchemische Diagnostik inklusive eines Differentialblutbildes. Einmal wöchentlich wurde das Serum der Patienten zudem mittels PCR auf CMV-, HSV-, EBV-, HHV6- und Adenoviren untersucht. Ergaben diese Untersuchungen einen Titer-Anstieg, wurde eine entsprechende Therapie eingeleitet. Bei klinischem Verdacht auf bakterielle oder mykotische Infektionen wurde die entsprechende mikrobiologische Diagnostik durchgeführt und anschließend eine erregerspezifische Antibiotika- bzw. Antimykotika-Therapie eingeleitet. Im Falle einer schweren akuten GVHD (entsprechend \geq Grad II) wurde eine ergänzende Steroidtherapie eingeleitet. Nach Tag +100 wurde die ambulante Nachsorge bedarfsgerecht dem individuellen Befinden und Zustand der Patienten angepasst.

Im Rahmen der Nachsorge wurde der Therapieerfolg anhand der hämatologischen Rekonstitution, der Immunrekonstitution, des Spenderchimärismus und dem Remissionsstatus überprüft. Der Spenderchimärismus und der Remissionsstatus wurden bei allen Patienten an den Tagen +28, +100 und +360 nach BSZT untersucht. Zur Prophylaxe eines Rezidivs konnte bei Patienten mit einem sehr hohen Rezidivrisiko und fehlenden GVHD-Zeichen die Gabe von Spenderlymphozyten Infusionen (DLIs) in Erwägung gezogen werden. Auch im Falle eines drohenden und eines manifesten Rezidivs sah das Therapieprotokoll eine Infusion von Spenderlymphozyten vor. Die Abbildung 1 bietet eine schematische Übersicht über das FLAMSA-Mel Protokoll.

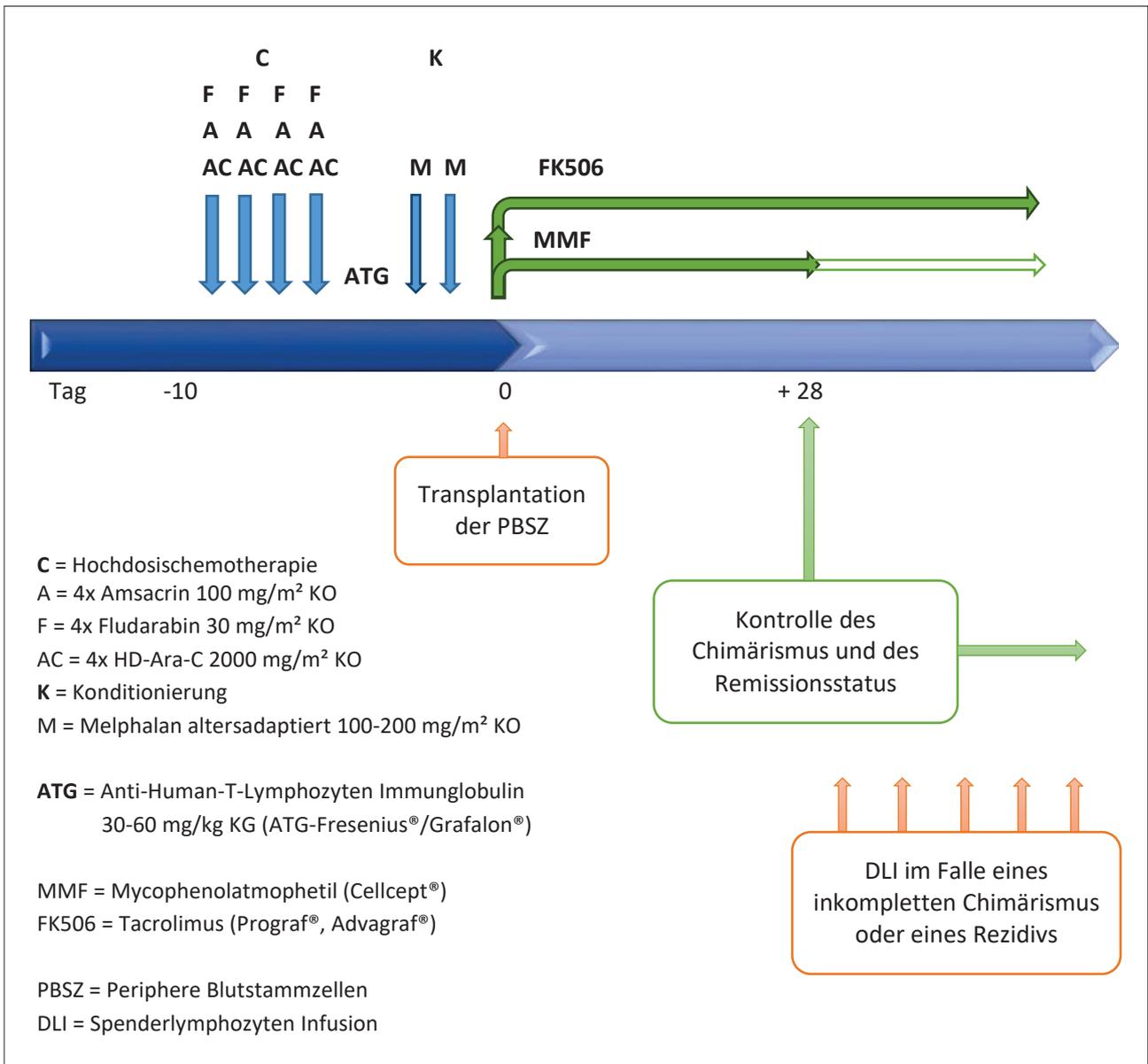


Abbildung 1 Schema des Düsseldorf FLAMSA-Mel Protokolls

3.5 Definitionen und Klassifikationen

3.5.1 Engraftment und Graft Failure

Als *Engraftment* wird das erfolgreiche Anwachsen der Spenderzellen nach einer allogenen BSZT und die damit einhergehende Regeneration der Hämatopoiese bezeichnet.

Um das Anwachsen der Spenderzellen (*Engraftment*) zu kontrollieren wurden im Verlauf nach der Transplantation regelmäßig Blutbilder mit Leukozytendifferenzierung angefertigt. Ein erfolgreiches *Engraftment* wurde über die Zahlen der neutrophilen Granulozyten und der Thrombozyten im peripheren Blut definiert. Lagen, ohne unterstützende Transfusionen, an drei aufeinanderfolgenden Tagen die Leukozytenzahlen $> 1000/\mu\text{l}$ und an sieben aufeinanderfolgenden Tagen die Thrombozytenzahlen $> 50\,000/\mu\text{l}$ vor, wurde von einem positiven *Engraftment* gesprochen.

Ein Transplantatversagen (*Graft Failure*) wiederum lag per Definition vor, wenn an Tag +28 nach der Transplantation im peripheren Blut weniger als 500 Granulozyten/ μl nachgewiesen werden konnten und die Knochenmarkpunktion ein leeres Knochenmark zeigte.

3.5.2 Immunrekonstitution

Die Immunrekonstitution im Verlauf nach einer allogenen BSZT beschreibt den Reifungsprozess der hämatopoietischen Stammzellen und determinierten Vorläuferzellen zu immunkompetenten Zellen der unspezifischen (Natürliche Killerzellen, Makrophagen, neutrophile Granulozyten) und spezifischen Abwehr (B- und T-Zellen). In dieser Arbeit wurde die lymphatische Immunrekonstitution, die zeitabhängige Regeneration der lymphatischen Zellreihe, abgebildet (T-Zellen, NK-Zellen, B-Zellen).

Aus der Immunrekonstitution nach einer allogenen BSZT können Aussagen über den Zustand, die Resistenzfähigkeit bzw. die Anfälligkeit gegenüber Infektionen und ggf. auch über die antileukämische Wirksamkeit des neuen Immunsystems abgeleitet werden.

Um die Geschwindigkeit und Vollständigkeit der Immunrekonstitution abzubilden, wurden bei den Patienten routinemäßig im ersten Jahr nach der BSZT in den Zeiträumen Tag 0-50, Tag 50-100, Tag 100-150, Tag 150-200, Tag 200-300 und Tag 300-400 Blutproben entnommen. Aus diesen Blutproben wurde im Immunhistochemielabor der MNR-Klinik des Universitätsklinikums Düsseldorf mittels einer fluoreszenzbasierten Durchflusszytometrie (*Fluorescence Activated Cell Sorting, FACS*) die Anzahl der CD4-, CD8-, CD56- und CD19-positiven Immunzellen bestimmt (CD4+: T-Helferzellen, CD8+: zytotoxische T-Zellen, CD56+: Natürliche Killerzellen, CD19+: B-Zellen; *Cluster of Differentiation, CD*). Die absoluten Zellzahlen/ μl der einzelnen lymphatischen Zellen wurden für die jeweiligen Zeiträume im Posttransplantationsverlauf dokumentiert.

3.5.3 Spenderchimärismus

Der Begriff Chimärismus leitet sich von dem griechischen Wort „Chimaira“ ab, welches ein mythologisches Mischwesen mit dem Kopf eines Löwen, dem Körper einer Ziege und dem Schwanz einer Schlange beschreibt. Im Rahmen der allogenen BSZT bezeichnet der Chimärismus die zeitweise Koexistenz von Empfänger- und Spenderzellen. Mit Hilfe von Chimärismusanalysen im Verlauf nach der BSZT können die hämatopoietischen Zellen im Empfängerorganismus ihrem genetischen Ursprung nach dem Patienten und dem Spender zugeordnet werden. Werden sowohl Zellen des Spenders als auch des Patienten nachgewiesen, handelt es sich um einen gemischten Spenderchimärismus (Spenderchimärismus < 100 %). Als Zeichen einer erfolgreichen allogenen BSZT stellt sich ein kompletter Spenderchimärismus ein. In diesem Fall entstammen alle hämatopoietischen Zellen im Organismus den Stammzellen des Spenders (Spenderchimärismus 100 %). Durch die Zunahme des Spenderchimärismus bis hin zu dem Erreichen eines vollständigen Spenderchimärismus im Verlauf nach der Stammzelltransplantation kann ein regelrechtes *Engraftment* kontrolliert werden. Andererseits kann ein drohendes Rezidiv durch einen Abfall des Spenderchimärismus detektiert werden. Die Chimärismusanalysen basieren auf genetischen Unterschieden zwischen Patient und Spender. Dabei können zytogenetische Abnormalitäten im Genom des Patienten, minimale Unterschiede in repetitiven Gensequenzen an definierten Lokalisationen (*Short tandem repeats*) oder unterschiedliche Geschlechtschromosomen von Spender und Patient zur Quantifizierung der Spender- und Patientenzellen herangezogen werden. (323,324)

In der vorliegenden Studie wurden Chimärismusanalysen an den Tagen +28, +100 und +365 nach BSZT aus dem peripheren Blut und aus dem Knochenmark durchgeführt. Bei geschlechtsgleichen Transplantationen wurde der Anteil der Spender-Allele mittels einer Polymerasekettenreaktionen (PCR) von sieben verschiedenen, polymorphen Gen-Loci bestimmt. Bei geschlechtsungleichen Transplantationen und bei Vorliegen spezifischer zytogenetischer Marker, wurde eine Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH) zur Bestimmung des Spenderchimärismus genutzt.

3.5.4 Remission

Eine komplette Remission bezeichnet einen vollständigen Rückgang aller krankheitsassoziierten Merkmale und Symptome.

Eine komplette Remission der hämatologischen Neoplasie ist über die folgenden Kriterien definiert: Das periphere Blut muss zytomorphologisch frei von blastären Zellen sein. Im Knochenmark muss der Blastenanteil zytomorphologisch unter einer Nachweisgrenze von 5% liegen. Extramedulläre Leukämie-Herde müssen ausgeschlossen sein. Die neutrophilen Granulozyten im peripheren Blutbild müssen sich soweit regeneriert haben, dass die Grenze von 1500 pro μl überschritten wird. Im Falle

einer unvollständigen Rekonstitution der neutrophilen Granulozyten ($< 1500/\mu\text{l}$) bei anderweitig erfüllten Kriterien wurde der Begriff komplette Remission mit persistierender Zytopenie angewandt (CRp).

Zwecks Kontrolle des Remissionsstatus wurden das periphere Blut und das Knochenmark zytomorphologisch und –chemisch untersucht, in der Regel in Kombination mit einer Immunphänotypisierung der peripheren Blutzellen und der Knochenmarkzellen. Waren vor der allogenen Blutstammzelltransplantation Karyotyp-Abnormalitäten und/oder spezifische Genmutationen bekannt, konnten zytogenetische und molekulargenetische Untersuchungen ergänzend eingesetzt werden, um den Krankheitsverlauf und die Remission zu überwachen.

Der Remissionsstatus wurde regelmäßig an den Tagen +28, +100 und +365 nach der BSZT bestimmt.

3.5.5 Rezidiv

Ein Rezidiv bedeutet die Rückkehr der Grunderkrankung nach einer zeitweiligen kompletten Remission.

In dieser Studie wurde das Rezidiv nach allogener BSZT über das Ergebnis zytologischer, molekulargenetischer oder zytogenetischer Testergebnisse definiert. Als eindeutiger Beleg für die Rückkehr einer myeloischen Stammzellneoplasie galt der zytologische Nachweis von $\geq 5\%$ Blasten im Knochenmark oder der Nachweis von blastären Zellen im peripheren Blut. Im Rahmen der zytogenetischen und molekulargenetischen Untersuchungen wurde ein Rezidiv diagnostiziert, wenn zytogenetische oder molekulargenetische Marker mindestens zwei Mal hintereinander erneut nachgewiesen werden konnten. Der Nachweis eines fallenden Spender-Chimärismus auf Werte unter 80% in unseparierten peripheren Blutzellen wurde als Rezidiv gewertet, wenn keine spezifischen molekularen oder zytogenetischen Marker zwecks Krankheitskontrolle zur Verfügung standen.

Patienten, die ein Rezidiv nach FLAMSA-Mel und allogener BSZT erlitten, erhielten in der Regel eine erneute Therapie. Im Falle eines kurativen Therapieansatzes bestand die Rezidivtherapie aus einer Reinduktionschemotherapie, der alleinigen Gabe von Spenderlymphozyten Infusionen (DLIs), oder aus der Kombination von DLIs und einer Reinduktionschemotherapie, beispielsweise mit Cytarabin oder Azacitidin. (325)

3.5.6 Klassifikation der Zytogenetik

Für Patienten mit myeloischen Stammzellneoplasien und allogener BSZT, existiert bislang keine allgemeingültige, prospektiv validierte Klassifikation des zytogenetischen Risikos. Der Karyotyp von MDS-Patienten wird im Rahmen der IPSS-Klassifikation in drei Prognosegruppen unterteilt (günstig, intermediär, schlecht). (90) Gemäß dem 2012 veröffentlichten *revised* IPSS (IPSS-R) werden fünf

Prognosegruppen unterschieden (sehr gut, gut, intermediär, schlecht, sehr schlecht). (93,94) Im Rahmen von großen, retrospektiven *Multi-Center* Studien an AML-Patientenkollektiven haben das *Medical Research Council* (MRC; heute das *National Cancer Research Institute*, NCRI) (6,8), die *Southwest Oncology Group* (SWOG) (145), die *Cancer And Leukemia Group B* (CALGB) (147), die *European Organization for Research and Treatment of Cancer* (EORTC) (326) und zuletzt das *Center for International Blood and Marrow Transplant Research* (CIBMTR) (327) Systeme zur Klassifikation des Karyotyps aufgestellt.

In dieser Arbeit wurde für die Klassifikation des Karyotyps der letzte vor der Transplantation bekannte pathologische Karyotyp herangezogen. Der Karyotyp wurde nach den MRC-Kriterien (*Medical Research Council, United Kingdom*) (6,8) und den SWOG-Kriterien (*Southwest Oncology Group, United States of America*) (145) klassifiziert. Gemäß dieser Klassifikationssysteme werden drei zytogenetische Prognosegruppen unterschieden: Günstig (*favorable*), intermediär (*intermediate*) und ungünstig (*unfavorable*). Beide Klassifikationssysteme stimmen darin überein, dass die Aberrationen t(15;17), t(8;21) und inv(16) mit einem günstigen Krankheitsverlauf assoziiert werden. Jedoch wird in der SWOG-Klassifikation die Translokation t(8;21) nur dann als *favorable* kategorisiert, wenn gleichzeitig kein komplexer Karyotyp und keine Deletion del(9q) vorliegen. Patienten mit einem normalen Karyotyp werden in beiden Klassifikationssystemen übereinstimmend in die Prognosegruppe *intermediate* eingeordnet. In beiden Klassifikationen werden Patienten mit einem komplexen Karyotyp der Kategorie *unfavorable* zugeordnet. Jedoch unterscheidet sich die Definition eines komplexen Karyotyps zwischen beiden Klassifikationen. Gemäß den MRC-Kriterien erfordert ein komplexer Karyotyp das Vorliegen von mindestens fünf, voneinander unabhängigen Abnormalitäten. In der SWOG-Klassifikation hingegen genügt für die Definition des komplexen Karyotyps das Vorliegen von mindestens drei unabhängigen Abnormalitäten. Ein weiterer feiner Unterschied zwischen den beiden Klassifikationen ist, dass 11q Aberrationen nach den MRC-Kriterien als *intermediate* und nach den SWOG-Kriterien als *unfavorable* gewertet werden. Im Unterschied zu der MRC-Klassifikation, weist die SWOG-Klassifikation zusätzlich die Kategorie unbekannt (*unknown*) auf, in die Karyotypen mit bislang unbekanntem prognostischen Stellwert fallen.

Zwecks besserer Vergleichbarkeit beider Klassifikationssysteme wurde in unserer Studie den MRC-Kriterien, den SWOG-Kriterien entsprechend, ebenfalls die Kategorie *unknown* hinzugefügt. Darüber hinaus wurde die Risiko-Kategorie *intermediate* in die zwei Subkategorien, *intermediate/normal* und *intermediate/others*, unterteilt. Diese Unterteilung ermöglichte die Differenzierung zwischen Patienten mit einem normalen Karyotyp und Patienten, die aufgrund einer Aberration der Kategorie *intermediate* zugeteilt wurden. Zum Vergleich siehe Tabelle 6.

Tabelle 6 Modifizierte Version der MRC-Kriterien (*Medical Research Council*) und der SWOG-Kriterien (*Southwest Oncology Group*) mit fünf Prognosegruppen

Prognosegruppe	Modifizierte MRC-Kriterien (8)	Modifizierte SWOG-Kriterien (328)
<i>Favorable</i>	inv16/t(16;16)/del(16q), t(15;17), t(8;21) mit/ohne sekundäre Abnormalitäten	inv16/t(16;16)/del(16q), t(15;17) mit/ohne sekundäre Abnormalitäten; t(8;21) ohne den gleichzeitigen Nachweis von del(9q) und ohne gleichzeitig Teil eines komplexen Karyotyps zu sein
<i>Intermediate/normal</i>	Normaler Karyotyp	Normaler Karyotyp
<i>Intermediate/others</i>	11q23 Abnormalität, + 8, del(9q), del(7q), +21, +22	+8, +6, -Y, del(12p)
<i>Unfavorable</i>	del(5q)/-5, del(7q)/-7, abn(3q), komplexer Karyotyp (≥ 5 unzusammenhängende Abnormalitäten), t(6;9), t(9;22)	del(5q)/-5, del(7q)/-7, Abnormalität 3q, 9q, 11q, 20q, 21q, 17p, t(6;9), t(9;22) und komplexer Karyotyp (≥ 3 unzusammenhängende Abnormalitäten)
<i>Unknown</i>	Alle anderen Abnormalitäten	Alle anderen Abnormalitäten

Neben dem komplexen Karyotyp verspricht das zytogenetische Merkmal „monosomaler Karyotyp“ (MK) eine noch bessere Einschätzung der Prognose vor allogener BSZT. Gemäß der 2008 veröffentlichten Studie von von Breems et al. (329) definiert sich ein monosomaler Karyotyp über das Vorliegen von zwei oder mehr autosomalen Monosomien oder durch eine Monosomie in Kombination mit mindestens einer strukturellen Abnormalität. (329,330)

3.5.7 Klassifikation der Komorbidität

Das Ausmaß der Komorbidität eines Patienten vor allogener BSZT wurde in dieser Studie anhand des Blutstammzelltransplantations-spezifischen Komorbiditätsindex (*Hematopoietic Cell Transplantation-specific Comorbidity Index*, HCT-CI) klassifiziert. (223,331,332) Der HCT-CI wurde erstmals 2005 von Mohammed Sorrow aus Seattle beschrieben und wird deshalb auch „Sorrow-Score“ genannt. In seinen Grundzügen basiert der HCT-CI auf dem Charlson Komorbiditätsindex (*Charlson Comorbidity Index*, CCI), der im Jahr 1987 an 559 internistischen Patienten entwickelt wurde. (333–336) Sorrow modifizierte den CCI und passte ihn den besonderen Gegebenheiten und Risiken einer allogenen BSZT an. Im Unterschied zu dem CCI fordert der HCT-CI Laborwerte und detaillierte Ergebnisse von Funktionstests, um die kardiologischen, pulmonalen, hepatischen und renalen Komorbiditäten genauer abbilden zu können. Sorrow ergänzte seinen Score gezielt durch Krankheitsbilder, die gehäuft bei Patienten mit hämatopoietischen Neoplasien auftreten. Darüber hinaus gewichtet der Score die Bedeutung einzelner Komorbiditäten vor dem Hintergrund der allogenen BSZT. Durch die Erhebung und die Wichtung der Begleiterkrankungen vor Transplantation

ermöglicht der HCT-CI, das Risiko für Komplikationen im Rahmen einer allogenen BSZT für jeden Patienten individuell abzuschätzen.

In der vorliegenden Studie wurde die im Rahmen der Risikostratifizierung vor BSZT durchgeführte Diagnostik herangezogen, um den HCT-CI zu ermitteln (konventionelle Laboruntersuchungen, mikrobiologische Untersuchungen, bildgebende Verfahren, Elektrokardiogramm, Echokardiographie, Doppler-Untersuchung der Carotiden bei Patienten im Alter über 50 Jahren und eine Lungenfunktionsuntersuchung). Dem HCT-CI zu Folge wurde für die Funktionseinschränkung eines Organs und gemäß dem Grad dieser Einschränkung ein vordefinierter Punkte-Wert vergeben. Durch die Addition aller Punkte erhielt jeder Patient einen finalen Wert, der anhand einer Komorbiditäts-Skala beurteilt wurde. Ein End-Wert von 0 Punkten auf der Komorbiditäts-Skala entsprach einem niedrigen Risiko nach allogener BSZT therapieassoziiert zu versterben. Ein End-Wert von 1-2 Punkten repräsentiert ein mittleres und ein End-Wert von ≥ 3 Punkten ein hohes Risiko in Folge therapieassoziiierter Komplikationen zu sterben (2-Jahres-TRM: 14 % für niedriges, 21 % für mittleres und 41 % für hohes Risiko; Siehe Tabelle 7).

Tabelle 7 Geschätzte therapieassoziierte Mortalität und Gesamtüberleben für die 3 HCT-CI Prognosegruppen, nach Sorrow et al. 2005 (223)

HCT-CI	Therapieassoziierte Mortalität (TRM)		Gesamtüberleben (OS)	
	2-Jahres-Rate	HR (95%-KI)	2-Jahres-Rate	HR (95%-KI)
0	14 %	1	71 %	1
1-2	21% (0,8-2,7)	1,42	60 %	1,31 (0,8-2,0)
≥ 3	41 % (2,0-6,3)	3,54	34 %	2,69 (1,8-4,1)

HCT-CI = Blutstammzelltransplantations-spezifischer Komorbiditätsindex (*Hematopoietic Cell Transplantation-specific Comorbidity Index*), HR = Hazard Ratio, „Risikoquotient“, KI = Konfidenzintervall

3.5.8 Klassifikation der Graft-versus-Host Disease

Im Verlauf der ambulanten Nachbeobachtungen wurden klinische Zeichen einer GVHD dokumentiert, klassifiziert und medikamentös kontrolliert.

Die GVHD wurde zunächst nach klassischen Kriterien diagnostiziert: Für die akute GVHD wurden die Kriterien von Glucksberg (215,337) und für die chronische GVHD die Kriterien von Shulman (216) angewandt. Diesen klassischen Klassifikationssystemen zu Folge können die akute und chronische GVHD durch den Zeitpunkt ihres Auftretens voneinander abgegrenzt werden. Die akute GVHD tritt in den ersten 100 Tagen nach Transplantation auf, die chronische GVHD entwickelt sich hingegen erst nach Tag +100. (215,216) Die klinischen Kriterien von Glucksberg vergeben für die drei Manifestationsorte der akuten GVHD, Haut, Leber und Gastrointestinaltrakt, jeweils vier Schweregrad-Ausprägungen. Die Hautbeteiligung wird anhand der prozentual betroffenen Körperoberfläche, die Leberbeteiligung durch die Höhe des Bilirubin-Wertes im Serum und die Beteiligung des Gastrointestinaltraktes anhand der täglich ausgeschiedenen Durchfall-Menge in ml

beurteilt. Die Schweregrad-Bewertung aller beteiligten Organe gehen am Ende in eine Gesamtbewertung mit den Graden I bis IV ein. (215) Aufgrund der besseren Reproduzierbarkeit wurde die Gesamtbewertung der *Consensus Conference on Acute GVHD Grading* aus dem Jahr 1995 angewandt, die auf eine subjektive Einschätzung des klinischen Allgemeinzustandes des Patienten verzichtet. (338) Tabelle 8 fasst die klinische Schweregradeinteilung der akuten GVHD nach Glucksberg zusammen. Die Tabelle 9 zeigt die Gesamtbewertung der akuten GVHD nach Glucksberg aus dem Jahr 1974 und Tabelle 10 zeigte die Gesamtbewertung der akuten GVHD gemäß der *Consensus Conference on Acute GVHD Grading* aus dem Jahr 1995.

Tabelle 8 Klinische Schweregrad-Einteilung der akuten GVHD für die einzelnen Organbeteiligungen nach Glucksberg (341)

Grad	Haut	Leber	Darm
I	Makulopapulöses Exanthem < 25 % der Körperoberfläche	Bilirubin 2-3 mg/dl	Diarrhoe > 500 ml/Tag
II	Makulopapulöses Exanthem 25-50 % der Körperoberfläche	Bilirubin > 3-6 mg/dl	Diarrhoe > 1000 ml/Tag
III	Erythrodermie > 50 % der Körperoberfläche	Bilirubin > 6-15 mg/dl	Diarrhoe > 1500 ml/Tag
IV	Erythrodermie mit Blasenbildung und Desquamation	Bilirubin > 15 mg/dl	Diarrhoe > 2000 ml/Tag

Tabelle 9 Gesamtbewertung der akuten GVHD nach Glucksberg (341)

Gesamt-Grad	Hautbeteiligung	Darmbeteiligung	Leberbeteiligung	Allgemeinzustand
I	Grad I-II	Keine	keine oder Grad I	nicht beeinträchtigt
II	Grad I-III	Grad I-II	keine	leicht reduziert
	Grad I-III	keine	Grad I-II	
	Grad I-III	Grad I-II	Grad I-II	
III	Grad II-IV	Grad II-IV	keine oder Grad II-IV	reduziert
IV	Grad II-IV	Grad II-IV	keine oder Grad II-IV	stark reduziert

Tabelle 10 Gesamtbewertung der akuten GVHD gemäß der *Consensus Conference on Acute GVHD Grading* (344)

Gesamt-Grad	Hautbeteiligung	Darmbeteiligung	Leberbeteiligung
I	Grad I-II	Keine	keine
II	Grad III	keine oder Grad I	keine oder Grad I
	keine oder Grad I-III	Grad I	keine oder Grad I
	keine oder Grad I-III	keine oder Grad I	Grad I
III	keine oder Grad I-III	keine oder Grad I-III	Grad II-IV
	keine oder Grad I-III	Grad II-III	keine oder Grad I-IV
IV	Grad IV	keine oder Grad I-IV	keine oder Grad I-IV
	keine oder Grad I-IV	Grad IV	keine oder Grad I-IV

Den klassischen Kriterien zur Klassifikation der chronischen GVHD zu Folge wurden eine *limited* cGVHD und eine *extensive* cGVHD unterschieden. Die begrenzte (*limited*) cGVHD ist klinisch durch einen lokalisierten Hautbefall in Kombination mit oder ohne Leberfunktionsstörungen gekennzeichnet. Bei der ausgedehnten (*extensive*) cGVHD zeigt sich eine generalisierte Hautbeteiligung oder eine lokalisierte Hautbeteiligung in Verbindung mit weiteren diagnostisch/bioptisch geschichteten Organbeteiligungen. (216) Zum Vergleich siehe Tabelle 11.

Tabelle 11 Klassifikation der chronischen GVHD nach Shulman (343)

Begrenzte chronische GVHD (<i>limited</i> cGVHD)
1. Lokalisierter Hautbefall und/oder
2. Leberdysfunktion durch die chronische GVHD
Ausgedehnte chronische GVHD (<i>extensive</i> cGVHD)
1. Generalisierter Hautbefall oder
2. Lokalisierter Hautbefall und/oder Leberdysfunktion durch die chronische GVHD und zusätzlich mindestens eines der folgenden Kriterien:
a. Leberhistologie mit chronisch-aggressiver Hepatitis oder Brücken-bildenden Nekrosen oder Zirrhose
b. Augenbeteiligung (Schirmer-Test mit weniger als 5 mm Befeuchtung)
c. Beteiligung der kleinen Speicheldrüsen oder der Mundschleimhaut, gesichert durch eine Lippenbiopsie
d. Beteiligung eines anderen Zielorgans

cGVHD = Chronische Transplantat-gegen-Wirt Erkrankung (*Chronic Graft-versus-Host Disease*), mm = Millimeter

Seit dem Jahr 2005 standen zusätzlich die Kriterien des *NIH-Consensus (National Institute of Health Consensus)* (217) zur GVHD-Klassifikation zur Verfügung. Sie wurden in dieser Studie ergänzend zu den klassischen Klassifikationssystemen angewandt.

Im Gegensatz zu den klassischen Klassifikationssystemen heben die *Consensus*-Kriterien die zeitorientierte Definition der akuten und chronischen GVHD mit dem Tag +100 als starrer Grenze auf. Den *Consensus*-Kriterien zu Folge, kann eine akute GVHD auch über den Tag +100 hinausgehend andauern, im Verlauf nach Tag +100 wiederkehren oder erst nach Tag +100 neu auftreten (sogenannte *persistant, recurrent* oder *late onset aGVHD*). Andersherum kann die chronische GVHD auch vor Tag +100 beginnen oder mit den Symptomen einer akuten GVHD überlappen (sogenannte *early onset cGVHD* und sogenanntes *Overlap Syndrom*). Tabelle 12 verdeutlicht die Definition der akuten und chronischen GVHD anhand der dynamischen Kriterien des *NIH-Consensus*. (217)

Tabelle 12 Kategorien der akuten und chronischen GVHD gemäß den NIH-Consensus Kriterien (217)

Kategorie	Zeitpunkt des Beginns	Zeichen der aGVHD	Zeichen der cGVHD
Akute GVHD			
Klassische aGVHD (<i>classic</i>)	≤ 100 Tage	ja	nein
Persistierende, rezidivierende oder späte aGVHD (<i>persistant, recurrent, late onset</i>)	> 100 Tage	ja	nein
Chronische GVHD			
Klassische cGVHD (<i>classic</i>)	zeitlich nicht limitiert	nein	ja
Mischbild aus aGVHD und cGVHD (<i>Overlap Syndrom</i>)	zeitlich nicht limitiert	ja	ja

aGVHD = Akute Transplantat-gegen-Wirt Erkrankung (*Acute Graft-versus-Host Disease*), cGVHD = Chronische Transplantat-gegen-Wirt Erkrankung (*Chronic Graft-versus-Host Disease*)

An Stelle des Zeitpunktes des GVHD-Auftretens basieren die Definitionen der akuten und chronischen GVHD in den *Consensus*-Kriterien auf spezifischen Symptomen und Befunden. Für die Diagnose einer chronischen GVHD existieren drei verschiedene Symptom-Klassen mit unterschiedlicher diagnostischer Relevanz. So werden die diagnoseführenden Symptome (ausreichend für die Diagnose einer cGVHD), die typischen Symptome (werden nicht bei einer aGVHD beobachtet, sind jedoch nicht ausreichend für die Diagnose einer cGVHD), weitere unspezifische Symptome der cGVHD und gemeinsame Symptome von aGVHD und cGVHD unterschieden. Für die definitive Diagnose einer chronischen GVHD muss mindestens ein diagnoseführendes Symptom oder mindestens ein typisches Symptom, das durch bioptische oder laborchemische Untersuchungen bestätigt wurde, vorliegen (Siehe Tabelle 1 im Anhang).

Der *NIH-Consensus* betrachtet neben den drei Hauptmanifestationsorten Haut, Leber und Darm zudem die Augen, den Mund, die Lunge, das muskuloskeletale System wie auch das hämatopoietische und Immunsystem bei der Beurteilung einer chronischen GVHD. Anders als bei der klassischen cGVHD-Klassifikation nach Shulman wird jede Organbeteiligung mit einem Schweregrad I-IV bewertet (Siehe Tabelle 2 im Anhang). Die Anzahl der betroffenen Organe, sowie der Schweregrad der Organbeteiligung gehen letzten Endes in die Risikobewertung der chronischen GVHD ein. Demnach werden eine milde (*mild*), eine moderate (*moderate*) und eine schwere chronische GVHD (*severe*) unterschieden. Siehe Tabelle 13. (217)

Tabelle 13 Risikoklassifikation der chronischen GVHD gemäß den NIH-Consensus Kriterien (217)

	Niedriges Risiko (mild cGVHD)	Mittleres Risiko (moderate cGVHD)	Hohes Risiko (severe cGVHD)
Anzahl der betroffenen Organsysteme	1-2	≥ 3	≥ 3
Schwere der Organmanifestationen (Lungenmanifestation ausgenommen)	Grad I	≥ Grad II oder Lunge Grad I	≥ Grad II oder Lunge Grad II-III
Risikoparameter: Trombozytopenie und/oder progressiver Beginn	1 Risikoparameter	1 Risikoparameter	2 Risikoparameter
Karnofski-Index	≥ 80 %	< 80 %	< 80 %
<ul style="list-style-type: none"> • Hohes Risiko: Mittleres Risiko + Thrombozytopenie und <i>progressive onset</i> oder Lunge Grad II-III • Mittleres Risiko: 3 oder mehr Organsysteme, Schwere der Organmanifestation > 2, oder progressiver Beginn oder Thrombozytopenie 			

cGVHD = Chronische Transplantat-gegen-Wirt Erkrankung (*Chronic Graft-versus-Host Disease*)

3.6 Datenerhebung und statistische Analyse

3.6.1 Erhebungsparameter

Parameter, die für diese Arbeit erhoben wurden, können chronologisch in prätherapeutische, therapeutische und posttherapeutische Parameter unterteilt werden. Gemäß dieser Gliederung, werden alle Erhebungsparameter im Folgenden aufgelistet. Ausgewählte Parameter wurden in dieser Arbeit univariat wie auch multivariat analysiert.

Prätherapeutische Parameter

Patientenspezifisch

- Alter
- Geschlecht
- Komorbidität: Erhebung des BSZT-spezifischen Komorbiditätsindex (HCT-CI)

Krankheitsspezifisch

- Diagnose zum Zeitpunkt der BSZT
- Erstdiagnose und Diagnose zum Zeitpunkt der BSZT nach FAB
- Erstdiagnose und Diagnose zum Zeitpunkt der BSZT nach WHO
- Karyotyp zum Zeitpunkt der BSZT
- Zytogenetisches Risiko klassifiziert nach MRC- und SWOG-Kriterien
- Molekulargenetik zum Zeitpunkt der BSZT

Vortherapie

- Vortherapie: Anzahl der verabreichten Chemotherapiezyklen vor BSZT
- Ansprechen auf die Vortherapie: Primäres Induktionsversagen und refraktäre Erkrankung
- Krankheitsstatus zum Zeitpunkt der BSZT
- Anzahl der Blasten im Knochenmark zum Zeitpunkt der BSZT

Therapeutische Parameter

FLAMSA-Protokoll

- Amsacrin-Dosis in mg pro m² Körperoberfläche
- Fludarabin-Dosis in mg pro m² Körperoberfläche
- Cytarabin-Dosis in mg pro m² Körperoberfläche
- Art der Konditionierung: FLAMSA mit Melphalan, Melphalan und Thiotepa oder Treosulfan
- Melphalan-Dosis in mg pro m² Körperoberfläche
- Treosulfan-Dosis in g pro m² Körperoberfläche
- Thiotepa-Dosis in mg pro kg Körpergewicht
- ATG-Applikation und ATG-Gesamtdosis in mg
- Anzahl der Applizierten CD34+ Zellen pro kg Körpergewicht

Spender und Transplantat

- Verwandtschaftsgrad des Spenders: Familien- und Fremdspender
- Spender-Geschlecht und Geschlechterrelation zwischen Spender und Empfänger
- CMV-Status und Relation des CMV-Status zwischen Spender und Empfänger
- Übereinstimmungen in den *HLA*-Merkmalen zwischen Spender und Empfänger: Allel- und Antigen-*mismatch*
- Anzahl der transplantierten CD34+ Zellen

Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor

- G-CSF-Gabe
- Dauer der Applikation

Posttherapeutische Parameter

Hämatologische und immunologische Rekonstitution

- Tag der Leukozytenrekonstitution nach BSZT
- Tag der Thrombozytenrekonstitution nach BSZT
- Anzahl der Leukozyten, Lymphozyten und eosinophilen Granulozyten an Tag 28 und 100 nach BSZT
- Immunstadien in den Zeiträumen Tag 0-50, Tag 50-100, Tag 100-150, Tag 150-200, Tag 200-300 und Tag 300-400 nach BSZT
Pro Immunstatus wurden folgende Lymphozytenpopulationen dokumentiert:
 - CD4-positive Zellen (T-Helferzellen)
 - CD8-positive Zellen (zytotoxische T-Zellen)
 - CD56-positive Zellen (natürliche Killerzellen/NK-Zellen)
 - CD19-positive Zellen (B-Zellen)

Remissionskontrollen

- Zytomorphologie und Zytochemie des Knochenmarks, oftmals ergänzt durch Immunzytologie
- Chimärismus-Analysen an Tag 28 und Tag 100 nach BSZT, aus dem Knochenmark und aus dem peripheren Blut

Rezidiv

- Rezidiv
- Art des Rezidivs: Drohend, molekulargenetisch, hämatologisch
- Tag der Rezidiv-Diagnose nach BSZT
- Rezidivtherapie
- DLI-Gabe und Grund der DLI-Gabe: bei ausbleibender GVHD und hohem Rezidivrisiko, bei drohendem Rezidiv oder zwecks Rezidivtherapie

Graft-versus-Host Disease

- Auftreten einer akuten GVHD
- Tag des Beginns der akuten GVHD
- Schweregrad der akuten GVHD klassifiziert nach Glucksberg und *NIH-Consensus*
- Organsysteme, die von der akuten GVHD betroffen sind
- Therapie der akuten GVHD
- Auftreten der chronischen GVHD
- Tag des Beginns der chronischen GVHD
- Schweregrad der akuten GVHD klassifiziert nach Shulmann und *NIH-Consensus*
- Organsysteme, die von der chronischen GVHD betroffen sind
- Therapie der chronischen GVHD
- GVHD-Aktivität zum Zeitpunkt der letzten Nachbeobachtung

Immunsuppression

- Tag des Absetzens von MMF nach BSZT
- Tag des Absetzens von Prograf nach BSZT
- Umstellung von Prograf auf ein anderes Immunsuppressivum und dessen Grund
- Immunsuppressive Therapie zum Zeitpunkt der letzten Nachbeobachtung

Tod

- Tag des Todes nach BSZT
- Todesursache

Nachbeobachtung

- Tag der letzten Nachbeobachtung nach BSZT
- Remissionsstatus zum Zeitpunkt der letzten Nachbeobachtung

3.6.2 Erläuterungen zum Vorgehen der Datenerhebung

Die Daten dieser Studie wurden in Eigenarbeit aus Ambulanz- und Stations-Akten des Universitäts-Archivs zusammen getragen. Ergänzend wurden Laborwerte und Informationen aus Arztbriefen dem Krankenhaus-Informationen-System des Universitätsklinikums entnommen.

Die Klassifikationen der Diagnose (WHO), der Komorbidität (HCT-CI), des zytogenetischen Risikos (MRC und SWOG) vor Transplantation sowie der GVHD im Verlauf nach der Transplantation, wurden ebenfalls eigenständig durchgeführt. Einen besonderen Aufwand erforderte die Klassifikation der GVHD, die zum einen mit klassischen Klassifikationssystemen (Glucksberg für aGVHD und Shulman für cGVHD) und zum anderen nach den *NIH-Consensus* Kriterien erfolgte. Es gestaltete sich schwierig, eine GVHD anhand von klinischen Symptomen und Laborwerten eindeutig zu identifizieren. Chemotherapie- und Medikamenten-Nebenwirkungen einerseits und Infektionen andererseits konnten das Bild einer GVHD vortäuschen. Häufig konnte die Diagnose der GVHD erst im weiteren Verlauf mittels Ausschlussverfahren oder einer Organbiopsie eindeutig geklärt werden. Für eine korrekte

GVHD-Klassifikation war es daher erforderlich, differentialdiagnostisch vorzugehen. Das klinische Bild, Infektionsparameter im Labor, Ergebnisse molekularbiologischer Untersuchungen und das Medikamentenprofil mussten bedacht und kombiniert werden.

Für Informationen über die Immunrestitution im Verlauf nach BSZT wurden FACS-Ergebnisse aus dem Archiv und der elektronischen Datenbank des Immunhistochemie-Labors der MNR-Klinik herausgesucht und dokumentiert.

3.6.3 Statistische Auswertung

Die Daten dieser unizentrischen Studie wurden retrospektiv analysiert. Die mediane Nachbeobachtungszeit des gesamten Kollektivs betrug 1347 Tage (Spanne: 187 - 3564 T), die des FLAMSA-Melphalan Kollektivs 1340 Tage (Spanne: 187 - 3564 T). Für beide Kollektive entspricht das etwa 3,7 Jahren (Spanne: 0,5 - 9,8 J). Endpunkte der Studie waren das Gesamtüberleben (*Overall Survival*, OS), das krankheitsfreie Überleben (*Disease-Free Survival*, DFS), die Rezidivrate (*Relapse Rate*, RR), die therapieassoziierte Mortalität (*Treatment Related Mortality*, TRM), sowie die Inzidenz der akuten und chronischen Spender-gegen-Empfänger Erkrankung (*Graft-versus-Host Disease*, aGVHD und cGVHD). Um potentielle Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung von Risikofaktoren in zwei Gruppen aufzudecken, wurde der *chi-square* Test und der *Student's t* Test für kategoriale Variablen angewandt. Um den Mittelwert kontinuierlicher Variablen in zwei Gruppen zu vergleichen, wurde der *Mann-Whitney-U-Test* verwendet.

Patienten, die vor Tag +21 verstarben und bis dahin kein Anwachsen der Spenderzellen (*Engraftment*) zeigten, wurden bei den Analysen zum *Engraftment* nicht mitberücksichtigt. Patienten, die nach Tag +28 verstarben und kein *Engraftment* zeigten, wurden als Transplantatversager (*Graft Failure*) gewertet. Zwecks Schätzung der Inzidenz der akuten GVHD, wurden nur Patienten, die Tag 21 nach BSZT überlebten und bei denen kein *Graft Failure* beobachtet wurde, berücksichtigt. Gleichermaßen gingen in die Schätzung der cGVHD-Inzidenz nur Patienten ein, die Tag 100 nach BSZT überlebten.

Das geschätzte Gesamtüberleben (OS) wurde definiert als die Zeit zwischen der Transplantation und dem Tod des Patienten, ganz gleich welcher Todesursache. Die therapieassoziierte Mortalität (TRM) wurde definiert als Tod in Folge von Infektionen, GVHD oder Medikamenten-Toxizität, ohne einen Hinweis auf eine Rückkehr oder einen Fortschritt der Grunderkrankung. Die geschätzte Rezidivrate (RR) wurde definiert als Zeit zwischen der Transplantation und der Rückkehr der Erkrankung. Alle Zeit-bis-Ereignis Zielgrößen (OS, DFS, RR, TRM, GVHD) wurden mittels der Kaplan-Meier Methode geschätzt. (339) Für die Schätzung des Gesamtüberlebens wurde der Tod, unabhängig von dessen Ursache, als Ereignis gewertet. Für die Schätzung des krankheitsfreien Überlebens (DFS) wurde die

Rückkehr der Erkrankung oder der Tod, unabhängig von dessen Ursache, gewertet. Patienten, die das jeweilige Ereignis während des Beobachtungszeitraums nicht zeigten, wurden am letzten Tag der Nachbeobachtung zensiert.

Im Rahmen der univariaten Analysen, nutzten wir den *log-rank* Test, um die Zeit-bis-Ereignis Kurven von verschiedenen Gruppen miteinander zu vergleichen. Ergebnisse mit einem p-Wert $< 0,05$ wurden als signifikant betrachtet, Ergebnisse mit einem p-Wert zwischen 0,05 und 0,065 als marginalsignifikant. Der Einfluss von ATG auf die sechs Zielgrößen OS, DFS, RR, TRM, aGVHD und cGVHD wurde auf diesem Wege aufgedeckt. Des Weiteren führten wir univariate Analysen durch, um den Einfluss der Immunrestitution auf das Gesamtüberleben, das krankheitsfreie Überleben, die Rezidivrate, die therapieassoziierte Mortalität und die chronische *Graft-versus-Host Disease* zu prüfen. Für fünf aufeinanderfolgende Zeiträume, nämlich Tag 50-100, Tag 100-150, Tag 150-200, Tag 200-300 und Tag 300-400 nach Transplantation, wurde der Einfluss der T-Helfer Lymphozyten-, T-Suppressor Lymphozyten-, Natürliche Killerzell- und der B-Lymphozyten-Restitution untersucht. Für jede der fünf Posttransplantationsperioden und für jede einzelne Zelllinie, verglichen wir Patienten, deren Zellzahlen in der jeweiligen Posttransplantationsperiode über dem Median lagen mit Patienten, deren Zellzahlen entsprechend unter dem Median lagen. In den Analysen wurden nur Patienten berücksichtigt, die am Ende der jeweiligen Posttransplantationsepisode noch am Leben waren und bei denen das betrachtete Ereignis bis zum Ende der jeweiligen Posttransplantationsepisode noch nicht eingetreten war. Beispielsweise betrachteten wir bei der Analyse zu dem Einfluss der Immunrestitution zwischen Tag 200 und 300 auf die Rezidivrate, nur Patienten, die an Tag +300 noch am Leben und rezidivfrei waren.

Im Anschluss an die univariaten Analysen wurden die Variablen mit einem p-Wert von $\leq 0,10$, in die multivariaten Analysen eingeschlossen. Für die multivariaten Analysen wählten wir ein Cox-Regressions Model mit einer "*stepwise backward*" Methode. (340) Hierbei konnten nur Variablen, bei denen ein vollständiger Datensatz vorlag, in das Modell eingeschlossen werden. Variablen des Posttransplantationsverlaufes, wie die Entwicklung einer GVHD und das Ausmaß der Immunrestitution, waren aus diesem Grund nicht Teil der multivariaten Untersuchungen. Sämtliche Analysen wurden mit der SPSS 20.0 Statistik Software durchgeführt (SPSS Software GmbH, München, Deutschland).

4 Ergebnisse

4.1 Das Studienkollektiv

4.1.1 Aufteilung des Gesamtkollektivs anhand der Konditionierung

Zwischen Dezember 2002 und September 2012 wurden in der Klinik für Hämatologie, Onkologie und Klinische Immunologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf insgesamt 150 Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Neoplasien nach einem FLAMSA-basierten sequenziellen Konditionierungsschema behandelt und anschließend frühzeitig allogene Stammzelltransplantiert. Das ursprüngliche Protokoll (FLAMSA-AMT) aus dem Jahr 2002 sah für Patienten, die eine komplette Remission vor der Transplantation erreichten, ergänzend zu der Konditionierung mit FLAMSA die Applikation der alkylierenden Zytostatika Melphalan und Thiotepa vor (FLAMSA-Mel-Thio). Bei Patienten ohne Erreichen einer kompletten Remission wurde hingegen FLAMSA nur in Kombination mit Melphalan eingesetzt (FLAMSA-Mel). In dem Zeitraum zwischen Dezember 2002 und Dezember 2005 wurden insgesamt 34 Patienten mit der Kombination FLAMSA plus Melphalan und Thiotepa konditioniert. Erstmals im Jahr 2006 wurde das Überleben von 50 Patienten, die mit dem Düsseldorfer FLAMSA-AMT-Protokoll behandelten worden waren, ausgewertet. Im Vergleich zu Patienten mit der Konditionierung FLAMSA-Mel zeigten Patienten, die mit der Kombination aus Melphalan und Thiotepa konditioniert wurden, eine signifikant erhöhte therapieassoziierte Mortalität und ein vermindertes Gesamtüberleben (1-J-OS: 41 % für FLAMSA-Thio-Mel vs. 72 % für FLAMSA-Mel, $p = 0,02$). Basierend auf dieser Erkenntnis wurde das Düsseldorfer FLAMSA-Protokoll dahingehend abgeändert, dass Thiotepa nicht mehr im Rahmen der Konditionierung eingesetzt wurde. Seit Juni 2006 erfolgte die Konditionierung allein mit Melphalan (FLAMSA-Mel). Ab dem Jahr 2011 wurde bei einzelnen Patienten höheren Alters mit ausgeprägten Komorbiditäten Melphalan durch Treosulfan ersetzt. Das Gesamtkollektiv aus insgesamt 150 Patienten setzt sich folglich im Hinblick auf die Konditionierung heterogen zusammen: 34 Patienten erhielten eine Konditionierung mit Melphalan in Kombination mit Thiotepa (FLAMSA-Mel-Thio). 105 Patienten erhielten eine Konditionierung nur mit Melphalan (FLAMSA-Mel). Bei insgesamt 11 Patienten wurde Melphalan durch Treosulfan ersetzt (FLAMSA-Treo). Um Interferenzen der Konditionierung zu vermeiden, fokussierte die vorliegende Arbeit bei der Analyse des Transplantationsergebnisses und bei den Untersuchungen zum Einfluss von ATG, auf das Studienprotokoll FLAMSA-Melphalan.

4.1.2 Das Patientenkollektiv FLAMSA-Melphalan

Insgesamt wurden 105 Patienten mit der Konditionierung FLAMSA-Melphalan (FLAMSA-Mel) behandelt. Das mediane Alter, der mit FLAMSA-Mel behandelten Patienten, betrug zum Zeitpunkt der allogenen BSZT 52 Jahre (Spanne: 20-68). Gemäß dem *Hematopoietic Cell Transplantation Comorbidity Index* (HCT-CI) war die Komorbidität in unserem Studienkollektiv gleichmäßig verteilt: Jeweils ein Drittel der Kohorte war Teil der Niedrigrisiko-Gruppe (0 Punkte), der Gruppe mit mittlerem Risiko (1-2 Punkte) und der Hochrisiko-Gruppe (≥ 3 Punkte) (341–344). Zum Zeitpunkt der Transplantation litten 52 Patienten an einer De Novo AML (50 %), 26 Patienten an einer sekundären AML (25 %), 18 Patienten an einem MDS (17 %) und 9 Patienten hatten die Diagnosen MPN oder MPN/MDS (9 %, darunter 3 Patienten mit einer typischen und 1 Patient mit einer atypischen CML, 4 Patienten mit einer CMML und 1 Patient mit einer Mastzelleukämie). Insgesamt wurden 28 Patienten *First-line*, ohne jegliche Vortherapie, mit FLAMSA-Mel therapiert (27 %, hierunter 16 MDS, 9 sAML und 3 MPE; MPE: MPN & MDS/MPN). Unter den 77 Patienten mit einer Vortherapie war bei 42 ein primäres Induktionsversagen in der Vorgeschichte bekannt (55 %). Zum Zeitpunkt der Transplantation befanden sich 22 Patienten in erster kompletter Remission (27 %), 12 in erster Teilremission (16 %) und bei 9 Patienten war die Erkrankung primär refraktär (12 %). Insgesamt erlitten 34 Patienten ein Rezidiv vor der allogenen BSZT (32 %). Bei 28 Patienten war es das erste Rezidiv der Erkrankung, bei 5 Patienten das zweite und ein Patient hatte vier Rezidive in der Vorgeschichte erlitten. Unter den 34 Patienten mit einem Rezidiv in der Vorgeschichte, handelte es sich bei 9 Patienten um ein Frührezidiv und bei 10 Patienten um ein refraktäres Rezidiv. Im Falle einer Vortherapie vor der Konditionierung mit FLAMSA-Mel wurden im Median 3 Chemotherapiezyklen (Spanne: 1-13) appliziert. Der SWOG-Klassifikation zu Folge hatte 1 Patienten einen günstigen Karyotyp (1 %), 49 einen intermediären (47 %, 41 normal und 8 andere), 40 Patienten einen ungünstigen Karyotyp (38 %) und 15 Patienten hatten eine unbekannt Karyotyp-Veränderung (14 %). Gemäß den MRC-Kriterien waren die Patienten folgendermaßen in den zytogenetischen Risikogruppen vertreten: 1 günstig, 41 intermediär/normal, 11 intermediär/andere, 31 ungünstig und 21 unbekannt. Im Rahmen der Spendersuche wurden die HLA-Merkmale von Patienten und Spender auf molekularer Ebene hochauflösend mittels Polymerase Kettenreaktion typisiert. Insgesamt verfügten 90 Patienten über einen in den HLA-Merkmalen A, B, C, DRB1 und DQB1 vollständig übereinstimmenden Spender (86 %, *Matched Donor*). Bei 15 Patienten lagen Unterschiede auf der Allel- oder Antigen-Ebene vor (14 %, *Mismatched Donor*). Bei 39 Patienten stand ein Familienspender zur Verfügung (37 %), wohingegen 66 Patienten mit einem Fremdspender transplantiert wurden (63 %). Mit 103 Transplantationen, waren periphere Blutstammzellen (PBSZ) die vorherrschende Stammzellquelle (98 %). Lediglich ein Patient erhielt ein Knochenmark-

Transplantat. Bei einem Patienten wurden periphere Blutstammzellen mit Nabelschnurblut kombiniert. Im Median wurde eine Anzahl von $7,8 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg Körpergewicht (Spanne: $2 - 38 \times 10^6$ /kg KG) transplantiert.

Im Folgenden geben die Tabellen 14 bis 18 einen Überblick über die Patienten-Charakteristika, die krankheitsspezifischen Charakteristika und die Spender-/Transplantat-Charakteristika in dem gesamten Studienkollektiv und in den drei Subkollektiven, aufgeteilt anhand der Konditionierung. Die erste Spalte der jeweiligen Tabelle zeigt die Häufigkeitsverteilung der einzelnen Charakteristika in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Melphalan.

Tabelle 14 Patienten-Charakteristika in dem Gesamtkollektiv und in den Subkollektiven anhand der Konditionierung

	FLAMSA-Mel n (%)	FLAMSA- Mel-Thio n (%)	FLAMSA-Treo n (%)	Gesamt-Kollektiv N (%)
Anzahl	105 (100)	34 (100)	11 (100)	150 (100)
<u>Patientenalter (Jahre)</u>				
Median	52	47	50	50
Spanne	20 - 68	17 - 57	37 - 69	17 - 69
<u>Patientengeschlecht</u>				
Männlich	58 (55)	25 (74)	5 (45)	88 (59)
Weiblich	47 (45)	9 (26)	6 (55)	62 (41)
<u>CMV-Status des Patienten</u>				
Negativ	48 (46)	14 (41)	3 (27)	65 (43)
Positiv	57 (54)	20 (59)	8 (73)	85 (47)
<u>BSZT-spezifischer Komorbiditätsindex</u>				
Niedriges Risiko (0 Punkte)	35 (33)	16 (47)	4 (36)	55 (37)
Mittleres Risiko (1- 2 Punkte)	35 (33)	8 (24)	4 (36)	47 (31)
Hohes Risiko (≥ 3 Punkte)	35 (33)	10 (29)	3 (28)	48 (32)

CMV = Cytomegalievirus, BSZT = Blutstammzelltransplantation

Tabelle 15 Krankheitsspezifische Charakteristika in dem Gesamtkollektiv und in den Subkollektiven anhand der Konditionierung

	FLAMSA-Mel n (%)	FLAMSA- Mel-Thio n (%)	FLAMSA-Treo n (%)	Gesamt-Kollektiv N (%)
Anzahl	105 (100)	34 (100)	11 (100)	150 (100)
<u>Diagnose vor BSZT</u>				
AML	78 (74)	23 (68)	9 (82)	110 (73)
- De Novo	52 (50)	11 (32)	8 (73)	71 (47)
- sekundär	26 (25)	12 (35)	1 (9)	39 (26)
MDS	18 (17)	5 (15)	2 (18)	25 (17)
MPN & MPN/MDS	9 (9)	6 (18)	0 (0)	15 (10)
<u>Therapieassoziation</u>				
Ja	17 (16)	8 (24)	2 (18)	27 (18)
nein	88 (84)	26 (76)	9 (82)	123 (82)
<u>Zytogenetik</u>				
MRC-Kriterien				
<i>Favorable</i>	1 (1)	2 (6)	0 (0)	3 (2)
<i>Intermediate, normal</i>	41 (39)	7 (21)	7 (64)	55 (37)
<i>Intermediate, others</i>	11 (10)	2 (6)	1 (9)	14 (9)
<i>Unfavorable</i>	31 (30)	15 (44)	2 (18)	48 (32)
<i>Unknown</i>	21 (20)	8 (23)	1 (9)	30 (20)
SWOG-Kriterien				
<i>Favorable</i>	1 (1)	2 (6)	0 (0)	3 (2)
<i>Intermediate, normal</i>	41 (39)	7 (21)	7 (64)	55 (37)
<i>Intermediate, others</i>	8 (8)	0 (0)	0 (0)	8 (5)
<i>Unfavorable</i>	40 (38)	19 (56)	4 (36)	63 (42)
<i>Unknown</i>	15 (14)	6 (18)	0 (0)	21 (14)
<u>Therapiestatus</u>				
Vortherapie	77 (73)	29 (85)	8 (73)	114 (75)
<i>First-line</i>	28 (27)	5 (15)	3 (27)	36 (25)
<u>Remissionsstatus</u>				
1. komplette Remission	22 (21)	9 (26)	5 (46)	36 (24)
1. Teilremission	12 (11)	6 (18)	1 (9)	19 (13)
Primär refraktär	9 (9)	4 (12)	0 (0)	13 (9)
Rezidiv	34 (32)	10 (29)	2 (18)	46 (31)

MRC = Medical Research Council des United Kingdom, SWOG = Southwest Oncology Group der United States of America, BSZT = Blutstammzelltransplantation

Tabelle 16 Krankheitsspezifische Charakteristika: FAB-Diagnose zum Zeitpunkt der Blutstammzelltransplantation

	FLAMSA-Mel n (%)	FLAMSA-Mel-Thio n (%)	FLAMSA-Treo n (%)	Gesamt-Kollektiv N (%)
Anzahl	105 (100)	34 (100)	11 (100)	150 (100)
MDS	26 (25)	5 (15)	2 (18)	33 (22)
RA	4 (4)	0 (0)	0 (0)	4 (3)
RARS	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
RAEB	15 (14)	5 (15)	2 (18)	22 (15)
CMMML	4 (4)	0 (0)	0 (0)	4 (3)
RAEB-T	3 (3)	0 (0)	0 (0)	3 (2)
AML	57 (54)	15 (44)	7 (63)	79 (53)
M0	1 (1)	2 (6)	0 (0)	3 (2)
M1	13 (12)	2 (6)	0 (0)	15 (10)
M2	17 (16)	5 (15)	3 (27)	25 (17)
M3	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
M4	13 (12)	1 (3)	2 (18)	16 (11)
M5	10 (10)	2 (6)	2 (18)	14 (9)
-M5a	4	-	1	5
-M5b	2	-	-	2
M6	3 (3)	3 (9)	0 (0)	6 (4)
MPN & MPN/MDS	5 (5)	6 (18)	0 (0)	11 (7)
CML	4 (4)	6 (18)	0 (0)	10 (7)
OMF	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
PV	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
ET	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Mastzellleukämie	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
FAB-Diagnose fehlend	17 (16)	8 (24)	2 (18)	27 (18)

Tabelle 17 Krankheitsspezifische Charakteristika: WHO-Diagnose zum Zeitpunkt der Blutstammzelltransplantation

	FLAMSA-Mel n (%)	FLAMSA- Mel-Thio n (%)	FLAMSA-Treo n (%)	Gesamt-Kollektiv N (%)
Anzahl	105 (100)	34 (100)	11 (100)	150 (100)
MDS	13 (12)	1 (3)	1 (9)	15 (10)
RCMD	2 (2)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
RAEB	11 (11)	1 (3)	1 (9)	13 (9)
- RAEB I	3	1	0	4
- RAEB II	8	0	1	9
AML	65 (62)	19 (56)	8 (73)	92 (61)
<i>With recurrent genetic abnormalities</i>				
- AML Inv 16	0	2 (6)	0 (0)	2 (4)
- AML t(9;11)	2	0	0	2
- AML t(8;21)	1	0	0	1
<i>MDS related changes</i>	29 (28)	13 (38)	3 (27)	45 (30)
NOS	33 (32)	4 (12)	5 (45)	42 (28)
Therapieassoziierte myeloische Neoplasien				
myeloische Neoplasien	17 (16)	8 (24)	2 (18)	27 (18)
- AML	11	4	1	16
- MDS	6	4	1	11
MPN & MPN/MDS	9 (9)	6 (18)	0 (0)	15 (10)
CML-Ph+	3 (3)	5 (15)	0 (0)	8 (5)
OMF	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
PV	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
ET	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Mastzelleukämie	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Atypische CML	1 (1)	1 (3)	0 (0)	2 (1)
CMML I	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
CMML II	3 (3)	0 (0)	0 (0)	3 (2)
WHO-Diagnose fehlend	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)

Tabelle 18 Spender- und Transplantat-Charakteristika in dem Gesamtkollektiv und in den Subkollektiven anhand der Konditionierung

	FLAMSA-Mel n (%)	FLAMSA- Mel-Thio n (%)	FLAMSA-Treo n (%)	Gesamt-Kollektiv N (%)
Anzahl	105 (100)	34 (100)	11 (100)	150 (100)
<u>Spender-Geschlecht</u>				
Männlich	65 (62)	21 (62)	5 (45)	91 (61)
Weiblich	40 (38)	13 (38)	6 (55)	59 (39)
<u>Geschlechterrelation</u>				
Spender m/ Patient m	34 (32)	15 (44)	1 (9)	50 (33)
Spender w/ Patient w	16 (15)	3 (9)	2 (18)	21 (14)
Spender m/ Patient w	31 (30)	6 (18)	4 (36)	41 (27)
Spender w/ Patient m	24 (23)	10 (29)	4 (36)	38 (25)
<u>Verwandtschaftsgrad</u>				
Fremdspender	66 (37)	24 (71)	8 (73)	98 (65)
Familienspender	39 (63)	10 (29)	3 (27)	52 (35)
<u>HLA-Kompatibilität</u>				
HLA-identisch/-kompatibel	90 (86)	25 (74)	9 (82)	124 (83)
HLA- <i>mismatch</i>	15 (14)	9 (26)	2 (18)	26 (17)
- 9/10	9	8	2	19
- 8/10	4	1	0	5
- 6/10	2	0	0	2
<u>CMV-Status des Spender</u>				
Negativ	57 (54)	16 (47)	4 (36)	77 (51)
Positiv	48 (46)	18 (53)	7 (64)	73 (49)
<u>Relation des CMV-Status</u>				
Spender ^{neg.} / Patient ^{neg.}	37 (35)	10 (29)	3 (27)	50 (33)
Spender ^{pos.} / Patient ^{pos.}	36 (34)	13 (38)	7 (64)	56 (37)
Spender ^{neg.} / Patient ^{pos.}	20 (19)	6 (18)	1 (9)	27 (18)
Spender ^{pos.} / Patient ^{neg.}	12 (11)	5 (15)	0 (0)	17 (11)
<u>Transplantatquelle</u>				
PBSZ	103 (98)	29 (85)	11 (100)	143 (95)
KM	1 (1)	5 (15)	0 (0)	6 (4)
PBSZ & NB	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
<u>Anzahl der CD34+ Zellen im Transplantat (10⁶/kg KG)</u>				
Median	7,79	7,22	7,40	7,60
Spanne	2 - 38	1 - 15	4 - 13	1 - 38

HLA = Humanes Leukozyten-Antigen, CMV = Cytomegalievirus, PBSZ = Periphere Blutstammzellen, KM = Knochenmark, NB = Nabelschnurblut

4.2 Das Transplantationsergebnis nach der Konditionierung mit FLAMSA-Melphalan

Zwischen 2006 und 2012 wurden 105 Patienten in Düsseldorf nach dem FLAMSA-Mel Protokoll behandelt und allogene stammzelltransplantiert. Die mediane Nachbeobachtungsdauer des Kollektivs FLAMSA-Mel lag bei 1340 Tagen bzw. 3,7 Jahren (Spanne: 0,5 - 9,8 Jahre). Im Folgenden werden die vier Zielgrößen *Engraftment*, Gesamtüberleben, krankheitsfreies Überleben, Rezidivrate und therapieassoziierte Mortalität, sowie die Inzidenz der GVHD in dem Kollektiv FLAMSA-Mel dargestellt.

4.2.1 Engraftment und frühe hämatologische Rekonstitution

Insgesamt zeigten 101 Patienten (96 %) nach der allogenen Blutstammzelltransplantation ein regelrechtes *Engraftment*. Drei Patienten verstarben innerhalb der ersten 28 Tage nach der BSZT und bei einem Patienten zeigte sich ein Transplantatversagen (*Graft Failure*). Die mediane Zeit bis zur Regeneration der Leukozyten betrug 14 Tage (Spanne: 8 - 46 Tage) und die mediane Zeit bis zur Regeneration der Thrombozyten betrug 21 Tage (Spanne: 10 - 215 Tage). An Tag 28 nach der allogenen BSZT befanden sich 101 Patienten (96 %) in einer kompletten Remission, darunter 43 (41 %) mit einer persistierenden Zytopenie im peripheren Blutbild (CRp).

4.2.2 Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben

Der Zeitraum nach allogener Blutstammzelltransplantation kann in eine frühe und eine späte Phase untergliedert werden. Die frühe Phase erstreckt sich von der BSZT bis Tag 100 nach Transplantation. Die späte Phase beschreibt den Verlauf nach Tag +100.

In der frühen Posttransplantationsphase betrug die geschätzte Überlebensrate nach 31 Tagen 96,2 % (95%-KI: 94,3 % - 98,1 %) und nach 100 Tagen 90,5 % (95%-KI: 87,6 % - 93,4 %). Das entsprechende krankheitsfreie Überleben betrug nach 31 Tagen ebenfalls 96,2 % (95%-KI: 94,3 % - 98,1 %) und nach 100 Tagen 78,1 % (95%-KI: 74,1 % - 82,1 %). In der späten Posttransplantationsphase lag das geschätzte Gesamtüberleben nach einem Jahr bei 65,5 % (95%-KI: 60,8 % - 70,2 %), nach zwei Jahren bei 62,3 % (95%-KI: 57,5 % - 67,1 %) und nach vier Jahren bei 58,8 % (95%-KI: 53,7 % - 63,9 %). Das entsprechende krankheitsfreie Überleben lag bei 55,0 % (95%-KI: 50,1 % - 59,9 %) nach einem, bei 46,7 % (95%-KI: 41,8 % - 51,6 %) nach zwei und bei 36,3 % (95%-KI: 31,1 % - 41,5 %) nach vier Jahren. Im Median lebten die Patienten des Kollektivs 419 Tage, bzw. 1,1 Jahre (95%-KI: 0,0 Jahre - 2,3 Jahre, SF = 0,6) krankheitsfrei nach BSZT. Zum Vergleich siehe Abbildung 2.

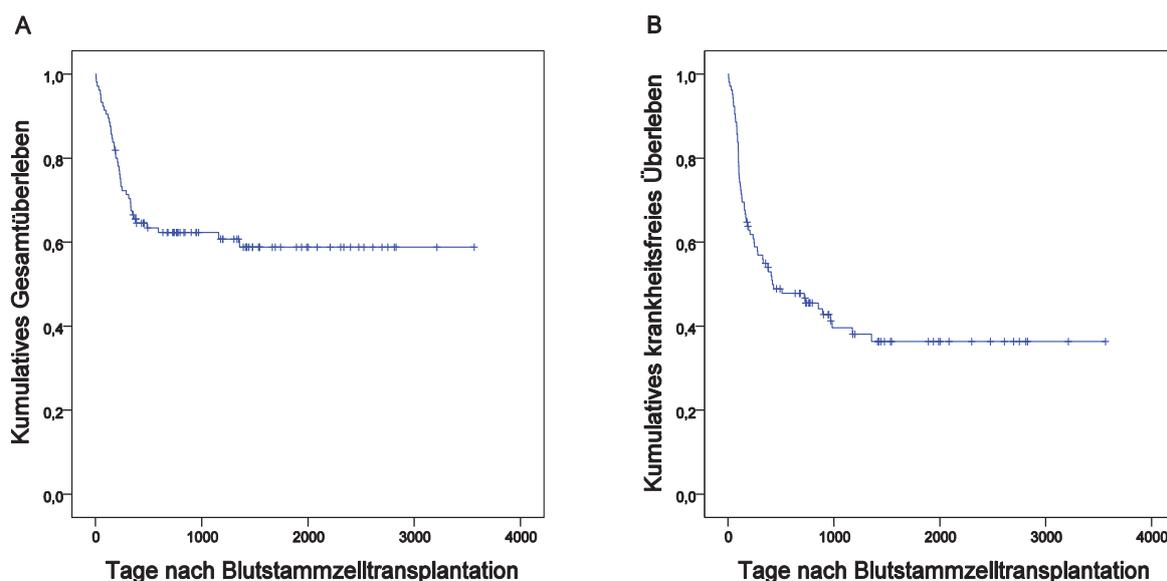


Abbildung 2 Gesamtüberleben (A) und krankheitsfreies Überleben (B) nach der Behandlung mit FLAMSA-Melphalan und anschließender allogener BSZT (N = 105).

Bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes im September 2012 verstarben insgesamt 41 der 105 Patienten (39,0 %). Der letzte dieser 41 Patienten verstarb 1354 Tage, bzw. 3,7 Jahre nach Studienbeginn. Die verbleibenden 64 Patienten lebten im Median 1340 Tage, bzw. 3,7 Jahre (Spanne: 0,5 - 9,8 Jahre). Die überlebenden Patienten waren zum Zeitpunkt der Transplantation im Median 49 Jahre (Spanne: 20 - 68 Jahre) alt. Siebenunddreißig der überlebenden Patienten waren männlich (57,8 %) und 27 weiblich (42,2 %). Von 64 überlebenden Patienten hatten 26 Stammzellen von einem Familienspender (40,6 %) und 38 von einem Fremdspender (59,4 %) erhalten. Bei 59 überlebenden Patienten handelte es sich um eine HLA-identische (92,2 %), bei 5 um eine HLA-*mismatched* Transplantation (7,8 %). Von 64 Überlebenden entwickelten insgesamt 49 Patienten eine GVHD im Verlauf nach Transplantation (76,6 %). Dabei handelte es sich bei 36 überlebenden Patienten um eine akute GVHD (73,5 %, aGVHD). Bei 12 Patienten trat die akute GVHD isoliert auf (20,3 %). Dreiundzwanzig der überlebenden Patienten mit einer akuten GVHD entwickelten im weiteren Verlauf auch eine chronische GVHD (cGVHD; 35,9 % aller GVHD-Fälle, 63,9 % aller aGVHD-Fälle und 63,9 % aller cGVHD-Fälle). Bei 13 überlebenden Patienten entwickelte sich die chronische GVHD *De Novo*, ohne dass zuvor eine akute GVHD aufgetreten war (20,3 %). Insgesamt zeigten 36 der überlebenden Patienten eine chronische GVHD im Verlauf nach Transplantation (56,3 %).

Von 36 überlebenden Patienten mit einer akuten GVHD, erreichten 29 Patienten maximal die Schweregrade I-II (80,6 %) und 7 Patienten maximal die Schweregrade III-IV (19,4 %). Von den insgesamt 36 cGVHD-Fällen, zeigten 32 Patienten ein limitiertes (88,9 %) und 4 Patienten ein ausgedehntes Krankheitsbild (11,1 %). Von insgesamt 49 überlebenden Patienten mit einer GVHD nach Transplantation, zeigten 23 Patienten zum Zeitpunkt der letzten Nachbeobachtung noch eine

GVHD-Aktivität (46,9 %) und 29 Patienten erhielten noch eine systemische Immunsuppression (59,2 %).

Bei 62 von 105 Patienten waren bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes die Ereignisse Rezidiv oder therapieassoziierter Tod eingetreten (59,0 %). Sechsvierzig Patienten entwickelten im Verlauf nach Transplantation ein Rezidiv (43,8 %), wobei 24 Patienten in Folge dieses Rezidivs verstarben (22,9 %). Sechzehn Patienten verstarben in Folge therapieassoziierter Komplikationen, ohne dass zuvor ein Rezidiv aufgetreten war (15,2 %).

Zum Zeitpunkt der letzten Nachbeobachtung lebten insgesamt 64 von 105 Patienten (61,0 %). Jedoch lebten nur 43 von 105 Patienten (41,0 %), ohne ein Rezidiv während des Posttransplantationsverlaufs erlitten zu haben.

4.2.3 Rezidivrate

Im Hinblick auf die Rezidivrate nach BSZT werden eine frühe und eine späte Rezidivrate voneinander unterschieden. Die frühe Rezidivrate bezieht sich auf die ersten 180 bis 360 Tage des Posttransplantationsverlaufes, die späte Rezidivrate auf den Verlauf nach einem Jahr.

Die frühe Rezidivrate lag einen Monat nach Transplantation bei 0,0 %, 100 Tage nach BSZT bei 13,5 % (95%-KI: 10,0 % - 17,0 %), 180 Tage nach BSZT bei 25,2 % (95%-KI: 20,7 % - 29,7 %) und ein Jahr nach BSZT bei 34,4 % (95%-KI: 29,4 % - 39,4 %). Dementsprechend betrug die geschätzte rezidivfreie Überlebensrate nach 31 Tagen 100 %, nach 100 Tagen 86,5 % (95%-KI: 83,0 % - 90,0 %), nach 180 Tagen 74,8 % (95%-KI: 70,3 % - 79,3 %) und nach einem Jahr 65,6 % (95%-KI: 60,6 % - 70,6 %). Die späte Rezidivrate betrug nach zwei Jahren 44,3 % (95%-KI: 39,0 % - 49,6 %) und nach vier Jahren 54,6 % (95%-KI: 48,8 % - 60,4 %). Die geschätzte rezidivfreie Überlebensrate betrug dementsprechend nach zwei Jahren 55,7 % (95%-KI: 50,4 % - 61,0 %) und nach vier Jahren 45,4 % (95%-KI: 39,6 % - 51,2 %). Siehe Abbildung 3.

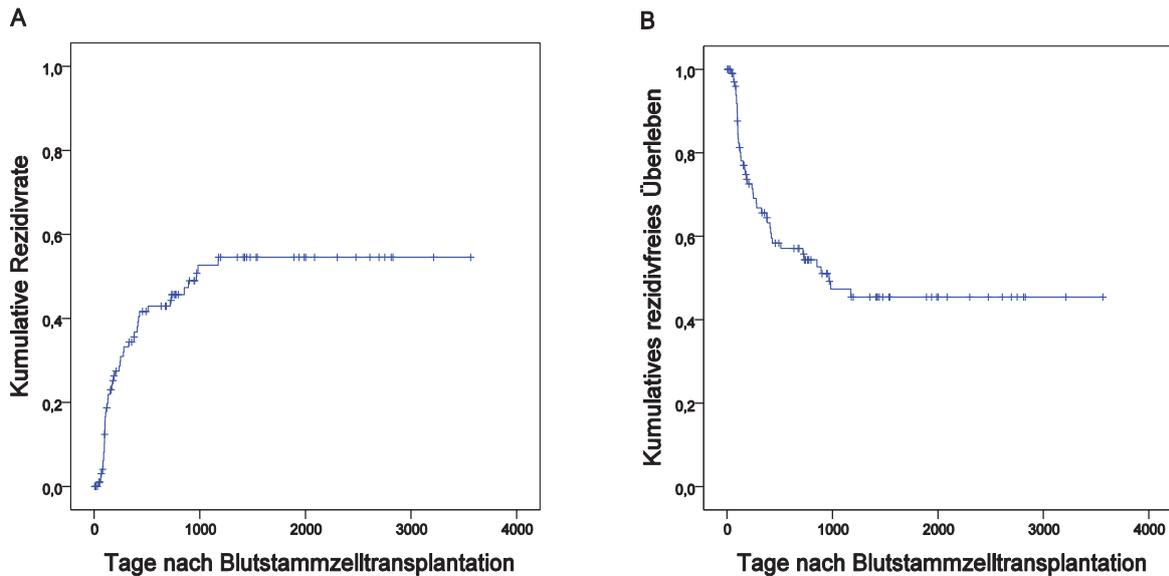


Abbildung 3 Rezidivrate (A) und rezidivfreies Überleben (B) nach der Behandlung mit FLAMSA-Melphalan und anschließender allogener BSZT.

Die mediane Zeit bis zum Auftreten eines Rezidivs betrug 170 Tage. Das erste Rezidiv wurde 41 Tage, das letzte Rezidiv 1175 Tage, bzw. 3,2 Jahre nach Transplantation beobachtet. Nach der Diagnose eines Rezidivs lebten die Patienten im Median 108 Tage (Spanne: 31 - 509 Tage). Insgesamt blieben 59 Patienten nach der BSZT rezidivfrei (56,2 %). Von diesen 59 Patienten verstarben 15 therapieassoziiert (25,4 %). Ein Patient verstarb rezidiv- und therapieunabhängig an einem Myokardinfarkt. Zum Zeitpunkt der letzten Nachbeobachtung lebten noch 43 von insgesamt 105 Patienten (41,0 %), ohne ein Krankheits-Rezidiv während des Posttransplantationsverlaufs erlitten zu haben.

Bis zum Ende der Nachbeobachtungsdauer rezidierten insgesamt 46 Patienten (43,8 %). In 37 von 46 Rezidiv-Fällen handelte es sich um ein hämatologisches Rezidiv (80,4 %). In sechs Fällen, darunter zwei CML-Patienten, lag ein molekulargenetisches Rezidiv vor (13,0 %). Bei 4 von 6 Patienten mit einem molekulargenetischen Rezidiv wurde gleichzeitig ein Abfall des Spenderchimärismus beobachtet (66,7 %). Bei 3 Patienten wurde das Rezidiv allein durch einen Abfall des Spenderchimärismus auf Werte unter 80 % diagnostiziert (6,5 %, sogenanntes imminentes bzw. drohendes Rezidiv).

Von 46 rezidierten Patienten erreichten 17 durch eine Therapie erneut eine komplette Remission (CR) der Erkrankung (37,0 %). Von 17 Patienten, die erneut eine CR erreichten, waren 5 zum Zeitpunkt der letzten Nachbeobachtung zytopen (10,9 %). Zwölf Patienten waren nach der Rezidivtherapie vollständig hämatologisch regeneriert (26,1 %). Insgesamt lebten 22 von 46 rezidierten Patienten (47,8 %) zum Zeitpunkt der letzten Nachbeobachtung, davon erhielten 5 Patienten (10,9 %) weiterhin eine Rezidivtherapie.

4.2.4 Therapieassoziierte Mortalität

Bei der therapieassoziierten Mortalität wird eine Frühmortalität, das heißt ein therapieassoziiertes Tod innerhalb der ersten 100 Tage nach Transplantation, von einer Spätmortalität unterschieden.

In dem Kollektiv FLAMSA-Mel betrug die geschätzte therapieassoziierte Frühmortalität 3,8 % (95%-KI: 1,9 % - 5,7 %) nach 31 Tagen und 9,5 % (95%-KI: 6,6 % - 12,4 %) nach 100 Tagen. Die geschätzte therapieassoziierte Spätmortalität betrug 15,8 % (95%-KI: 12,1 % - 19,5 %) nach einem, nach zwei und nach vier Jahren. Zum Vergleich siehe Abbildung 4.

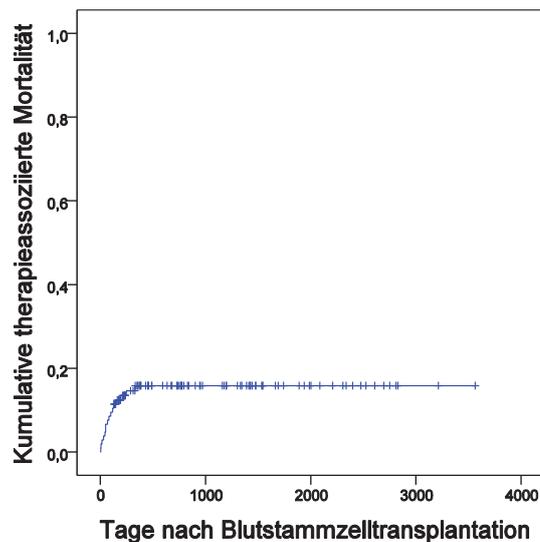


Abbildung 4 Therapieassoziierte Mortalität nach der Behandlung mit FLAMSA-Melphalan und anschließender allogener BSZT.

Am Ende der Nachbeobachtungsdauer waren 15 von 105 Patienten an therapieassoziierten Komplikationen verstorben (15,2 %). Im Median vergingen 75 Tage nach BSZT bis Patienten therapieassoziiert verstarben. Der erste Patient verstarb 6 Tage und der letzte 331 Tage nach Transplantation therapieassoziiert. Ein Patient verstarb therapie- und rezidivunabhängig an einem Myokardinfarkt.

Zu den therapieassoziierten Komplikationen werden das Transplantatversagen (*Graft Failure*), die therapieassoziierte Zyto- und Organotoxizität, die GVHD, sowie infektiologische Krankheitsbilder gezählt. In unserem FALMSA-Mel konditioniertem und allogenen stammzelltransplantiertem Beobachtungskollektiv verstarb ein Patient in der Phase der Knochenmark-Aplasie, 7 Tage nach der Transplantation, an einer fulminanten Hirnstammbutung. Drei Patienten starben an Infektionen auf dem Boden eines bewiesenen oder vermuteten *Graft Failures*. So starb eine Patientin mit gesichertem dreimaligem Transplantatversagen 99 Tage nach der ersten und 18 Tage nach der letzten BSZT in Zusammenhang mit einer CMV-Reaktivierung an einer atypischen Pneumonie mit

septischem Verlauf. Ein Patient mit ungesichertem *Graft Failure* verstarb nach 44 Tagen auf dem Boden einer hämorrhagischen Pangastritis und einer akuten intestinalen GVHD dritten Grades im Rahmen eines septischen Schocks unklaren Ursprungs. Der zweite Patient mit ungesichertem *Graft Failure* verstarb 50 Tage nach Transplantation ebenfalls an einer Sepsis unklaren Ursprungs. Zuvor hatte der Patient eine HSV-1 Pneumonie und im Verlauf ein Leberversagen unklarer Ätiologie entwickelt.

Bei zwei Patienten führte die Kombination aus GVHD und Infektion zum Tode. Bei einem dieser Patienten lag eine akute intestinale GVHD dritten Grades vor, wobei eine Pneumonie unklaren Erregers mit septischen Verlauf letzten Endes zum Tode führte. Bei dem zweiten Patienten gingen dem Tode eine HHV-6-Colitis sowie eine akute intestinale GVHD vierten Grades voraus. Auch dieser Patient verstarb letzten Endes unmittelbar an einer Pneumonie, hier an einer Aspergillus-Pneumonie. Insgesamt wurden bei 9 Patienten infektiologische Therapie-Komplikationen als alleinige Todesursache beobachtet. Während der Phase der Knochenmarksaplasie starben zwei Patienten an Tag +6 und Tag +16 jeweils an einer nosokomialen Pneumonie mit septischem Verlauf. Auch nach der kritischen Phase der Aplasie standen pulmonale Infekte als Todesursache im Vordergrund. Bei zwei Patienten führte eine Infektion der Lunge mit einem multiresistenten E. Coli zum Tode. Ein anderer Patient starb in Folge einer Pseudomonas-Pneumonie. Ein weiterer Patient war zunächst aufgrund einer Pseudomonas-Pneumonie in stationärer Behandlung. Im Verlauf entwickelte dieser Patient einen therapieresistenten und tödlichen *Serratia-marcensens* Harnwegsinfekt mit septischem Verlauf. Drei weitere Patienten starben an Pneumonien ohne dass ein Erreger gesichert werden konnte. Alles in allem waren 16 (39,0 %) von insgesamt 41 Todesfällen im Verlauf nach Transplantation direkt oder indirekt Folge der Therapie.

In Tabelle 19 werden die Ergebnisse der Überlebenszeitanalyse in dem Kollektiv FLAMSA-Mel noch einmal übersichtlich zusammengefasst.

Tabelle 19 Übersicht über die vier Zielgrößen in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Mel

	Gesamtüberleben (OS)	Krankheitsfreies Überleben (DFS)	Rezidivrate (RR)	Therapieassoziierte Mortalität (TRM)
Rate				
(%, ±SF)				
31-T-R	96,2 (± 1,9)	96,2 (± 1,9)	0,0	3,8 (± 1,9)
100-T-R	90,5 (± 2,9)	78,1 (± 4,0)	13,5 (± 3,5)	9,5 (± 2,9)
1-J-R	65,5 (± 4,7)	55,0 (± 4,9)	34,4 (± 5,0)	15,8 (± 3,7)
2-J-R	62,3 (± 4,8)	46,7 (± 4,9)	44,3 (± 5,3)	15,8 (± 3,7)
3-J-R	62,3 (± 4,8)	39,6 (± 5,1)	52,7 (± 5,7)	15,8 (± 3,7)
4-J-R	58,8 (± 5,1)	36,3 (± 5,2)	54,6 (± 5,8)	15,8 (± 3,7)
5-J-R	58,8 (± 5,1)	36,3 (± 5,2)	54,6 (± 5,8)	15,8 (± 3,7)
Überlebenszeit				
(Tagen, ±SF)				
MÜ	2216 (± 164)	1495 (± 165)	1812 (± 182)	3016 (± 126)
MEDÜ	-	419 (± 219)	970 (-)	-

X-T-R = Geschätzte Rate nach X Tagen, X-J-R = Geschätzte Rate nach X Jahren, MÜ = Mittlere Überlebenszeit (insgesamt, krankheitsfrei, ohne Rezidiv, ohne therapieassoziierten Tod), MEDÜ = Mediane Überlebenszeit (insgesamt, krankheitsfrei, ohne Rezidiv, ohne therapieassoziierten Tod), SF = Standardfehler

4.2.5 Graft-versus-Host Disease

Im Rahmen unserer Studie wurde die GVHD zum einen nach den klassischen Kriterien von Glucksberg (akute GVHD) und Shulman (chronische GVHD) und zum anderen nach den neuen Kriterien des *NIH-Consensus* klassifiziert. Je nachdem, ob die klassischen oder neuen Kriterien angewandt wurden, variierten die Inzidenzen der akuten und chronischen GVHD. Im Folgenden werden die kumulativen Inzidenzen der GVHD zunächst nach den klassischen GVHD-Kriterien und im Anschluss nach den neuen Kriterien des *NIH-Consensus* dargestellt.

Im Anhang 2 befindet sich eine ergänzende tabellarische Übersicht über die GVHD, deren Schweregrade und die betroffenen Organsysteme.

4.2.5.1 Inzidenz der akuten Graft-versus-Host Disease

Den klassischen Kriterien von Glucksberg zu Folge betrug die kumulative Inzidenz der akuten *Graft-versus-Host Disease* (aGVHD) nach 31 Tagen 14,7 % (95%-KI: 11,2 % - 18,2 %) und nach 100 Tagen 41,7 % (95%-KI: 36,8 % - 46,6 %). Im Median vergingen 36 Tage bis zum Auftreten einer aGVHD. Der erste Fall einer klassischen aGVHD wurde 5 Tage nach Transplantation beobachtet, der letzte nach 98 Tagen. Siehe Abbildung 5.

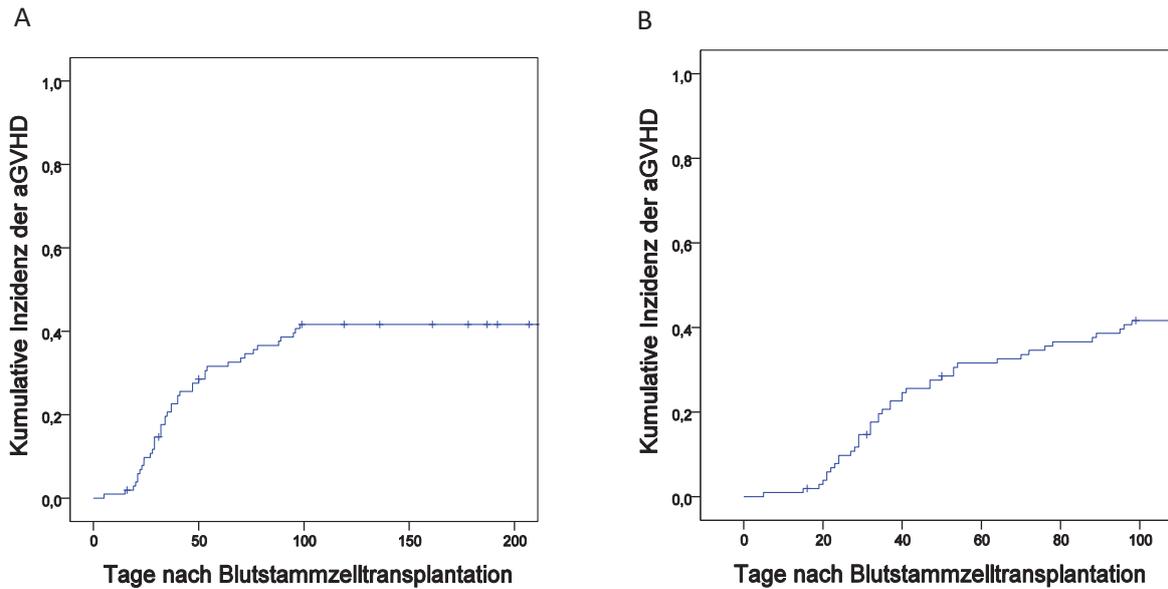


Abbildung 5 Inzidenz der akuten GVHD in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Mel klassifiziert nach den klassischen Kriterien von Glucksberg. Die Grafik B fokussiert auf die ersten 100 Tage nach allogener BSZT. Gemäß der Glucksberg-Klassifikation wird die aGVHD nur in diesem Zeitraum diagnostiziert.

Nach 31 Tagen betrug die kumulative Inzidenz der klassischen aGVHD für die Schweregrade I-II 9,8 % (95%-KI: 6,9 % - 12,7 %) und für die Schweregrade III-IV 4,9 % (95%-KI: 2,8 % - 7,0 %). Nach 100 Tagen betrug die kumulative Inzidenz der klassischen aGVHD für die Schweregrade I-II 32,1 % (95%-KI: 27,4 % - 36,8 %) und für die Schweregrade III-IV 9,9 % (95%-KI: 6,9 % - 12,9 %). Siehe Abbildung 6.

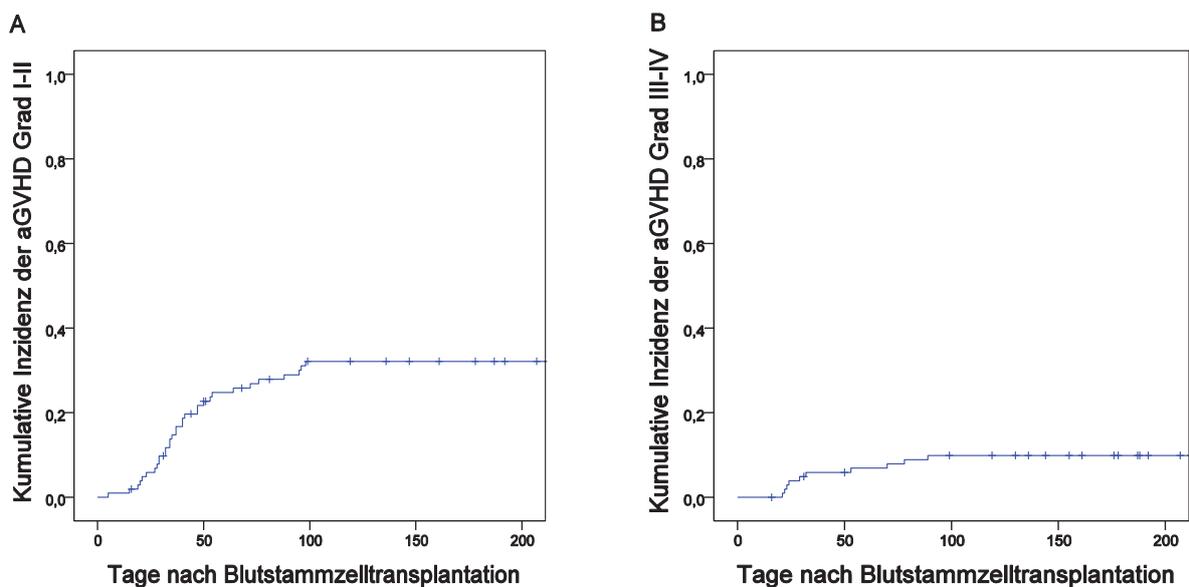


Abbildung 6 Inzidenz der akuten GVHD Grad I-II (A) und der akuten GVHD Grad III-IV (B) in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Mel klassifiziert nach den klassischen Kriterien von Glucksberg.

Klassifiziert nach den Kriterien des *NIH-Consensus* betrug die kumulative Inzidenz der aGVHD nach 31 Tagen 14,7 % (95%-KI: 11,2 % - 18,2 %), nach 100 Tagen 42,7 % (95%-KI: 37,8 % - 47,6 %) und nach 200 Tagen 53,2 % (95%-KI: 48,2 % - 58,2 %). Im Median vergingen 47 Tage bis zum Auftreten einer aGVHD. Der früheste Beginn der aGVHD lag bei 5 Tagen und der späteste bei 180 Tagen nach Transplantation. Zum Vergleich siehe Abbildung 7.

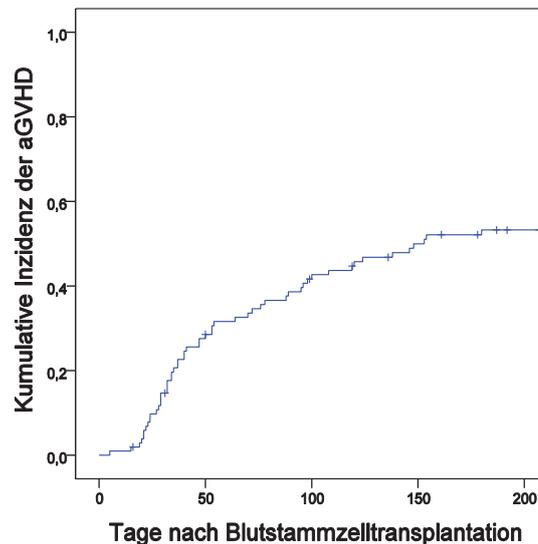


Abbildung 7 Inzidenz der aGVHD in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Mel klassifiziert nach den Kriterien des *NIH-Consensus*. Da die aGVHD den *NIH-Consensus* Kriterien zu Folge auch nach Tag +100 wiederkehren, nach Tag +100 persistieren oder nach Tag +100 neu diagnostiziert werden kann, zeigt die Kurve einen ansteigenden Verlauf bis Tag +200.

Nach 31 Tagen betrug die kumulative Inzidenz der aGVHD gemäß *NIH-Consensus* für die Schweregrade I-II 9,8 % (95%-KI: 6,9 % - 12,7 %) und für die Schweregrade III-IV 4,9 % (95%-KI: 2,8 % - 7,0 %). Nach 100 Tagen betrug die kumulative Inzidenz der aGVHD für die Schweregrade I-II 33,2 % (95%-KI: 28,5 % - 37,9 %) und für die Schweregrade III-IV 9,9 % (95%-KI: 6,9 % - 12,9 %). Zuletzt lag die kumulative Inzidenz der aGVHD gemäß *NIH-Consensus* nach 200 Tagen für die Schweregrade I-II bei 41,1 % (95%-KI: 36,1 % - 46,1 %) und für die Schweregrade III-IV bei 13,0 % (95%-KI: 9,6 % - 16,4 %). Siehe Abbildung 8.

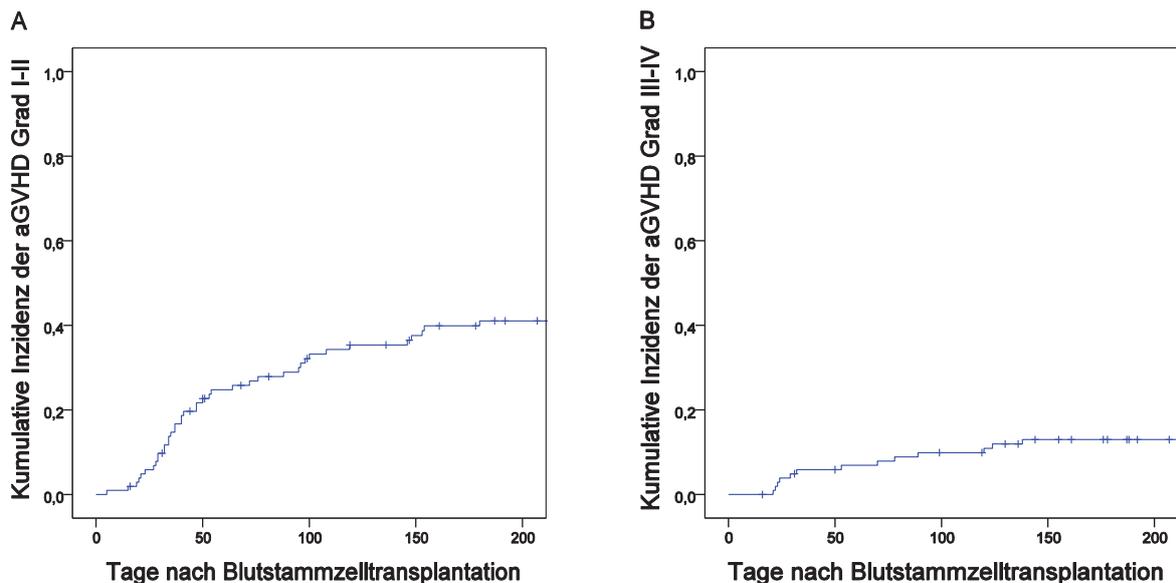


Abbildung 8 Inzidenz der akuten GVHD Grad I-II (A) und der akuten GVHD Grad III-IV (B) in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Mel klassifiziert nach den Kriterien des *NIH-Consensus*.

Die Tabelle 20 bietet abschließend eine Übersicht über die Inzidenz der akuten GVHD in dem Kollektiv FLAMSA-Mel.

Tabelle 20 Übersicht über die Inzidenz der akuten GVHD in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Mel

	Klassische Klassifikation			NIH-Consensus		
	Gesamt	Grad I-II	Grad III-IV	Gesamt	Grad I-II	Grad III-IV
Rate (% , ±SF)						
10-T-R	1,0 (± 1,0)	1,0 (± 1,0)	0,0	1,0 (± 1,0)	1,0 (± 1,0)	0,0
20-T-R	3,9 (± 1,9)	3,9 (± 1,9)	0,0	3,9 (± 1,9)	3,9 (± 1,9)	0,0
31-T-R	14,7 (± 3,5)	9,8 (± 2,9)	4,9 (± 2,1)	14,7 (± 3,5)	9,8 (± 2,9)	4,9 (± 2,1)
40-T-R	24,6 (± 4,3)	18,7 (± 3,9)	5,9 (± 2,3)	22,6 (± 4,2)	18,7 (± 3,9)	5,9 (± 2,3)
60-T-R	31,6 (± 4,6)	24,8 (± 4,3)	6,9 (± 2,5)	31,6 (± 4,6)	24,8 (± 4,3)	6,9 (± 2,5)
80-TR	36,6 (± 4,8)	27,9 (± 4,5)	8,9 (± 2,8)	36,6 (± 4,8)	27,9 (± 4,5)	8,9 (± 2,8)
100-T-R	41,7 (± 4,9)	32,1 (± 4,7)	9,9 (± 3,0)	42,7 (± 4,9)	33,2 (± 4,7)	9,9 (± 3,0)
200-T-R	41,7 (± 4,9)	32,1 (± 4,7)	9,9 (± 3,0)	53,2 (± 5,0)	41,1 (± 5,0)	13,0 (± 3,4)
1-J-R	41,7 (± 4,9)	32,1 (± 4,7)	9,9 (± 3,0)	53,2 (± 5,0)	41,1 (± 5,0)	13,0 (± 3,4)
Zeit (Tage, ±SF)						
MÜ	1669 (± 137)	1934 (± 131)	3216 (± 105)	1357 (± 139)	1694 (± 139)	3109 (± 118)

X-T-R = Geschätzte Rate nach X Tagen, X-J-R = Geschätzte Rate nach X Jahren, MÜ = Mittlere Überlebenszeit (ohne eine akute GVHD), SF = Standardfehler

4.2.5.2 Inzidenz der chronischen Graft-versus-Host Disease

Der klassischen Klassifikation der chronischen *Graft-versus-Host Disease* (cGVHD) nach Shulman zu Folge betrug die kumulative Inzidenz der cGVHD 1,1 % (95%-KI: 0,0 % - 2,2 %) nach 100 Tagen, 35,1 % (95%-KI: 30,1 % - 40,1 %) nach 200 Tagen, 48,4 % (95%-KI: 42,9 % - 53,9 %) nach einem und 52,7 % (95%-KI: 46,9 % - 58,5 %) nach drei Jahren. Im Median vergingen 139 Tage bis zum Auftreten einer cGVHD. Der Beginn der cGVHD lag frühestens bei 74 Tagen und spätestens bei 791 Tagen nach der Transplantation. Im Median lebten Patienten des Gesamtkollektives 433 Tage ohne eine cGVHD zu entwickeln. Zum Vergleich siehe Abbildung 9.

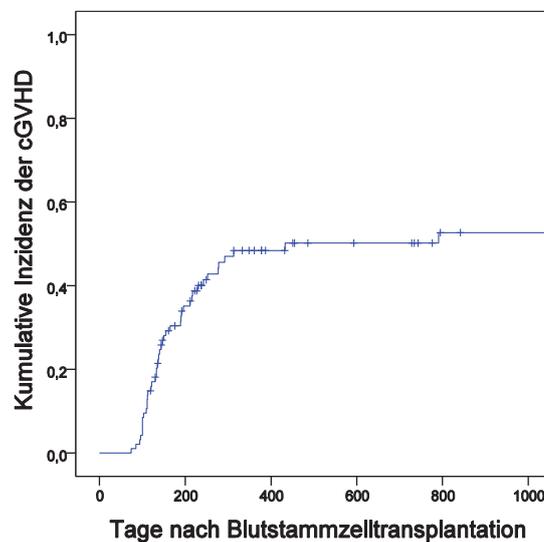


Abbildung 9 Inzidenz der chronischen GVHD in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Mel klassifiziert nach den klassischen Kriterien von Shulman.

Gemäß der klassischen Schweregrad-Einteilung nach Shulman betrug die kumulative Inzidenz der *limited* cGVHD 7,4 % (95%-KI: 4,7 % - 10,1 %) nach 100 Tagen, 29,5 % (95%-KI: 24,7 % - 34,3 %) nach 200 Tagen, 39,9 % (95%-KI: 34,6 % - 45,2 %) nach einem und 44,0 % (95%-KI: 38,3 % - 49,7 %) nach drei Jahren. Die kumulative Inzidenz der *extensive* cGVHD lag nach 100 Tagen bei 1,1 % (95%-KI: 0,0 % - 2,2 %), nach 200 Tagen bei 5,6 % (95%-KI: 3,2 % - 8,0 %), nach einem wie auch nach drei Jahren bei 8,2 % (95%-KI: 5,2 % - 11,2 %). Zum Vergleich siehe Abbildung 10.

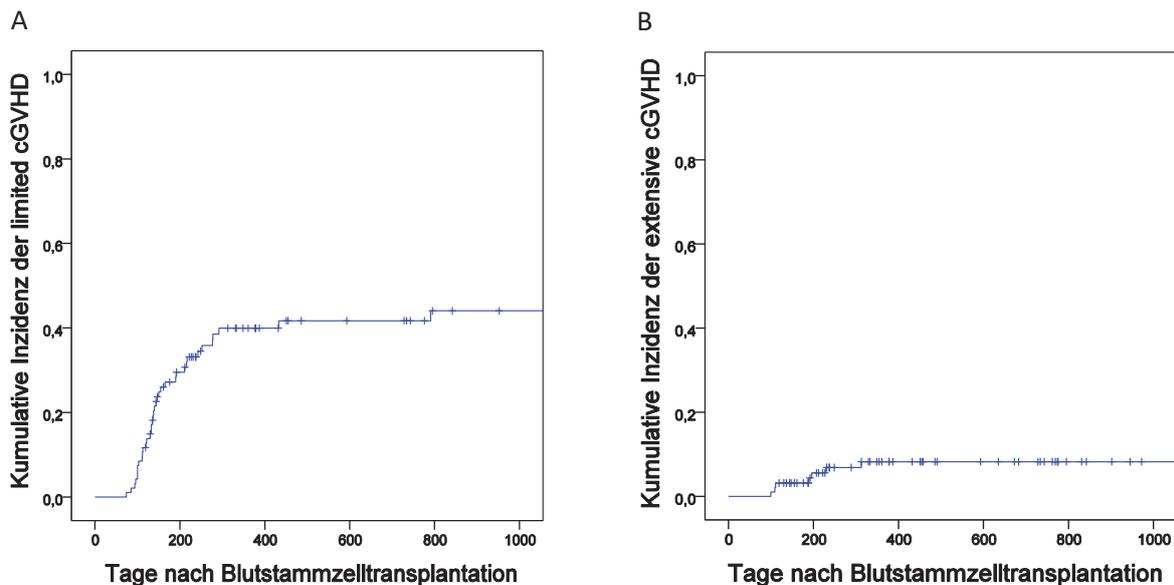


Abbildung 10 Inzidenz der *limited* chronischen GVHD (A) und der *extensive* chronischen GVHD (B) in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Mel nach der klassischen GVHD-Schweregrad-Einteilung von Shulman.

Gemäß dem *NIH-Consensus* werden drei Schweregrade, *mild*, *moderate* und *severe* unterschieden. Diese drei Schweregrade spiegeln das Risiko des Patienten wieder in Folge der cGVHD zu versterben. Für den Schweregrad *mild* betrug die kumulative Inzidenz der cGVHD 5,3 % (95%-KI: 3,0 % - 7,6 %) nach 100 Tagen, 22,1 % (95%-KI: 17,7 % - 26,5 %) nach 200 Tagen, 26,1 (95%-KI: 21,4 % - 30,8 %) nach einem Jahr und 29,9 % (95%-KI: 24,7 % - 35,1 %) nach drei Jahren. Für den Schweregrad *moderate* betrug die kumulative Inzidenz der chronischen GVHD nach 100 Tagen 2,1 % (95%-KI: 0,6 % - 3,6 %), nach 200 Tagen 9,9 % (95%-KI: 6,8 % - 13,0 %), nach einem wie auch nach drei Jahren 20,5 % (95%-KI: 16,0 % - 25,0 %). Für den Schweregrad *severe* betrug die kumulative Inzidenz der chronischen GVHD nach 100 Tagen 0,0 %, nach 200 Tagen, einem Jahr und drei Jahren 2,3 % (95%-KI: 0,7 % - 3,9 %). Siehe Abbildung 11.

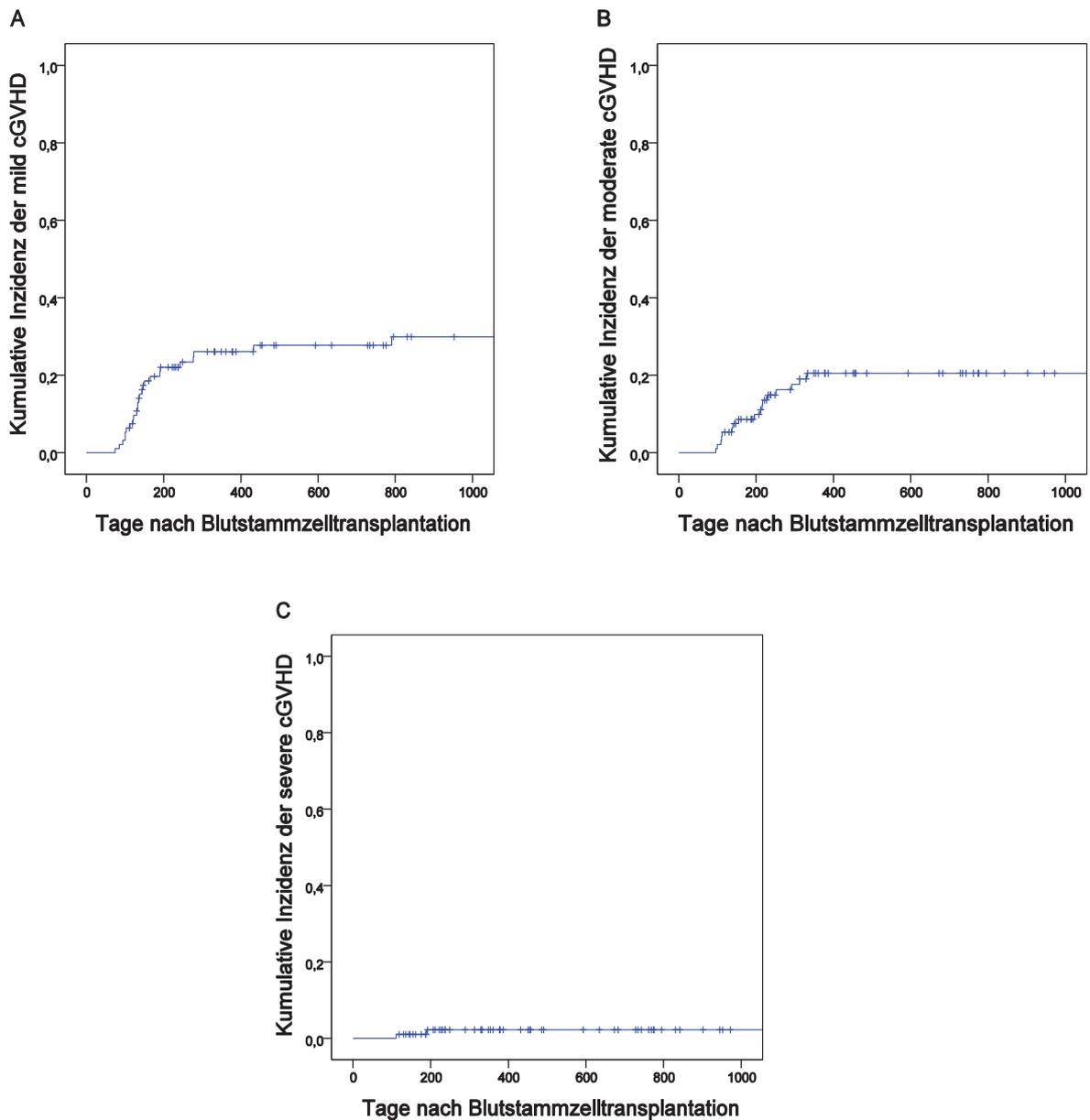


Abbildung 11 Inzidenz der *mild* chronischen GVHD (A), der *moderate* chronischen GVHD (B) und der *severe* chronischen GVHD (C) in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Mel nach der GVHD-Schweregrad-Einteilung des *NIH-Consensus*.

Tabelle 21 bietet abschließend eine Übersicht über die kumulative Inzidenz der chronischen GVHD in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Mel.

Tabelle 21 Übersicht über die kumulative Inzidenz der chronischen GVHD in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Mel

	Klassische Klassifikation				NIH-Consensus	
	Gesamt	Limited	extensive	mild	moderate	severe
Rate (% , ±SF)						
80-T-R	0,0	1,1 (± 1,1)	0,0	1,1 (± 1,1)	0,0	0,0
100-T-R	1,1 (± 1,1)	7,4 (± 2,7)	1,1 (± 1,1)	5,3 (± 2,3)	2,1 (± 1,5)	0,0
120-T-R	16,0 (± 3,8)	12,8 (± 3,4)	3,2 (± 1,8)	8,5 (± 2,9)	5,3 (± 2,3)	1,1 (± 1,1)
140-T-R	24,7 (± 4,5)	21,5 (± 4,3)	3,2 (± 1,8)	15,1 (± 3,7)	7,5 (± 2,7)	1,1 (± 1,1)
160-T-R	29,2 (± 4,7)	26,0 (± 4,6)	3,2 (± 1,8)	18,5 (± 4,1)	8,6 (± 2,9)	1,1 (± 1,1)
180-T-R	30,4 (± 4,8)	27,2 (± 4,7)	3,2 (± 1,8)	19,7 (± 4,2)	8,6 (± 2,9)	1,1 (± 1,1)
200-T-R	35,1 (± 5,0)	29,5 (± 4,8)	5,6 (± 2,4)	22,1 (± 4,4)	9,9 (± 3,1)	2,3 (± 1,6)
1-J-R	48,4 (± 5,5)	39,9 (± 5,3)	8,2 (± 3,0)	26,1 (± 4,7)	20,5 (± 4,5)	2,3 (± 1,6)
2-J-R	50,2 (± 5,6)	41,7 (± 5,4)	8,2 (± 3,0)	27,2 (± 4,9)	20,5 (± 4,5)	2,3 (± 1,6)
3-J-R	52,7 (± 5,8)	44,0 (± 5,7)	8,2 (± 3,0)	29,9 (± 5,2)	20,5 (± 4,5)	2,3 (± 1,6)
Zeit (Tage, ±SF)						
MÜ	1438 (± 149)	1663 (± 146)	3285 (± 101)	2035 (± 133)	2874 (± 151)	3487 (± 54)

X-T-R = geschätzte Rate nach X Tagen, 100-T-R = geschätzte Rate nach 100 Tagen, X-J-R = geschätzte Rate nach X Jahren, MÜ = Mittlere Überlebenszeit (ohne eine chronische GVHD), SF = Standardfehler

4.3 Die Immunrekonstitution

Die Immunrekonstitution nach einer allogenen BSZT kann durch die absoluten Zahlen der T-Helferzellen (CD4+), der zytotoxischen T-Zellen (CD8+), der natürlichen Killerzellen (CD56+) und der B-Zellen (CD19+) abgebildet werden. Die frühe Phase der Immunrekonstitution bezeichnet in dieser Studie den Zeitraum zwischen der Transplantation und Tag +200 nach der Transplantation. Um die Immunrekonstitution in der frühen Phase des Posttransplantationsverlaufes widerzuspiegeln, wurden die absoluten Zahlen der CD4+, CD8+, CD56+ und CD19+ Zellen in den Zeiträumen Tag 0-50, Tag 50-100, Tag 100-150 und Tag 150-200 nach BSZT dokumentiert. Ergänzend wurden die absoluten Zahlen der Leukozyten und Lymphozyten aus dem peripheren Blutbild an Tag +28 und Tag +100 zusammengetragen.

Die späte Phase der Immunrekonstitution bezeichnet in dieser Studie den Zeitraum nach Tag +200. Die Immunrekonstitution in dieser Phase wurde durch absolute Zahlen der CD4+, CD8+, CD56+ und CD19+ Zellen in den Zeiträumen Tag 200-300 und Tag 300-400 nach BSZT dokumentiert.

Aufgrund des retrospektiven Charakters dieser Studie standen nicht für alle Patienten Informationen über den Immunstatus in den jeweiligen Zeiträumen zur Verfügung. Da die Anzahl verwertbarer Daten in dem Gesamtkollektiv am größten ausfiel, wird die Immunrekonstitution im Verlauf nach der BSZT im Folgenden für das Gesamtkollektiv dargestellt. Im Anschluss an diese Darstellung bieten die Tabellen 24 und 25, sowie die Abbildung 16 Informationen über die Immunrekonstitution in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Melphalan, auf das in den weiteren univariaten und multivariaten Analysen fokussiert wurde.

4.3.1 Rekonstitution der T-Helferzellen

Die Rekonstitution der T-Helferzelllinie wurde über den Normbereich für T-Helferzellen (CD4+ Zellen) definiert (410 - 1590 Zellen/ μ l). In dem gesamten Beobachtungszeitraum von 400 Tagen nach BSZT lagen die medianen T-Helferzellzahlen unter dem Normbereich. In den ersten 50 Tagen nach BSZT betragen die absoluten Zahlen der T-Helferzellen im Median 65 pro μ l. Bei 4 % der Patienten lagen die T-Helferzellen in den ersten 50 Tagen im Normbereich, 89 % der Patienten zeigten Werte unter und 4 % Werte über dem Normbereich. Zwischen Tag 50 und Tag 100 nach BSZT betrug die mediane Anzahl an T-Helferzellen 116 pro μ l. In diesem Zeitraum lagen 4 % der Werte im Normbereich, 86 % lagen weiterhin darunter. Bis Tag +150 stiegen die T-Helferzellen auf einen medianen Wert von 153 Zellen pro μ l an. In den folgenden 50 Tagen bis Tag +200, fielen sie leicht, auf einen medianen Wert von 136 pro μ l ab.

In der späten Phase der Immunrekonstitution, zwischen Tag 200 und 300 nach BSZT betragen die T-Helferzellzahlen im Median 184 Zellen pro μ l. In diesem Zeitraum lagen 15 % der Werte im

Normbereich, 85 % lagen weiterhin darunter. Bis Tag 400 nach BSZT stieg die mediane Anzahl der T-Helferzellen auf 234 Zellen pro μl , an. In dem Zeitraum zwischen Tag 300 und Tag 400 nach BSZT hatten 29 % der Patienten T-Helferzellzahlen im Normbereich, 71 % lagen unter dem Normbereich. Etwa ein Jahr nach Stammzelltransplantation war die Zelllinie der T-Helferzellen bei etwas weniger als einem Drittel der Patienten wieder hergestellt. Die mediane T-Helferzellzahl erreichte bis Tag 400 nach BSZT nicht den Normbereich. Zum Vergleich siehe Abbildung 12 und Tabelle 22.

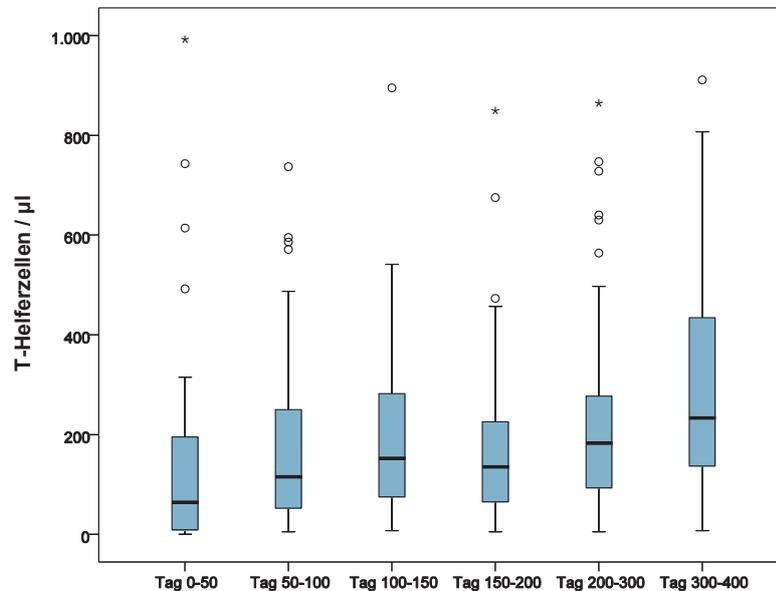


Abbildung 12 Rekonstitution der T-Helferzellen in dem Gesamtkollektiv dargestellt anhand von Kastendiagrammen. Die x-Achse zeigt sechs Zeiträume zwischen Tag 0 und Tag +400 nach allogener Blutstammzelltransplantation. Die y-Achse zeigt die absoluten Zellzahlen pro μl . In dem blauen Kasten liegen die mittleren 50 % der Daten. Der schwarze Balken kennzeichnet den Median. Kreise markieren Ausreißer und Sterne extreme Ausreißer in den Daten.

4.3.2 Rekonstitution der zytotoxischen T-Zellen

Die Rekonstitution der zytotoxischen T-Zelllinie wurde über den Normbereich für zytotoxische T-Zellen (CD8+ Zellen) definiert (190 - 1104 Zellen/ μl). Bis Tag 50 nach BSZT lagen die zytotoxischen T-Zellen im Median unter dem Normbereich. Nach Tag 50 und bis zum letzten Beobachtungszeitpunkt an Tag 400 nach BSZT, lagen die medianen Zahlen der zytotoxischen T-Zellen im Normbereich.

Die zytotoxische T-Zellzahl betrug in den ersten 50 Tagen im Median 106 Zellen pro μl . Bei 33 % der Patienten waren die Zellzahlen der zytotoxischen T-Zellen im Normbereich, 62 % der Patienten hatten Werte unter und 6 % hatten Werte über der Norm. Bis Tag 100 nach BSZT verdreifachten sich die Zahlen der zytotoxischen T-Zellen beinahe. Sie stiegen auf eine mediane Zellzahl von 283 pro μl an. Zwischen Tag 50 und Tag 100 nach BSZT lagen 36 % der Werte in der Norm, 51 % lagen darunter und 13 % darüber. Bis Tag +150 erreichten 57 % der Patienten mit ihren zytotoxischen T-Zellwerten den Normbereich. In dem Zeitraum zwischen Tag 150 und Tag 200 nach BSZT betrug die mediane

Zellzahl der zytotoxischen T-Zellen 379 pro μl . Im Vergleich zu den vorangegangenen 50 Tagen, hatten jetzt mehr Patienten Zellzahlen über dem Normbereich (Anstieg von 15 % auf 23 %).

In der späten Phase der Immunrekonstitution, in dem Zeitraum zwischen Tag 200 und Tag 300 nach BSZT, lag die mediane Zellzahl der zytotoxischen T-Zellen bei 372 pro μl . Fünfundsechzig Prozent der Patienten zeigten jetzt normwertige zytotoxische T-Zellzahlen. Die Zahl der Patienten mit erhöhten Werten sank in diesem Zeitraum von zuvor 23 % auf 17 % ab. Bis Tag 400 nach BSZT stieg die mediane Anzahl der zytotoxischen T-Zellen von initial 106 auf 535 Zellen pro μl an. Der Anteil an Patienten mit normwertigen zytotoxischen T-Zellzahlen betrug jetzt 60 %. Im Vergleich zu den Zellzahlen 100 Tage zuvor, hatten mit 28 % wieder deutlich mehr Patienten erhöhte zytotoxische T-Zellwerte.

Nach etwa einem Jahr war die Linie der zytotoxischen T-Zellen bei zwei Drittel der Patienten wieder hergestellt. Die mediane Anzahl der zytotoxischen T-Zellen lag erstmals in dem Zeitraum zwischen Tag 50 und Tag 100 nach BSZT den Normbereich. Zum Vergleich siehe Abbildung 13 und Tabelle 22.

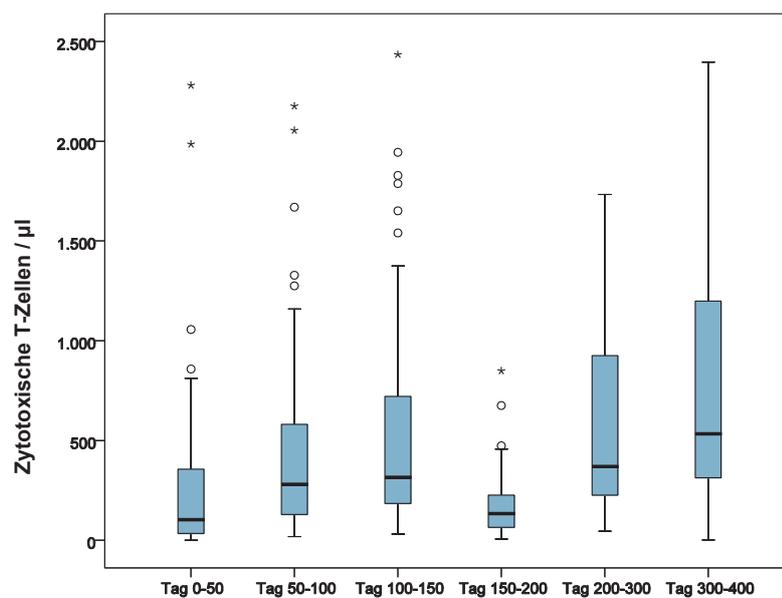


Abbildung 13 Rekonstitution der zytotoxischen T-Zellen in dem Gesamtkollektiv dargestellt anhand von Kastendiagrammen. Die x-Achse zeigt sechs Zeiträume zwischen Tag 0 und Tag +400 nach allogener Blutstammzelltransplantation. Die y-Achse zeigt die absoluten Zellzahlen pro μl . In dem blauen Kasten liegen die mittleren 50 % der Daten. Der schwarze Balken kennzeichnet den Median. Kreise markieren Ausreißer und Sterne extreme Ausreißer in den Daten.

4.3.3 Rekonstitution der natürlichen Killerzellen

Die Rekonstitution der CD56+ natürlichen Killer (NK)-Zelllinie wurde über den Normbereich für NK-Zellen definiert (90 - 590 Zellen pro μl). In dem gesamten Beobachtungszeitraum von 400 Tagen nach BSZT lagen die NK-Zellen im Median im Normbereich.

Bereits in den ersten 50 Tagen nach BSZT befand sich die mediane NK-Zellzahl mit 282 Zellen pro μl im Normbereich. Neunundsiebzig Prozent der Patienten hatten in den ersten 50 Tagen normwertige NK-Zellzahlen, 4 % der Patienten hatten Werte unter und 17 % Werte über dem Normbereich. In den folgenden 50 Tagen, bis Tag 100 nach BSZT, blieben die NK-Zellen im Median mit 276 Zellen pro μl nahezu unverändert. Die Anzahl der Patienten mit erhöhten NK-Zellzahlen nahm um 6 % ab, während die Anzahl der Patienten mit NK-Zellzahlen unter der Norm um 4 % anstieg. Dieser Trend setzte sich auch bis Tag +200 fort. In dem Zeitraum zwischen Tag 150 und Tag 200 nach BSZT lagen 15 % der NK-Zellwerte unter dem Normbereich und nur 5 % lagen darüber. Beinahe unverändert zu den ersten beiden Messungen nach BSZT lagen 80 % der Patienten mit ihren NK-Zellwerten im Normbereich. Im Vergleich zu den ersten Messungen nach BSZT, war die mediane Anzahl der NK-Zellen bis Tag +200 auf 218 Zellen pro μl abgesunken.

Auch in der späten Phase der Immunrekonstitution, zwischen Tag +200 und +300 nahmen die NK-Zellen im Median weiter ab. Sie erreichten einen Wert von 178 Zellen pro μl . Dementsprechend zeigten 18 % der Patienten NK-Zellwerte unter der Norm. Die Anzahl der Patienten mit normwertigen NK-Zellzahlen sank von zuvor 80 % auf 74 % ab. In dem letzten Beobachtungszeitraum, zwischen Tag +300 und Tag +400, erreichte die mediane NK-Zellzahl mit 270 Zellen pro μl wieder den hohen Ausgangswert der ersten 100 Tage nach BSZT. Im Vergleich zu dem Zeitraum Tag 200 -300 nach BSZT war die mediane NK-Zellzahl zwischen Tag 300 und Tag 400 nach BSZT um 92 Zellen pro μl angestiegen. Zwischen Tag 300 und 400 nach BSZT hatten 74 % der Patienten NK-Zellwerte in der Norm, 12 % lagen unter der Norm und 14 % lagen über Norm.

Insgesamt zeigten 82 % bis 96 % der Patienten eine vollständige Rekonstitution der NK-Zelllinie im Verlauf nach der allogenen BSZT. Die mediane NK-Zellzahl erreichte bereits innerhalb der ersten 50 Tage nach BSZT den Normbereich. Bis zum Ende der Beobachtungszeit für die Immunrekonstitution an Tag +400 blieb die mediane NK-Zellzahl normwertig. Zum Vergleich siehe Abbildung 14 und Tabelle 22.

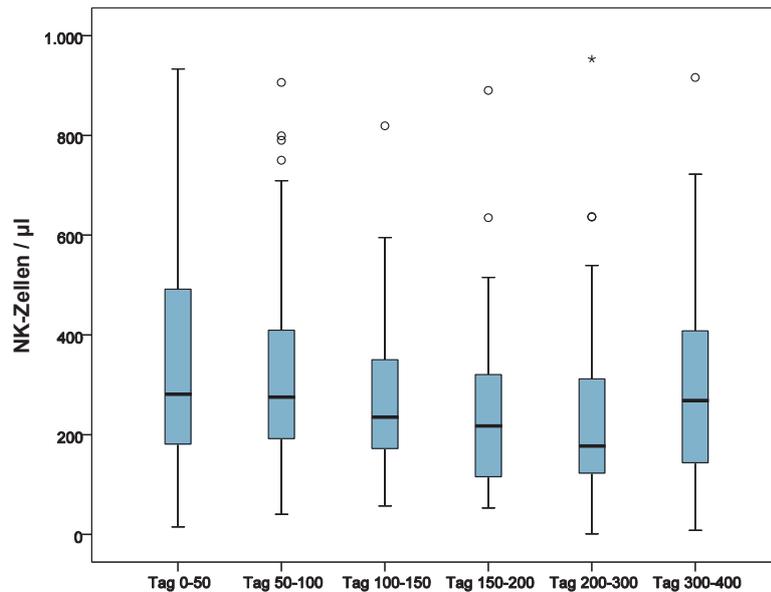


Abbildung 14 Rekonstitution der NK-Zellen in dem Gesamtkollektiv dargestellt anhand von Kastendiagrammen. Die x-Achse zeigt sechs Zeiträume zwischen Tag 0 und Tag +400 nach allogener Blutstammzelltransplantation. Die y-Achse zeigt die absoluten Zellzahlen pro μl . In dem blauen Kasten liegen die mittleren 50 % der Daten. Der schwarze Balken kennzeichnet den Median. Kreise markieren Ausreißer und Sterne extreme Ausreißer in den Daten.

4.3.4 Rekonstitution der B-Zellen

Die Rekonstitution der B-Zelllinie wurde über den Normbereich für B-Zellen (CD19+ Zellen) definiert (90 – 660 Zellen pro μl). Bis Tag 150 nach BSZT lagen die B-Zellzahlen im Median unter dem Normbereich. Nach Tag +150 und bis zum letzten Beobachtungszeitpunkt an Tag +400 befanden sich die medianen B-Zellzahlen im Normbereich.

In den ersten 50 Tagen nach BSZT betrug die mediane B-Zellzahl 14 pro μl . Vergleichbar mit der T-Helferzell-Rekonstitution bis Tag +50, lagen 8 % der B-Zellwerte im Normbereich. Achtundachtzig Prozent der Werte lagen unter und 4 % über der Norm. Im Vergleich zu den T-Helferzellen, stiegen die medianen B-Zellzahlen im weiteren Verlauf jedoch schneller an und erreichten bis Tag +200 mit 90 Zellen pro μl den Normbereich. Bis Tag +100, Tag +150 und Tag +200 stiegen die B-Zellen im Median auf 55, 72 und 90 Zellen pro μl an. Dementsprechend hatten 33 % der Patienten bis Tag +100 und 45 % der Patienten bis Tag +200 normwertige B-Zellzahlen.

In der späten Phase der Immunrekonstitution, zwischen Tag +200 und Tag +300, verdoppelte sich die mediane B-Zellzahl von 90 auf 179 Zellen pro μl . In diesem Zeitraum befanden sich 64 % der Werte im Normbereich, 29 % lagen unter und 8 % der Werte über der Norm. Bis zum letzten Beobachtungszeitpunkt, 400 Tage nach BSZT, stiegen die B-Zellen im Median auf 226 Zellen pro μl an. In dem Zeitraum zwischen Tag 300 und 400 nach BSZT hatten 69 % der Patienten normwertige B-Zellzahlen, 22 % der Patienten hatten zu niedrige und 9 % zu hohe B-Zellzahlen.

Etwa ein Jahr nach der allogenen BSZT war die Linie der B-Lymphozyten bei mehr als zwei Drittel der Patienten wieder hergestellt. In dem Zeitraum zwischen Tag +150 und Tag +200 lag die mediane B-Zellzahl erstmals im Normbereich. Zum Vergleich siehe Abbildung 15 und Tabelle 22.

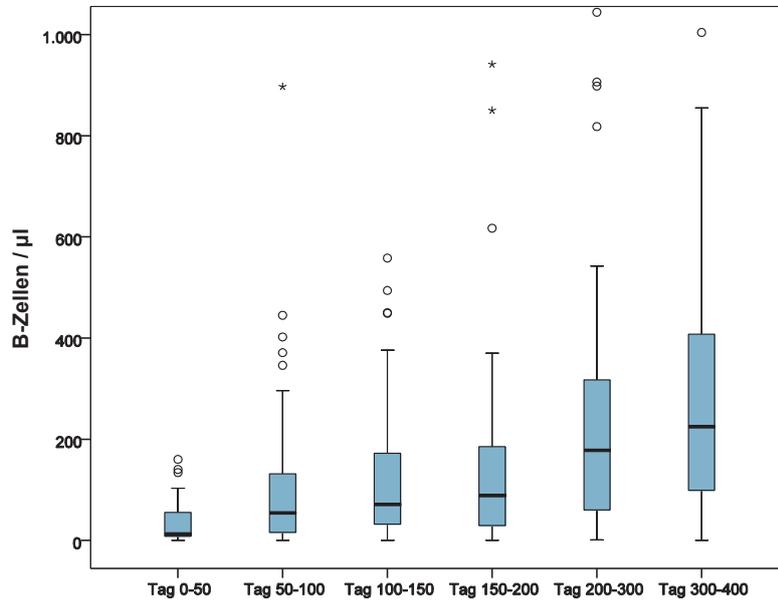


Abbildung 15 Rekonstitution der B-Zellen in dem Gesamtkollektiv dargestellt anhand von Kastendiagrammen. Die x-Achse zeigt sechs Zeiträume zwischen Tag 0 und Tag +400 nach allogener Blutstammzelltransplantation. Die y-Achse zeigt die absoluten Zellzahlen pro μl . In dem blauen Kasten liegen die mittleren 50 % der Daten. Der schwarze Balken kennzeichnet den Median. Kreise markieren Ausreißer und Sterne extreme Ausreißer in den Daten.

Tabelle 22 Immunrekonstitution in dem Gesamtkollektiv

Immunstatus in dem Zeitraum nach BSZT	N	Median (Zellen/ μ l)	Spanne (Zellen/ μ l)	Normwert (Zellen/ μ l)	< Norm n (%)	In Norm n (%)	> Norm n (%)
Tag 0-50							
T-Helferzellen	52	65	0 - 7674	410 - 1590	46 (89)	4 (8)	2 (4)
Zytotoxische T-Zellen	52	106	0 - 4587	190 - 1140	32 (62)	17 (33)	3 (6)
NK-Zellen	52	282	15 - 1855	90 - 590	2 (4)	41 (79)	9 (17)
B-Zellen	52	14	0 - 3152	90 - 660	46 (89)	4 (8)	2 (4)
Tag 50-100							
T-Helferzellen	63	116	5 - 1288	410 - 1590	54 (86)	9 (14)	0 (0)
Zytotoxische T-Zellen	63	283	18 - 2728	190 - 1140	32 (51)	23 (37)	8 (13)
NK-Zellen	63	276	40 - 906	90 - 590	5 (8)	51 (81)	7 (11)
B-Zellen	63	55	0 - 897	90 - 660	41 (65)	21 (33)	1 (2)
Tag 100-150							
T-Helferzellen	65	153	7 - 1126	410 - 1590	57 (88)	8 (12)	0 (0)
Zytotoxische T-Zellen	65	317	31 - 2872	190 - 1140	18 (28)	37 (57)	10 (15)
NK-Zellen	65	236	57 - 1314	90 - 590	8 (12)	54 (83)	3 (5)
B-Zellen	65	72	0 - 1268	90 - 660	35 (54)	29 (45)	1 (2)
Tag 150-200							
T-Helferzellen	60	136	5 - 4757	410 - 1590	53 (88)	6 (10)	1 (2)
Zytotoxische T-Zellen	60	379	7 - 3354	190 - 1140	15 (25)	31 (52)	14 (23)
NK-Zellen	60	218	53 - 1176	90 - 590	9 (15)	48 (80)	3 (5)
B-Zellen	60	89.5	0 - 1791	90 - 660	30 (50)	27 (45)	3 (5)
Tag 200-300							
T-Helferzellen	66	184	5 - 864	410 - 1590	56 (85)	10 (15)	0 (0)
Zytotoxische T-Zellen	66	372	45 - 6000	190 - 1140	12 (18)	43 (65)	11 (17)
NK-Zellen	66	178	1 - 1456	90 - 590	12 (18)	49 (74)	5 (8)
B-Zellen	66	179	1 - 1250	90 - 660	19 (29)	42 (64)	5 (8)
Tag 300-400							
T-Helferzellen	76	234	7 - 1139	410 - 1590	54 (71)	22 (29)	0 (0)
Zytotoxische T-Zellen	76	535	1 - 8517	190 - 1140	9 (12)	46 (61)	21 (28)
NK-Zellen	76	270	8 - 2020	90 - 590	9 (12)	56 (74)	11 (15)
B-Zellen	76	226	0 - 1284	90 - 660	17 (22)	52 (68)	7 (9)

Tabelle 23 Frühe Rekonstitution der Leukozyten und Lymphozyten an Tag +28 und +100 in dem Gesamtkollektiv

	N	Median (Zellen/ μ l)	Spanne (Zellen/ μ l)	Normwert (Zellen/ μ l)	< Norm n (%)	> Norm n (%)
Tag +28						
Leukozyten	144	4600	200 - 35100	4000 - 10000	44 (31)	9 (6)
Lymphozyten	144	580	0 - 2982	1500 - 3000	136 (94)	0 (0)
Tag +100						
Leukozyten	138	4450	100 - 20300	4000 - 10000	55 (40)	9 (7)
Lymphozyten	136	943	0 - 9493	1500 - 3000	105 (77)	6 (4)

Tabelle 24 Immunrekonstitution in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Mel

Immunstatus in dem Zeitraum nach BSZT	N	Median (Zellen/ μ l)	Spanne (Zellen/ μ l)	Normwert (Zellen/ μ l)	< Norm n (%)	In Norm n (%)	> Norm n (%)
Tag 0-50							
T-Helferzellen	40	83	1 - 7674	410 - 1590	35 (88)	3 (8)	2 (5)
Zytotoxische T-Zellen	40	109	0 - 2280	190 - 1140	24 (60)	14 (35)	2 (5)
NK-Zellen	40	280	15 - 1855	90 - 590	1 (3)	32 (80)	7 (18)
B-Zellen	40	16	1 - 3151	90 - 660	35 (88)	3 (8)	2 (5)
Tag 50-100							
T-Helferzellen	48	130	9 - 737	410 - 1590	42 (88)	6 (13)	0 (0)
Zytotoxische T-Zellen	48	285	18 - 2728	190 - 1140	26 (54)	17 (35)	5 (10)
NK-Zellen	48	288	40 - 906	90 - 590	4 (8)	39 (81)	5 (10)
B-Zellen	48	56	0 - 897	90 - 660	30 (63)	17 (35)	1 (2)
Tag 100-150							
T-Helfer-Zellen	48	177	7 - 895	410 - 1590	42 (88)	6 (13)	0 (0)
Zytotoxische T-Zellen	48	318	31 - 2872	190 - 1140	14 (29)	27 (56)	7 (15)
NK-Zellen	48	250	65 - 1314	90 - 590	5 (10)	41 (85)	2 (4)
B-Zellen	48	70	0 - 1268	90 - 660	28 (58)	19 (40)	1 (2)
Tag 150-200							
T-Helfer-Zellen	44	159	5 - 4757	410 - 1590	37 (84)	6 (14)	1 (2)
Zytotoxische T-Zellen	44	379	7 - 3354	190 - 1140	9 (21)	23 (52)	12 (27)
NK-Zellen	44	232	57 - 1176	90 - 590	7 (16)	35 (80)	2 (5)
B-Zellen	44	109	0 - 1791	90 - 660	19 (43)	23 (52)	2 (5)
Tag 200-300							
T-Helfer-Zellen	48	184	12 - 864	410 - 1590	42 (88)	6 (13)	0 (0)
Zytotoxische T-Zellen	48	372	69 - 3944	190 - 1140	9 (19)	32 (67)	7 (15)
NK-Zellen	48	177	43 - 1456	90 - 590	7 (15)	37 (77)	4 (8)
B-Zellen	48	178	1 - 818	90 - 660	14 (29)	33 (69)	1 (2)
Tag 300-400							
T-Helfer-Zellen	57	234	7 - 1131	410 - 1590	39 (68)	18 (32)	0 (0)
Zytotoxische T-Zellen	57	512	29 - 3947	190 - 1140	5 (9)	37 (65)	15 (26)
NK-Zellen	57	272	8 - 2020	90 - 590	6 (11)	44 (77)	7 (12)
B-Zellen	57	220	0 - 1284	90 - 660	16 (28)	36 (63)	5 (9)

Tabelle 25 Frühe Rekonstitution der Leukozyten und Lymphozyten an Tag +28 und +100 in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Mel

	n	Median (Zellen/ μ l)	Spanne (Zellen/ μ l)	Normwerte (Zellen/ μ l)	< Norm n (%)	> Norm n (%)
Tag +28						
Leukozyten	102	4400	300 - 35100	4000 - 10000	44 (43)	9 (9)
Lymphozyten	102	591	0 - 2982	1500 - 3000	94 (92)	
Tag +100						
Leukozyten	96	4500	100 - 20300	4000 - 10000	37 (39)	7 (7)
Lymphozyten	96	950	0 - 9493	1500 - 3000	69 (72)	6 (6)

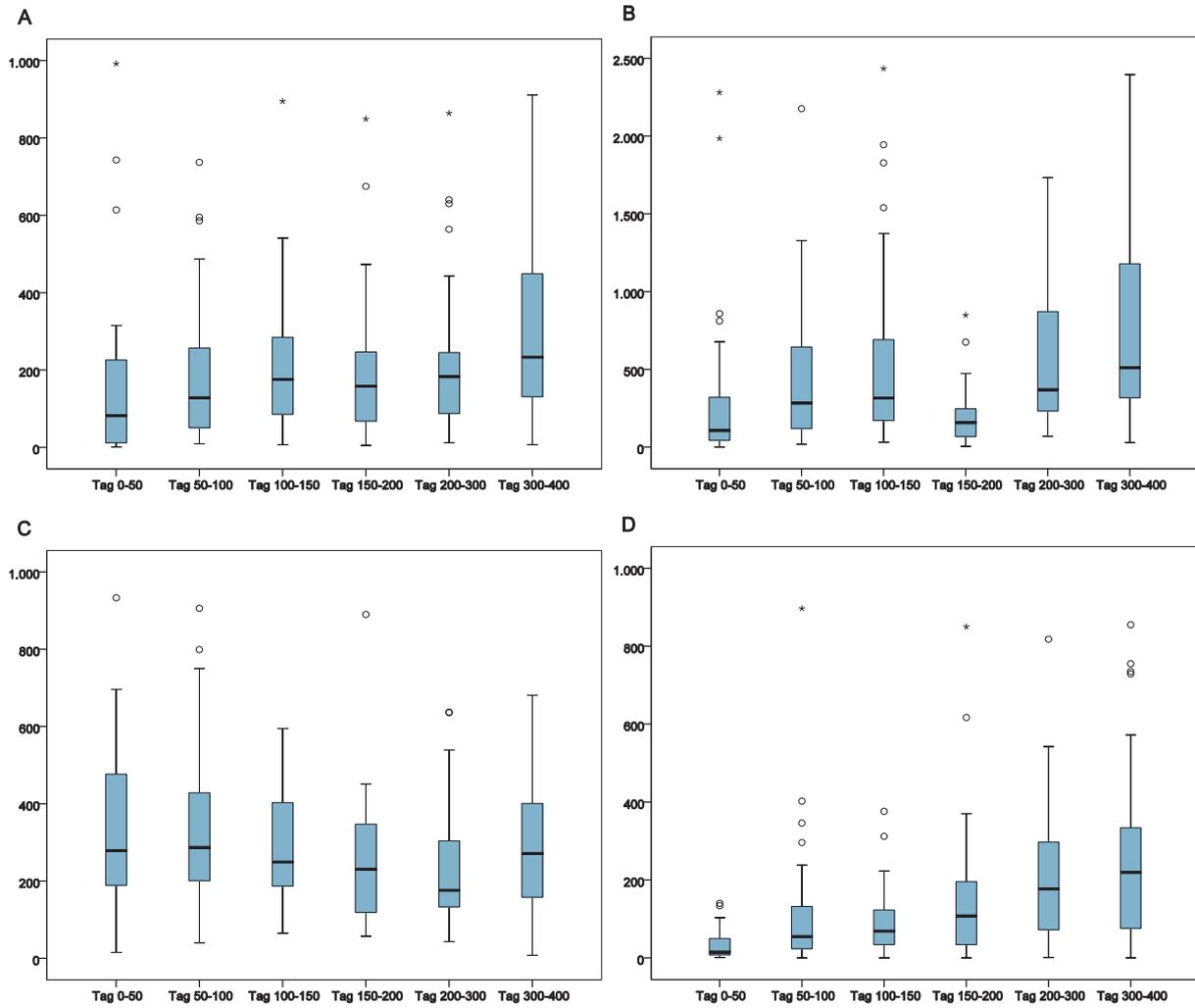


Abbildung 16 Rekonstitution der T-Helferzellen (A), der zytotoxischen T-Zellen (B), der NK-Zellen (C) und der B-Zellen (D) in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Mel dargestellt anhand von Kastendiagrammen. Die x-Achse zeigt sechs Zeiträume zwischen Tag 0 und Tag +400 nach allogener Blutstammzelltransplantation. Die y-Achse zeigt die absoluten Zellzahlen pro μl . In dem blauen Kasten liegen die mittleren 50 % der Daten. Der schwarze Balken kennzeichnet den Median. Kreise markieren Ausreißer und Sterne extreme Ausreißer in den Daten.

4.4 Ergebnisse der univariaten Analyse

Im Rahmen der univariaten Analyse wurde das Patientenkollektiv FLAMSA-Mel stets anhand eines potentiellen Prognosefaktors in zwei oder mehrere Gruppen unterteilt und anschließend im Hinblick auf die jeweilige Zielvariable (OS, DFS, RR, TRM, GVHD) miteinander verglichen. Die univariaten Analyseergebnisse werden im Folgenden anhand von Prognosefaktoren des Prä- und des Posttransplantationsverlaufes getrennt dargestellt.

4.4.1 Prognosefaktoren des Prätransplantationsverlaufes

Prognosefaktoren des Prätransplantationsverlaufes sind all diejenigen Merkmale oder Charakteristika des Patienten, des Spenders, des Transplantates, der Erkrankung oder der Therapie, welche zum Zeitpunkt der allogenen BSZT bereits bekannt sind. Sie lassen sich in zeitabhängige, patientenabhängige, spenderabhängige, transplantatabhängige, krankheitsspezifische und therapieassoziierte Prognosefaktoren untergliedern. Anhand dieser Gliederung werden die Ergebnisse der univariaten Analyse im Folgenden dargestellt. Auf die prognostische Bedeutung der in vivo T-Zell Depletion mit ATG, wird als ein Kerneergebnis dieser Arbeit in dem Abschnitt therapieabhängige Prognosefaktoren detaillierter eingegangen.

4.4.1.1 Zeitabhängige Prognosefaktoren

Als zeitabhängige Prognosefaktoren untersuchten wir das Jahr der allogenen BSZT und den Zeitraum zwischen Erstdiagnose (ED) und Transplantation. Das Jahr der Transplantation war ein signifikanter Prognosefaktor für das Gesamtüberleben. Patienten die zwischen 2009 und 2013 mit FLAMSA-Mel behandelt und anschließend allogene stammzelltransplantiert wurden, hatten eine signifikant verbesserte 4-Jahres-Gesamtüberlebensrate im Vergleich zu Patienten, die in den Jahren 2002-2008 transplantiert wurden (4-J-OS: 72 % vs. 45 %, $p = 0,024$). Das krankheitsfreie Überleben und die Rezidivrate unterschieden sich hingegen nicht signifikant in den beiden Vergleichsgruppen ($p = 0,697$ für RR und $p = 0,385$ für DFS). Im Hinblick auf die therapieassoziierte Mortalität zeigte sich ein Trend hin zu einer niedrigeren Rate therapieassoziiierter Todesfälle bei Transplantationen nach dem Jahr 2008 (4-J-TRM: 10 % vs. 26 %, $p = 0,109$). Bei ähnlichem krankheitsfreiem Überleben, war das Gesamtüberleben von Patienten, die zwischen 2009 und 2013 transplantiert wurden, signifikant besser, was auf eine erfolgreichere Rezidivtherapie in den Jahren 2009 - 2013 schließen lässt.

Im Hinblick auf den Prognosefaktor „Zeitraum zwischen Erstdiagnose und Transplantation“, deutet die univariate Analyse an, dass Hochrisiko-Patienten mit einer Transplantation in den ersten 6 Monaten (< 180 Tage) nach der Krankheitserstdiagnose ein niedrigeres Rezidivrisiko und ein

verbessertes krankheitsfreies Überleben nach BSZT erreichen können (4-J-RR: 46 % vs. 62 %, $p = 0,055$ und 4-J-DFS: 46 % vs. 28 %, $p = 0,045$). Eine ergänzende Subgruppen-Analyse anhand der Diagnosen MDS/sAML und De Novo AML führte zu dem Ergebnis, dass der zeitliche Abstand von 6 Monaten zwischen Erstdiagnose und Transplantation allein für Patienten mit einem MDS oder einer sekundären AML, nicht aber für Patienten mit einer De Novo AML von prognostischer Bedeutung war ($p = 0,044$ für RR, $p = 0,031$ für DFS und $p = 0,013$ für OS in der Subgruppe MDS/sAML).

Bei der Interpretation dieser Ergebnisse muss jedoch bedacht werden, dass der Prognosefaktor „Zeitraum zwischen Erstdiagnose und Transplantation“ mit relevanten Störvariablen assoziiert ist. Analysen zu der Häufigkeitsverteilung der Variablen „Therapie-/Remissionsstatus“ und „Rezidiv in der Vorgeschichte“ belegen, dass sich in der Patientengruppe mit einer Transplantation in den ersten 6 Monaten (< 180 Tage) signifikant mehr Patienten mit einer frühen *First-line* Transplantation, signifikant mehr Patienten mit einer kompletten Remission und signifikant mehr Patienten ohne ein Rezidiv in der Vorgeschichte, befanden ($2 \times 2 \chi^2$ -Test für BSZT < 180 Tage vs. ≥ 180 Tage nach ED: 38 % vs. 16 % für *First-line* BSZT; 31 % vs. 18 % für BSZT in CR, $\chi^2 = 12,77$, $p = 0,002$; 90 % vs. 46 % für BSZT ohne ein Rezidiv in der Vorgeschichte, $\chi^2 = 21,56$, $p < 0,0001$). Zum Vergleich siehe Abbildung 17.

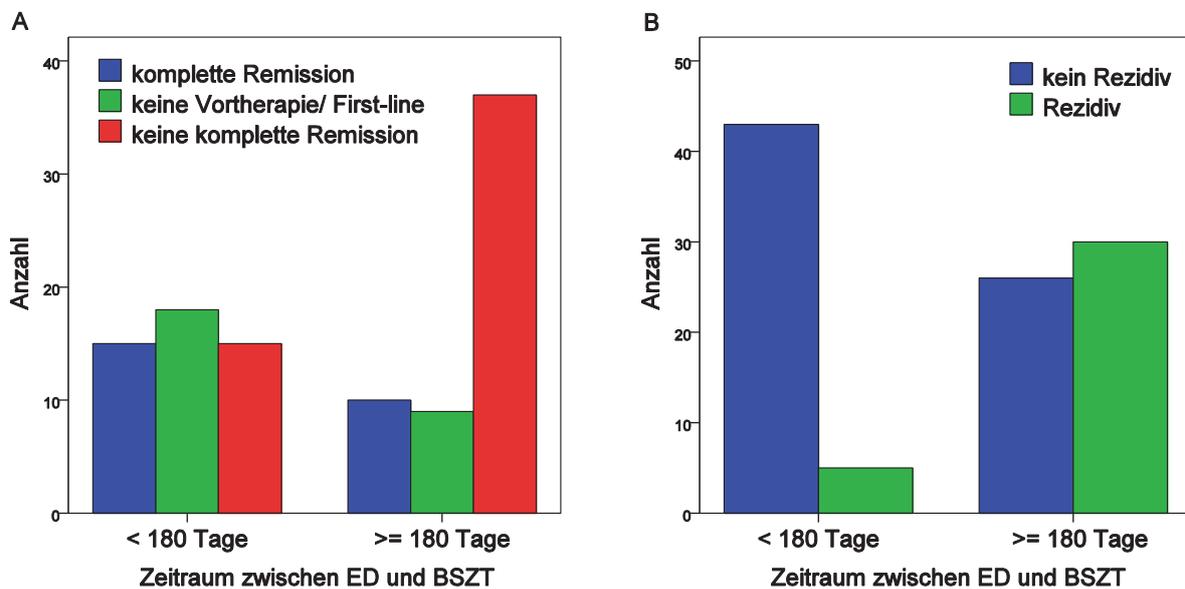


Abbildung 17 Absolute Anzahl von Patienten mit einer BSZT < 180 Tage nach der Erstdiagnose und von Patienten mit einer BSZT ≥ 180 Tage nach der Erstdiagnose der Stammzellneoplasie in Abhängigkeit von dem Therapie- und Remissionsstatus zum Zeitpunkt der BSZT (A), sowie in Abhängigkeit von der Rezidiv-Anamnese vor der BSZT (B).

In der Tabelle 26 werden die univariaten Analyseergebnisse der zeitabhängigen Prognosefaktoren übersichtlich zusammengefasst.

Tabelle 26 Zeitabhängige Prognosefaktoren in der univariaten Analyse

	Gesamtüberleben (OS)		Krankheitsfreies Überleben (DFS)		Rezidivrate (RR)		Therapieassoziierte Mortalität (TRM)	
	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p
Signifikante Ergebnisse								
Jahr der BSZT								
2002-2008	45%		32%		57%		26%	
2009-2013	72%	0,024	42%	0,385	52%	0,697	10%	0,109
Zeit zwischen ED und BSZT								
< 180 Tage	71%		46%		46%		13%	
≥ 180 Tage	50%	0,136	28%	0,045	62%	0,055	21%	0,631

Im Rahmen der univariaten Analysen wurden die Kaplan-Mayer Kurven von zwei Gruppen mit dem *log rank* Test miteinander verglichen. Ein p-Wert < 0,05 wurde als signifikant gewertet. ED = Erstdiagnose, BSZT = Blutstammzelltransplantation

4.4.1.2 Patientenabhängige Prognosefaktoren

Unter den patientenabhängigen Prognosefaktoren erwiesen sich das Alter und die Komorbidität des Patienten zum Zeitpunkt der allogenen BSZT als signifikante Prognosefaktoren in der univariaten Analyse. Patienten, die zum Zeitpunkt der Transplantation jünger als 50 Jahre alt waren starben seltener in Folge therapieassoziiierter Komplikationen und hatten insgesamt ein besseres Gesamtüberleben im Vergleich zu Patienten höheren Alters (4-J-TRM: 5 % vs. 22 %, p = 0,011; 4-J-OS: 74 % vs. 54 %, p = 0,017).

Patienten mit einem hohen Komorbiditätsindex (*Hematopoetic Cell Transplantation-specific Comorbidity Index*, HCT-CI) von ≥ 3 Punkten zum Zeitpunkt der Transplantation, rezidierten häufiger nach der Transplantation und starben auch häufiger therapieassoziiert im Vergleich zu Patienten mit einem niedrigeren Komorbiditätsindex. Bei Patienten mit einem HCT-CI von ≥ 3 Punkten führte das Zusammenspiel von beidem, Erhöhung der TRM und Erhöhung der RR, letztlich zu einer signifikanten Reduktion im krankheitsfreien und Gesamtüberleben (4-J-OS: 39 % vs. 70 %, p = 0,003). Die Tatsache, dass sich der Einfluss der Komorbidität deutlicher auf das Gesamtüberleben als auf das krankheitsfreie Überleben auswirkte, ließ darauf schließen, dass Patienten ohne Begleiterkrankungen oder mit einem niedrigen Komorbiditätsindex von < 3 Punkten im Falle eines Rezidivs erfolgreicher therapiert werden konnten als vergleichsweise Patienten mit einem Komorbiditätsindex von ≥ 3 Punkten. Siehe Abbildung 18.

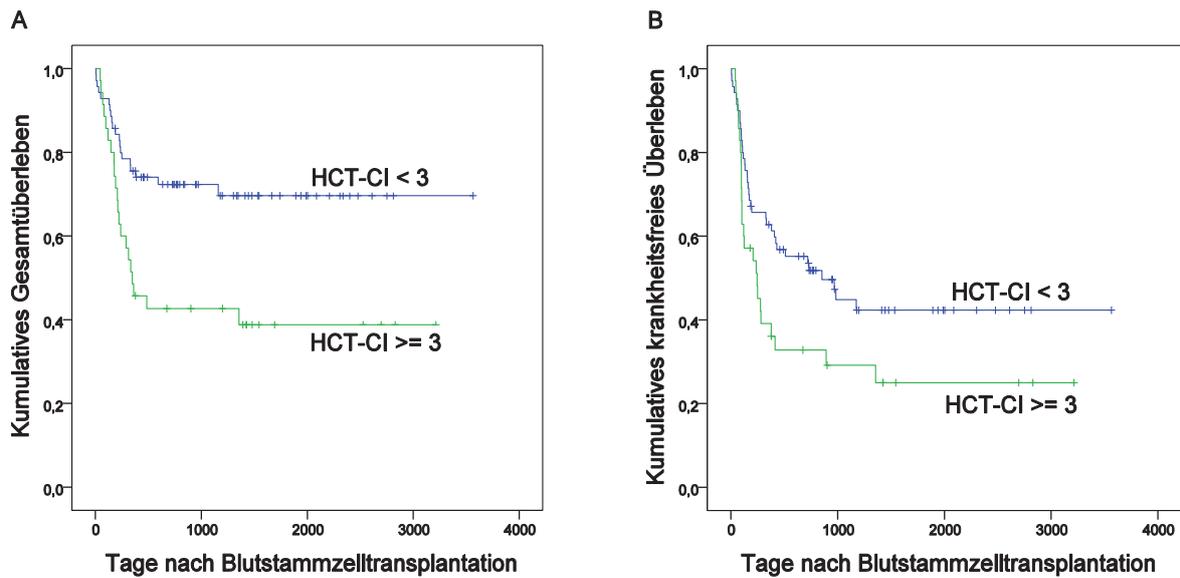


Abbildung 18 (A) Gesamtüberleben ($p = 0,003$) und (B) krankheitsfreies Überleben ($p = 0,037$) von Patienten mit einem Komorbiditätsindex (HCT-CI) von < 3 Punkten und von Patienten mit einem Komorbiditätsindex von ≥ 3 Punkten.

In einer ergänzenden Subgruppenanalyse zu dem Prognosefaktor Patientenalter fiel auf, dass Patienten der Altersgruppe 50-60 Jahre bei annähernd gleicher Rezidivrate signifikant häufiger an therapieassoziierten Komplikationen verstarben im Vergleich zu der Altersgruppe < 50 Jahre (4-J-RR: 54 % für < 50 Jahre vs. 49 % für 50-60 Jahre, $p = 0,722$, $p = 0,476$ für den Vergleich aller drei Altersgruppen; 4-J-TRM: 4 % für < 50 Jahre vs. 32 % für 50-60 Jahre, $p = 0,004$, $p = 0,015$ für den Vergleich aller drei Altersgruppen). Das Gesamtüberleben der Patientengruppe mit dem Alter von 50-60 Jahren wurde hierdurch deutlich vermindert und glich sich nach 4 Jahren dem Gesamtüberleben der über 60-Jährigen an (4-J-OS: 52 % für 50-60 Jahre vs. 46 % für > 60 Jahre, $p = 0,705$, $p = 0,055$ für den Vergleich aller drei Altersgruppen). Zum Vergleich siehe Abbildung 19 und Tabelle 28.

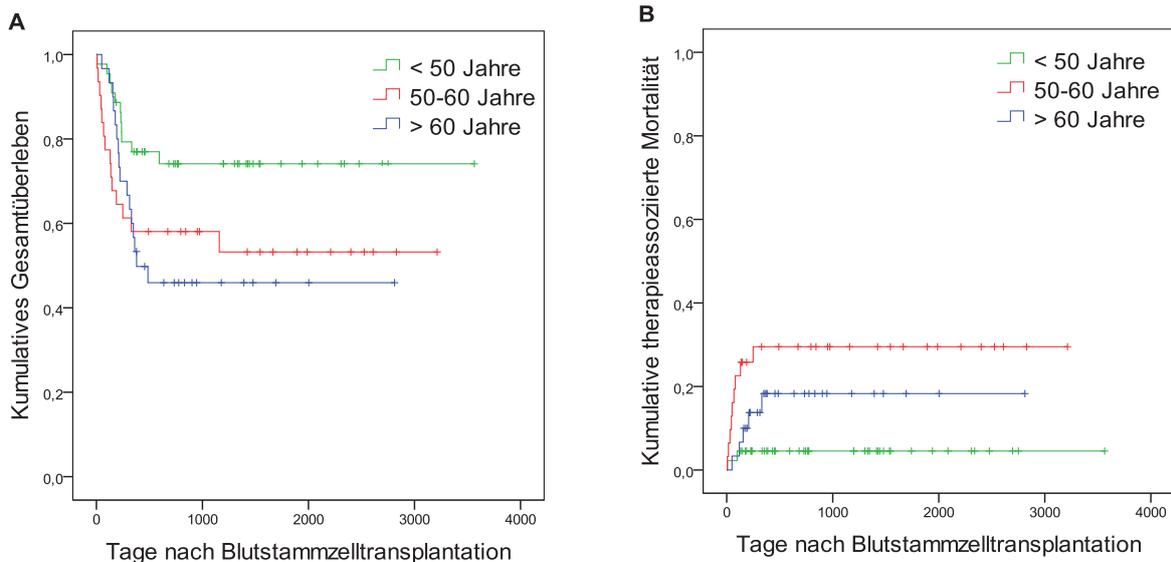


Abbildung 19 (A) Gesamtüberleben ($p = 0,055$) und (B) therapieassoziierte Mortalität ($p = 0,015$) von Patienten im Alter von < 50 Jahren, im Alter zwischen 50 und 60 Jahren und im Alter > 60 Jahren zum Zeitpunkt der allogenen Blutstammzelltransplantation.

Wir gingen der Frage nach, warum Patienten im Alter von 50-60 Jahren ($n = 31$) vergleichsweise oft an therapieassoziierten Komplikationen verstarben. Zum einen liegt dies sehr wahrscheinlich in dem Therapieprotokoll und dem zu Folge in der altersadaptierten Dosierung von Melphalan begründet (< 50 Jahre: 175-200 mg pro m^2 KO; 50-60 Jahre: 140-150 mg pro m^2 KO; > 60 Jahre: 75-100 mg pro m^2 KO). Zum anderen können auch erhöhte Komorbiditäten ein ausschlaggebender Faktor für die Erhöhung der therapieassoziierten Mortalität in der Altersgruppe 50-60 Jahre gewesen sein. Dementsprechend fanden wir signifikante Unterschiede in den Häufigkeitsverteilungen der Kovariablen Komorbidität und Konditionierungsintensität (Siehe Tabelle 27). In der Altersgruppe der 50-60-Jährigen betrug bei 39 % der Patienten der Komorbiditätsindex ≥ 3 Punkte zum Zeitpunkt der Transplantation.

Bei einem genaueren Blick in den Datensatz, zeigte sich dass insgesamt 9 Patienten (29 %) aus der Gruppe der 50-60 Jährigen ($n = 31$) in dem Beobachtungszeitraum an therapieassoziierten Komplikationen verstarben. Hiervon hatten 4 Patienten eine Melphalan-Dosierung von 175-200 mg/ m^2 KO und 5 Patienten eine Melphalan-Dosierung von 140-150 mg/ m^2 KO erhalten. Es fiel auf, dass jeweils 2 der Patienten im Alter von 50-60 Jahren, die mit 175-200 mg/ m^2 KO Melphalan konditioniert wurden und nach BSZT einem therapieassoziierten Tod erlagen, einen HCT-CI im Mittleren- (1-2) und Hochrisiko-Bereich (≥ 3) zum Zeitpunkt der BSZT aufwiesen. Auch in der Gruppe der 50-60 Jährigen mit einer 140-150 mg/ m^2 Melphalan-Konditionierung und einem therapieassoziierten Tod nach BSZT betrug der HCT-CI bei 3 Patienten ≥ 3 Punkte ($n = 5$; 1 Patient mit HCT-CI von 0; 1 Patient mit HCT-CI von 1-2).

Für Patienten mit einem HCT-CI im Hochrisiko-Bereich war die Intensität der Melphalan-Konditionierung möglicherweise zu hoch bemessen. Die deutliche Erhöhung der therapieassoziierten Mortalität, insbesondere bei Patienten im Alter zwischen 50 und 60 Jahren, könnte somit durch die Koexistenz schwerer Begleiterkrankungen und relativ hierzu einer zu hohen Melphalan-Dosierung bedingt sein.

Tabelle 27 Signifikante Unterschiede in den drei Subgruppen anhand des Patientenalters

Merkmal	< 50 Jahre n (%)	50-60 Jahre n (%)	> 60 Jahre n (%)	p
HCT-CI				
< 3 Punkte	36 (82 %)	19 (61 %)	15 (50 %)	
≥ 3 Punkte	8 (18 %)	12 (39 %)	15 (50 %)	0,013
Melphalan-Dosierung				
75-100 mg/m ² KO	1 (2 %)	3 (10 %)	22 (73 %)	
140-150 mg/m ² KO	10 (23 %)	21 (68 %)	8 (27 %)	
175-200 mg/m ² KO	33 (75 %)	7 (23 %)	0 (0 %)	0,0001

HCT-CI = Blutstammzelltransplantations-spezifischer Komorbiditätsindex (*Hematopoetic Cell Transplantation-specific Comorbidity Index*), KO = Körperoberfläche

Anders als das Alter und die Komorbidität des Patienten, hatten die Patientenabhängigen Prognosefaktoren „Patientengeschlecht“ und „CMV-Status des Patienten“ keinen signifikanten Einfluss auf das Überleben nach der Konditionierung mit FLAMSA-Mel und anschließender BSZT. Keiner der untersuchten patientenabhängigen Prognosefaktoren hatte eine prognostische Bedeutung für die Inzidenz der GVHD im Verlauf nach der allogenen BSZT. Tabelle 28 fasst die Ergebnisse der univariaten Analyse patientenabhängiger Prognosefaktoren für die vier Zielvariablen Gesamtüberleben (OS), krankheitsfreies Überleben (DFS), Rezidivrate (RR) und therapieassoziierte Mortalität (TRM) zusammen.

Tabelle 28 Patientenabhängige Prognosefaktoren in der univariaten Analyse

	Gesamtüberleben (OS)		Krankheitsfreies Überleben (DFS)		Rezidivrate (RR)		Therapieassoziierte Mortalität (TRM)	
	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p
Signifikante Ergebnisse								
Patientenalter								
< 50 Jahre	74 %		44 %		54 %		5 %	
≥ 50 Jahre	54 %	0,017	31 %	0,122	55 %	0,763	27 %	0,011
Patientenalter								
< 50 Jahre	74 %		44 %		54 %		4 %	
50-60 Jahre	52 %		34 %		49 %		32 %	
> 60 Jahre	46 %	0,055	29 %	0,231	60 %	0,476	18 %	0,015
HCT-CI								
< 3 Punkte	70 %		42 %		51 %		12 %	
≥ 3 Punkte	39 %	0,003	25 %	0,037	62 %	0,146	28 %	0,132
HCT-CI								
0 Punkte	74 %		45 %		49 %		12 %	
1-2 Punkte	65 %		39 %		54 %		11 %	
≥ 3 Punkte	39 %	0,011	25 %	0,113	62 %	0,342	28 %	0,321
Nicht-signifikante Ergebnisse								
Patientengeschlecht								
Männlich	61 %		41 %		49 %		17 %	
Weiblich	57 %	0,388	32 %	0,083	60 %	0,112	17 %	0,563
CMV-Status des Patienten								
Negativ	62 %		38 %		54 %		17 %	
Positiv	56 %	0,963	35 %	0,955	54 %	0,862	18 %	0,617

Im Rahmen der univariaten Analysen wurden die Kaplan-Mayer Kurven von zwei oder mehr Gruppen mit dem *log rank* Test miteinander verglichen. Ein p-Wert < 0,05 wurde als signifikant gewertet. HCT-CI = Blutstammzelltransplantations-spezifischer Komorbiditätsindex (*Hematopoietic Cell Transplantation-specific Comorbidity Index*), CMV = Cytomegalievirus

4.4.1.3 Spender- und Transplantatabhängige Prognosefaktoren

Die univariate Analyse der Spender- und Transplantatabhängigen Prognosefaktoren führte zu dem Ergebnis, dass die Transplantation mit einem Fremdspender und die Transplantation mit einem HLA-*mismatched* Spender in unserem Hochrisiko-Kollektiv mit einer signifikanten Erhöhung der Rezidivrate nach allogener BSZT assoziiert waren (4-J-RR: 65 % vs. 34 %, p = 0,032 für Fremd- vs. Familienspender; 4-J-RR: 93 % vs. 46 %, p < 0,0001 für HLA-*mismatch* vs. HLA-identischer Spender). Siehe Abbildung 20. Die Transplantation mit einem HLA-*mismatched* Spender resultierte zudem in einem signifikant verminderten krankheitsfreien wie auch Gesamtüberleben (4-J-DFS: 7 % vs. 43 %, p = 0,006; 4-J-OS: 32 % vs. 64 %, p = 0,025).

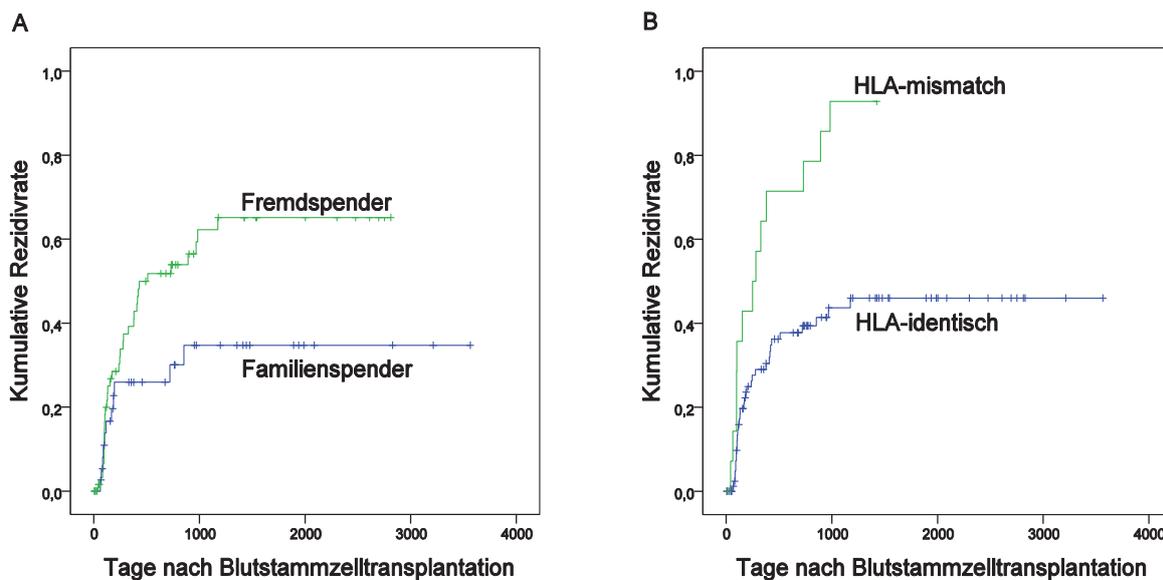


Abbildung 20 (A) Rezidivrate von Patienten mit einer Fremdspender-Transplantation im Vergleich zu Patienten mit einer Familienspender-Transplantation ($p = 0,032$). **(B)** Rezidivrate von Patienten mit einem HLA-*mismatched* Spender im Vergleich zu Patienten mit einem HLA-identischen Spender ($p < 0,0001$).

Da Patienten mit einem Fremdspender und Patienten mit einem HLA-*mismatched* Spender Anti-Human-T-Lymphozyten Immunglobulin (ATG-Fresenius®/Grafalon®, ATG) erhielten, ist die ATG-Gabe im Rahmen der Konditionierung in diesen Fällen eine intervenierende Variable. Ein 2×2 χ^2 -Test bestätigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen der ATG-Gabe und dem Verwandtschaftsgrad zwischen Spender und Patient ($\chi^2 = 70,34$, $p < 0,0001$), sowie der ATG-Gabe und der HLA-Kompatibilität zwischen Spender und Patient ($\chi^2 = 7,67$, $p = 0,006$). Neunundneunzig Prozent der Patienten mit einer Fremdspender-Transplantation ($n = 65$) und 100 % der Patienten mit einer Transplantation mit einem HLA-*mismatched* Spender ($n = 15$) wurden im Rahmen der Konditionierung mit ATG behandelt. Unter den Patienten mit einer Familienspender-Transplantation betrug die Rate der ATG-Applikationen 20 % ($n = 8$; $n = 1$ HLA-*mismatched*, $n = 7$ HLA-identisch). Ein Patient, der mit ATG behandelt wurde, hatte einen HLA-*mismatched* Familienspender. Zum Vergleich siehe Abbildung 21.

Auf die besondere prognostische Bedeutung der *in vivo* T-Zell Depletion mit ATG für unser Hochrisiko-Kollektiv wird gesondert in dem Ergebnisteil „Therapieabhängige Prognosefaktoren“ eingegangen.

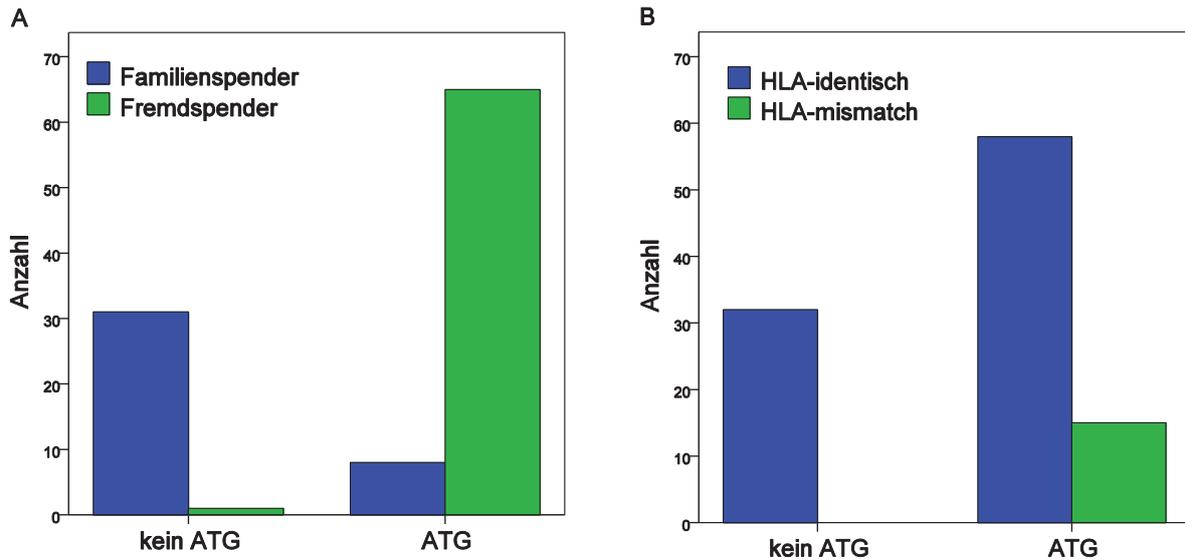


Abbildung 21 (A) Absolute Anzahl von Patienten mit einem Familienspender und einem Fremdspender in Abhängigkeit von der ATG-Gabe im Rahmen der Konditionierung. (B) Absolute Anzahl von Patienten mit einem HLA-identischen/-kompatiblen Spender und einem HLA-mismatch Spender in Abhängigkeit von der ATG-Gabe im Rahmen der Konditionierung.

Des Weiteren war die Transplantation mit einem weiblichen Spender, im Vergleich zu der Transplantation mit einem männlichen Spender, mit einer niedrigeren therapieassoziierten Mortalität und einem besseren Gesamtüberleben assoziiert. Die Ergebnisse verfehlten jedoch das Signifikanzniveau (4-J-TRM: 8 % vs. 24 %, $p = 0,078$; 4-J-OS: 72 % vs. 51 %, $p = 0,066$). Bei dem Vergleich der Geschlechterkonstellation weiblicher Spender bei männlichem Patient mit dem Rest des Kollektivs zeigte sich jedoch ein signifikanter Unterschied im Gesamtüberleben zu Gunsten von männlichen Patienten, die mit einem weiblichen Spender transplantiert wurden (4-J-OS: 79 % für Spender weiblich/ Patient männlich vs. 53 % für andere Konstellationen, $p = 0,044$). Das verbesserte Gesamtüberleben bei männlichen Patienten, die mit einem weiblichen Spender transplantiert wurden, resultierte hauptsächlich aus einer verminderten Rate therapieassoziiertes Todesfälle (4-J-TRM: 4 % vs. 22 %, $p = 0,084$). Aber auch die Rezidivrate von männlichen Patienten mit einem weiblichen Spender war leicht, wenn auch nicht signifikant, vermindert (4-J-RR: 44 % vs. 58 %, $p = 0,390$).

Die Transplantation von Patienten mit CMV-ungleichen Spendern (Spender positiv/ Patient negativ oder Spender negativ/ Patient positiv), sowie die Transplantation von CMV-negativen Patienten mit CMV-positiven Spendern war in unserer Studie mit einem Anstieg der TRM assoziiert (4-J-TRM: 24 % für CMV-ungleich vs. 14 % CMV-identisch, $p = 0,045$; 4-J-TRM: 33 % für Spender positiv/ Patient negativ vs. 16 % für andere CMV-Konstellationen, $p = 0,040$). Das krankheitsfreie Überleben und das Gesamtüberleben wurden hierdurch jedoch nicht beeinflusst.

Das Geschlecht des Spenders und der CMV-Status des Spenders, unabhängig von dem Geschlecht und CMV-Status des Patienten betrachtet, waren für das Transplantationsergebnis nicht von Bedeutung. Siehe Tabelle 29.

Auch die Anzahl der CD34-positiven Zellen im Transplantat hatte keinen signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben, das krankheitsfreie Überleben, die Rezidivrate oder die therapieassoziierte Mortalität. Jedoch zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang der CD34+ Zellzahl im Transplantat und der Inzidenz der chronischen GVHD im Verlauf nach der BSZT. Patienten, denen 5×10^6 oder mehr CD34+ Zellen/kg Körpergewicht (KG) transplantiert worden waren, entwickelten signifikant häufiger eine chronische GVHD im Vergleich zu Patienten mit geringeren CD34-positiven Zellzahlen im Transplantat (4-J-I cGVHD: 58 % vs. 32 %, $p = 0,047$). Siehe Abbildung 22.

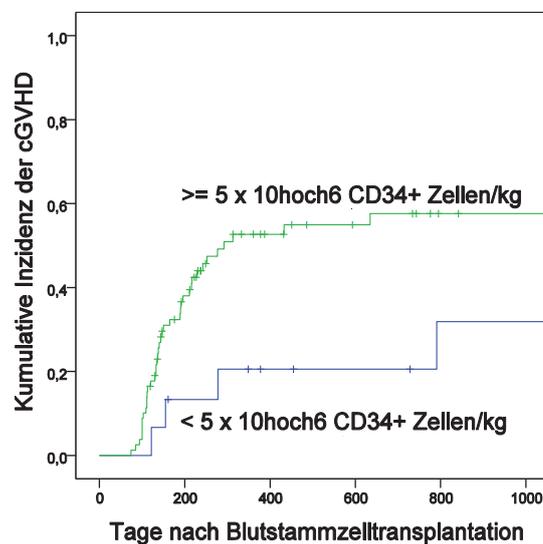


Abbildung 22 Inzidenz der chronischen GVHD in Patienten mit $< 5 \times 10^6$ CD34+ Zellen pro kg Körpergewicht im Transplantat und in Patienten mit $\geq 5 \times 10^6$ CD34+ Zellen pro kg Körpergewicht im Transplantat ($p = 0,047$).

In einer ergänzenden Analyse zu den Schweregraden der cGVHD (*limited* und *extensive*) fiel auf, dass Patienten mit 8×10^6 /kg KG transplantierten CD34+ Zellen oder mehr signifikant häufiger eine *extensive* cGVHD entwickelten, als Patienten mit weniger als 8×10^6 /kg KG transplantierten CD34+ Zellen (4-J-I cGVHD: 16 % vs. 2 %, $p = 0,017$). Siehe Abbildung 23. Der für die Inzidenz der cGVHD signifikant getestete Grenzwert von < 5 vs. $\geq 5 \times 10^6$ CD34+ Zellen pro kg KG zielte im Hinblick auf die Inzidenz der *extensive* cGVHD jedoch kein signifikantes Ergebnis.

Die Inzidenz der *limited* chronischen GVHD wurde von der Anzahl der CD34+ Zellen im Transplantat nicht signifikant beeinflusst, weder bei einem Grenzwert von 5×10^6 Zellen noch bei einem Grenzwert von 8×10^6 CD34+ Zellen/kg KG ($p = 0,312$ für den Vergleich < 8 vs. $\geq 8 \times 10^6$ /kg KG und p

= 0,167 für den Vergleich $< 5 \times 10^6$ vs. $\geq 5 \times 10^6$ /kg KG). Auch die Inzidenz der akuten GVHD unterschied sich nicht signifikant in Abhängigkeit von der Anzahl der CD34+ Zellen.

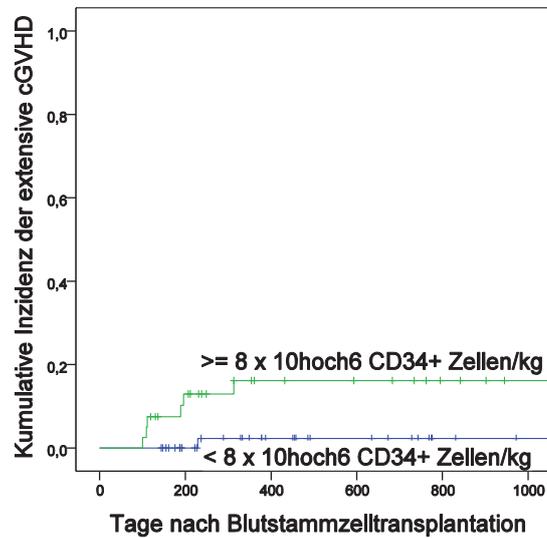


Abbildung 23 Inzidenz der *extensive* chronischen GVHD in Patienten mit $< 8 \times 10^6$ /kg KG CD34+ Zellen im Transplantat und in Patienten mit $\geq 8 \times 10^6$ /kg KG CD34+ Zellen im Transplantat ($p = 0,017$).

Die Tabelle 29 fasst die Ergebnisse der univariaten Analyse der Spender- und transplantatabhängigen Prognosefaktoren für die vier Zielvariablen OS, DFS, RR und TRM zusammen.

Tabelle 29 Spender- und transplantatabhängige Prognosefaktoren in der univariaten Analyse

	Gesamtüberleben (OS)		Krankheitsfreies Überleben (DFS)		Rezidivrate (RR)		Therapieassoziierte Mortalität (TRM)	
	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p
Signifikante Ergebnisse								
Verwandtschaftsgrad								
Familienspender	64%		49%		35%		23%	
Fremdspender	56%	0,425	30%	0,101	65%	0,032	14%	0,625
HLA-Kompatibilität								
HLA-identisch/-kompatibel	64%		43%		46%		19%	
HLA-mismatch	32%	0,025	7%	0,006	93%	0,0001	7%	0,386
Geschlechterkonstellation								
Spender w/ Patient m	79%		50%		44%		4%	
Andere	53%	0,044	32%	0,187	58%	0,390	22%	0,084
CMV-Konstellation								
CMV-identisch	64 %		37 %		56 %		14 %	
CMV-ungleich	47 %	0,085	36 %	0,380	48 %	0,628	25 %	0,045
CMV-Konstellation								
Spender pos/ Patient neg	58 %		42 %		36 %		33 %	
Andere	59 %	0,651	36 %	0,702	56 %	0,448	16 %	0,040
Nicht-signifikante Ergebnisse								
Spendergeschlecht								
Weiblich	72%		47%		47%		8%	
Männlich	51%	0,066	30%	0,198	59%	0,460	24%	0,078
Geschlechterkonstellation								
Spender m/ Patient m	49 %		35 %		52 %		26 %	
Spender w/ Patient w	62 %		42 %		51 %		12 %	
Spender m/ Patient w	54 %		27 %		65 %		20 %	
Spender w/ Patient m	79 %	0,221	50 %	0,174	44 %	0,323	4 %	0,311
CMV-Status des Spenders								
Negativ	56 %		36 %		57 %		14 %	
Positiv	63 %	0,428	37 %	0,866	52 %	0,916	20 %	0,815
CMV-Konstellation								
Spender neg/ Patient pos	40 %		32 %		55 %		20 %	
Andere	63 %	0,094	38 %	0,465	54 %	0,977	16 %	0,456
CMV-Konstellation								
Spender neg/ Patient neg	65 %		37 %		58 %		11 %	
Spender pos/ Patient pos	64 %		39 %		53 %		16 %	
Spender pos/ Patient neg	58 %		42 %		36 %		33 %	
Spender neg/ Patient pos	40 %	0,333	32 %	0,821	55 %	0,886	20 %	0,147
Anzahl der CD34+ Zellen im Transplantat (10 ⁶ /kg KG)								
< 8	61 %		41 %		49 %		15 %	
≥ 8	57 %	0,764	29 %	0,487	64 %	0,555	19 %	0,384
< 5	41 %		49 %		41 %		11 %	
≥ 5	29 %	0,360	34 %	0,371	58 %	0,271	18 %	0,636

Im Rahmen der univariaten Analysen wurden die Kaplan-Mayer Kurven von zwei oder mehr Gruppen mit dem *log rank* Test miteinander verglichen. Ein p-Wert < 0,05 wurde als signifikant gewertet. w = weiblich, m = männlich, CMV = Cytomegalievirus, pos = positiv, neg = negativ

4.4.1.4 Krankheitsspezifische Prognosefaktoren

Unter den krankheitsspezifischen Prognosefaktoren hatten eine intensive Vortherapie, ein Rezidiv in der Vorgeschichte, ein hoher Blastenanteil zum Zeitpunkt der Transplantation, die Transplantation ohne eine komplette Remission erreicht zu haben (Non-CR) und eine ungünstige Zytogenetik einen signifikanten Einfluss auf das Überleben nach BSZT.

Als Maß für die Intensität der Vortherapie betrachteten wir die Anzahl der im Rahmen der Vortherapie applizierten Chemotherapiezyklen. Die Applikation von 5 Chemotherapiezyklen oder mehr erwies sich als ein signifikanter Risikofaktor für eine erhöhte Rezidivrate, sowie ein vermindertes krankheitsfreies und Gesamtüberleben nach der Transplantation (< 5 vs. \geq 5 Chemotherapiezyklen: 4-J-RR: 50 % vs. 70 %, $p = 0,026$; 4-J-DFS: 43 % vs. 0 %, $p = 0,011$; 4-J-OS: 66 % vs. 27 %, $p = 0,018$).

Für Patienten, die vor der allogenen BSZT ein Rezidiv erlitten hatten, war das Gesamtüberleben im Vergleich zu Patienten ohne ein Rezidiv in der Vorgeschichte signifikant vermindert (4-J-OS: 40 % vs. 68 %, $p = 0,015$). Die Rezidivrate, die therapieassoziierte Mortalität und das krankheitsfreie Überleben von Patienten mit und ohne einem Rezidiv in der Vorgeschichte fielen hingegen annähernd gleich aus ($p = 0,204$ für RR, $p = 0,501$ für TRM und $p = 0,456$ für DFS). Dieses Ergebnis lässt darauf schließen, dass Patienten mit einem Rezidiv in der Vorgeschichte im Falle eines erneuten Rezidivs nach der allogenen Blutstammzelltransplantation nur selten erfolgreich therapiert werden konnten. Ein Rezidiv in der Vorgeschichte war somit ein Risikofaktor für eine hohe Mortalität im Falle eines erneuten Rezidivs nach der allogenen BSZT. Zum Vergleich siehe Abbildung 24.

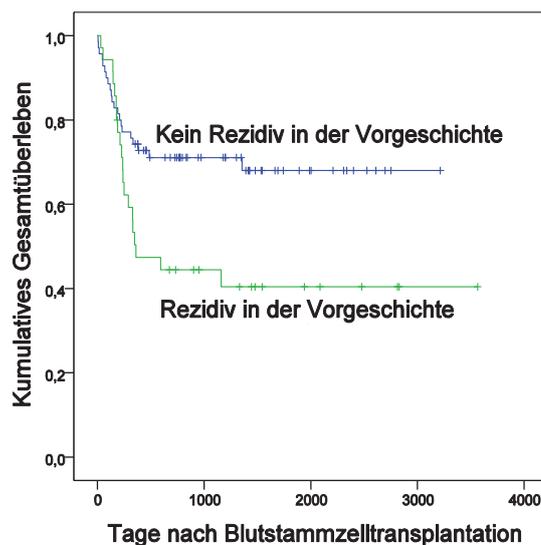


Abbildung 24 Gesamtüberleben von Patienten ohne ein Rezidiv und von Patienten mit einem Rezidiv in der Vorgeschichte vor der allogenen Blutstammzelltransplantation ($p = 0,015$).

In einer ergänzenden Subgruppenanalyse wurde der Frage nachgegangen inwieweit sich das Überleben von Patienten mit einem Rezidiv in der Vorgeschichte unterscheidet, wenn diese entweder erneut konventionell chemotherapiert oder unmittelbar nach der Rezidiv-Diagnose mit dem FLAMSA-Mel Protokoll therapiert und allogenen blutstammzelltransplantiert wurden. Die Analysen deuten an, dass durch eine frühe Transplantation nach einem Rezidiv, ohne weitere vorausgehende Chemotherapien, die Rezidivrate wie auch die therapieassoziierte Mortalität gesenkt und das Überleben verbessert werden kann (4-J-TRM: 7 % vs. 29 %, $p = 0,071$; 4-J-RR: 51 % vs. 70 %, $p = 0,190$; 4-J-DFS: 42 % vs. 26 %, $p = 0,129$; 4-J-OS: 47 % vs. 32 %, $p = 0,167$). Womöglich aufgrund der niedrigen Fallzahlen wurde das Signifikanzniveau in der univariaten Analyse nicht erreicht ($n = 21$ für das nicht therapierte Rezidiv und $n = 14$ für das therapierte Rezidiv).

In der vorliegenden Studie wurden 28 Patienten unmittelbar nach ihrer Krankheitsdiagnose mit FLAMSA-Mel behandelt und früh allogenen stammzelltransplantiert (sogenannte Erstlinien-Transplantation, *First-line*; 16 MDS, 3 MPE, 7 sAML aus MDS, 2 sAML aus MPE). Siebenundsiebzig Patienten erhielten vor der BSZT eine zytoreduktive Vortherapie zwecks Remissionsinduktion und Krankheitskontrolle.

Wir untersuchten zunächst die prognostische Bedeutung des Remissionsstatus zum Zeitpunkt der Transplantation in der Patientengruppe mit einer Vortherapie ($n = 77$). Für Patienten, die nach einer Chemotherapie keine komplette Remission vor der Transplantation erreichten, war das Rezidivrisiko und das Risiko eines rezidivassoziierten Todes signifikant erhöht, das Gesamtüberleben signifikant vermindert (4-J-RR: 66 % vs. 34 %; 4-J-DFS: 29 % vs. 47 %, $p = 0,060$; 4-J-OS: 43 % vs. 75 %, $p = 0,011$). Im Anschluss verglichen wir das Transplantationsergebnis der vortherapierten Patienten, mit dem Transplantationsergebnis von Patienten, die frühzeitig ohne eine Vortherapie transplantiert wurden. Im Vergleich zu den vortherapierten Patienten, zeigte sich für Patienten mit einer *First-line* Transplantation ein Trend hin zu einer niedrigeren Rezidivrate (2-J-RR: 28 % vs. 49 % und 4-J-RR: 48 % vs. 56 %, $p = 0,147$). Bei ähnlichem krankheitsfreien Überleben, erzielten Patienten mit einer *First-line* Transplantation ein besseres Gesamtüberleben im Vergleich zu vortherapierten Patienten (4-J-OS: 75 % vs. 53 %, $p = 0,139$; 4-J-DFS: 41 % vs. 35 %, $p = 0,425$). Demzufolge war eine erneute Therapie im Falle eines Rezidivs im Verlauf nach der Transplantation bei Patienten mit einer *First-line* Transplantation häufiger erfolgreich als bei vortherapierten Patienten. Verglichen wir frühzeitig transplantierte Patienten mit vortherapierten Patienten, mit oder ohne Erreichen einer CR vor der Transplantation, so fiel auf, dass sich das Transplantationsergebnis von Patienten mit einer frühen *First-line* Transplantation einerseits und von Patienten mit einer Transplantation in CR andererseits kaum voneinander unterschieden. Für Patienten mit einer *First-line* Transplantation war die Rezidivrate geringfügig höher und das krankheitsfreie Überleben niedriger, wobei die 4-Jahres Gesamtüberlebensrate von Patienten mit Transplantation in CR und Patienten mit einer frühen *First-*

line Transplantation identisch ausfiel (4-J-RR: 48 % für *First-line* vs. 33 % für CR, $p = 0,514$; 4-J-DFS: 41 % für *First-line* vs. 47 % für CR, $p = 0,550$; 4-J-OS: 75 % für *First-line* vs. 75 % für CR, $p = 0,678$). Der Vergleich von früh transplantierten Patienten mit Patienten, die durch eine Vortherapie keine CR vor Transplantation erreichten, demonstriert einen klaren Vorteil der frühzeitigen, sogenannten *First-line* Transplantation: Die Rezidivrate war signifikant niedriger und das Gesamtüberleben signifikant verbessert (4-J-RR: 48 % für *First-line* vs. 66 % für Non-CR, $p = 0,022$; 4-J-OS: 75 % für *First-line* vs. 43 % für Non-CR, $p = 0,030$). Zum Vergleich siehe Abbildung 25. Die Tabelle 30 stellt das Transplantationsergebnis von Patienten, die eine komplette Remission vor der BSZT erreichten, von Patienten mit einer *First-line* Transplantation und von Patienten, die durch eine Vortherapie vor der BSZT keine komplette Remission erreichten, übersichtlich dar.

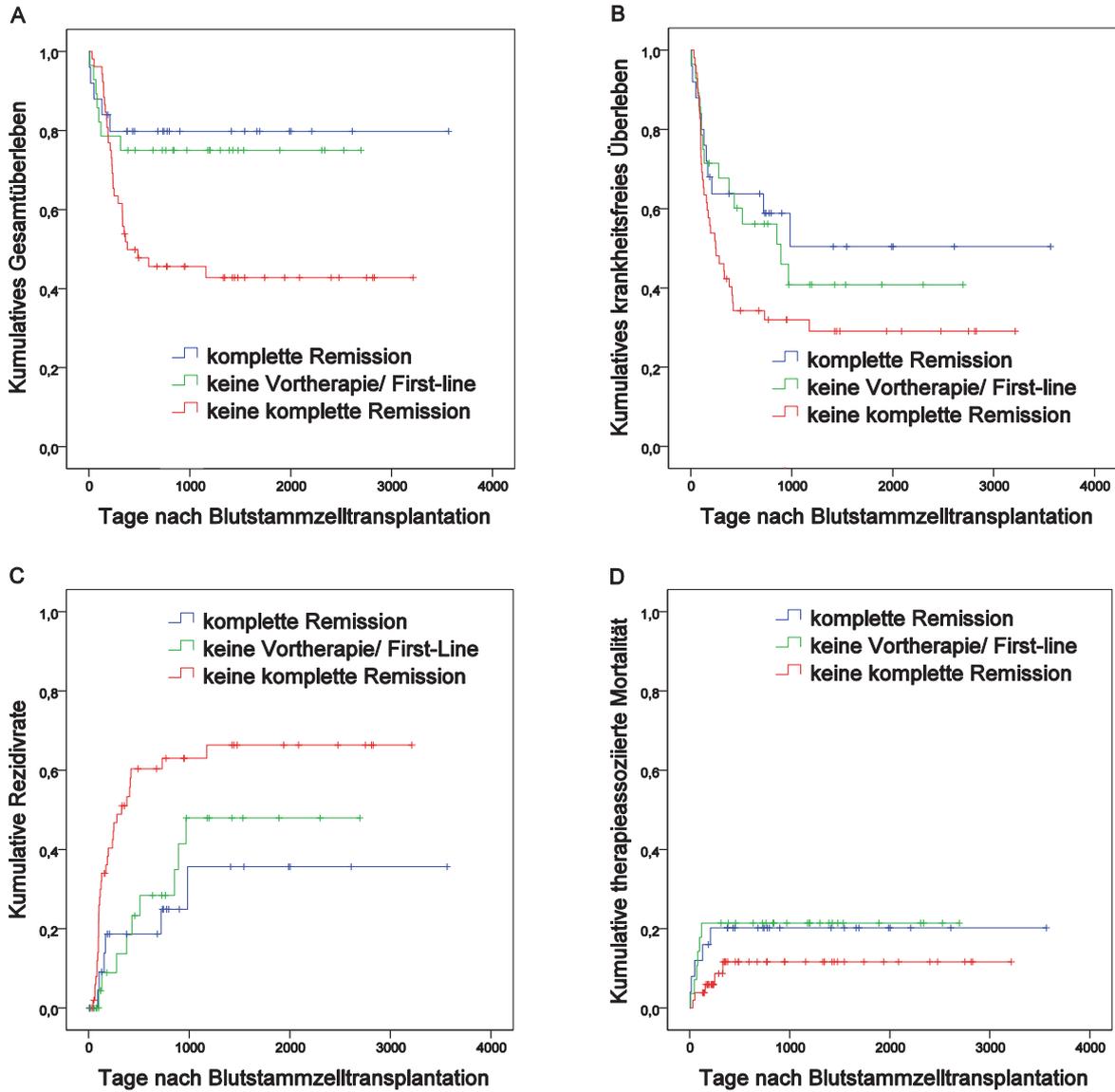


Abbildung 25 (A) Gesamtüberleben ($p = 0,014$), (B) krankheitsfreies Überleben ($p = 0,122$), (C) Rezidivrate ($p = 0,007$) und (D) therapieassoziierte Mortalität ($p = 0,311$) von Patienten mit einer *First-line* Transplantation, von Patienten mit dem Erreichen einer kompletten Remission und von Patienten ohne Erreichen einer kompletten Remission zum Zeitpunkt der allogenen Blutstammzelltransplantation.

Tabelle 30 Transplantationsergebnis in Abhängigkeit von dem Remissions- und Therapiestatus zum Zeitpunkt der allogenen Blutstammzelltransplantation

	Gesamtüberleben (OS)	Krankheitsfreies Überleben (DFS)	Rezidivrate (RR)	Therapieassoziierte Mortalität (TRM)
Komplette Remission zum Zeitpunkt der BSZT (CR)				
31-T-R (% , SF)	92 (5,4)	92 (5,4)	0 (0,0)	8 (5,4)
100-T-R (% , SF)	88 (6,5)	84 (7,3)	4 (4,4)	16 (7,3)
1-J-R (% , SF)	80 (8,1)	64 (9,7)	19 (8,4)	20 (8,1)
4-J-R (% , SF)	80 (8,1)	50 (11,6)	36 (13,0)	20 (8,1)
MÜ (Tage, SF)	2861 (281)	1953 (364)	2468 (383)	2861 (281)
Keine Vortherapie vor der BSZT (First-line BSZT)				
31-T-R (% , SF)	96 (3,5)	96 (3,5)	0 (0,0)	4 (3,5)
100-T-R (% , SF)	82 (7,2)	82 (7,2)	0 (0,0)	18 (7,2)
1-J-R (% , SF)	75 (8,2)	68 (8,9)	14 (7,4)	21 (7,8)
4-J-R (% , SF)	75 (8,2)	41 (10,2)	48 (12,0)	21 (7,8)
MÜ (Tage, SF)	2048 (212)	1324 (235)	1669 (254)	2133 (204)
Keine komplette Remission zum Zeitpunkt der BSZT (Non-CR)				
31-T-R (% , SF)	98 (1,9)	98 (1,9)	0 (0,0)	2 (1,9)
100-T-R (% , SF)	96 (2,7)	73 (6,2)	24 (6,0)	6 (2,7)
1-J-R (% , SF)	52 (6,9)	42 (6,9)	51 (7,2)	12 (5,0)
4-J-R (% , SF)	43 (7,1)	29 (6,6)	66 (7,3)	12 (5,0)
MÜ (Tage, SF)	1540 (206)	1098 (195)	1250 (212)	2861 (151)

31-T-R = Geschätzte Rate nach 31 Tagen, 100-T-R = Geschätzte Rate nach 100 Tagen, 1-J-R = Geschätzte Rate nach einem Jahr, 4-J-R = Geschätzte Rate nach vier Jahren, MÜ = Mittlere Überlebenszeit (insgesamt, krankheitsfrei, ohne Rezidiv, ohne therapieassoziierten Tod), BSZT = Blutstammzelltransplantation, SF = Standardfehler

In einem weiteren Schritt untersuchten wir die prognostische Bedeutung des Blastenanteils im Knochenmark zum Zeitpunkt der Transplantation im Gesamtkollektiv und isoliert für Patienten mit einer frühen Transplantation. Im dem Gesamtkollektiv war ein prozentualer Blastenanteil im Knochenmark von $\geq 6\%$ zum Zeitpunkt der Transplantation ein signifikanter Risikofaktor für ein Rezidiv, sowie ein vermindertes krankheitsfreies und Gesamtüberleben nach der Transplantation (4-J-RR: 62 % vs. 37 %, $p = 0,029$; 4-J-DFS: 31 % vs. 49 %, $p = 0,042$; 4-J-OS: 52 % vs. 73 %, $p = 0,015$). Auch in der Patientengruppe der frühzeitig, *First-line* Transplantierten war ein Blastenanteil von $\geq 6\%$ Blasten im Knochenmark zum Zeitpunkt der Transplantation tendenziell mit einem Anstieg der Rezidivrate und einer Reduktion des krankheitsfreien Überlebens assoziiert (4-J-RR: 59 % vs. 0 %, $p = 0,085$; 4-J-DFS: 32 % vs. 80 %, $p = 0,158$). Letzten Endes hatte der Blastenanteil im Knochenmark jedoch keinen Einfluss auf das Gesamtüberleben in der Patientengruppe der frühzeitig Transplantierten ($\geq 6\%$ vs. $< 6\%$ Blasten; 4-J-OS: 74 % vs. 80 %, $p = 0,841$). Diese Ergebnisse bestätigen, dass durch eine *First-line* Transplantation nach FLAMSA-Mel selbst bei Patienten mit einer aktiven Erkrankung zum Zeitpunkt der Transplantation ein sehr gutes Langzeitüberleben erzielt werden kann. Jedoch ist der Erfolg im Gesamtüberleben bei den meisten Patienten mit einer erneuten erfolgreichen Rezidivtherapie im Verlauf nach der Transplantation verbunden gewesen.

Im Rahmen der univariaten Analyse der krankheitsspezifischen Prognosefaktoren haben wir den Einfluss verschiedener zytogenetischer Merkmale geprüft: Angefangen mit dem einfachen Vergleich abnormaler Karyotyp vs. normaler Karyotyp bis hin zu der prognostischen Bedeutung des

monosomalen Karyotyps. Die zum Zeitpunkt der Transplantation bekannten Karyotypen wurden nach den MRC-Kriterien (*Medical Research Council, United Kingdom, MRC*) (6) und den SWOG-Kriterien (*Southwest Oncology Group, United States of America, SWOG*) (328) klassifiziert.

In unserer univariaten Analyse erwies sich ein ungünstiger Karyotyp klassifiziert nach den MRC-Kriterien als ein Risikofaktor für ein Rezidiv und einen therapieassoziierten Tod nach der allogenen BSZT. Die erhöhte Rezidivrate und die erhöhte therapieassoziierte Mortalität von Patienten mit einem MRC-ungünstigen Karyotyp resultierten letztlich in einem signifikant verminderten krankheitsfreien und Gesamtüberleben (4-J-OS: 42 % vs. 65 %, $p = 0,026$; 4-J-DFS: 24 % vs. 42 %, $p = 0,030$). Siehe Abbildung 26.

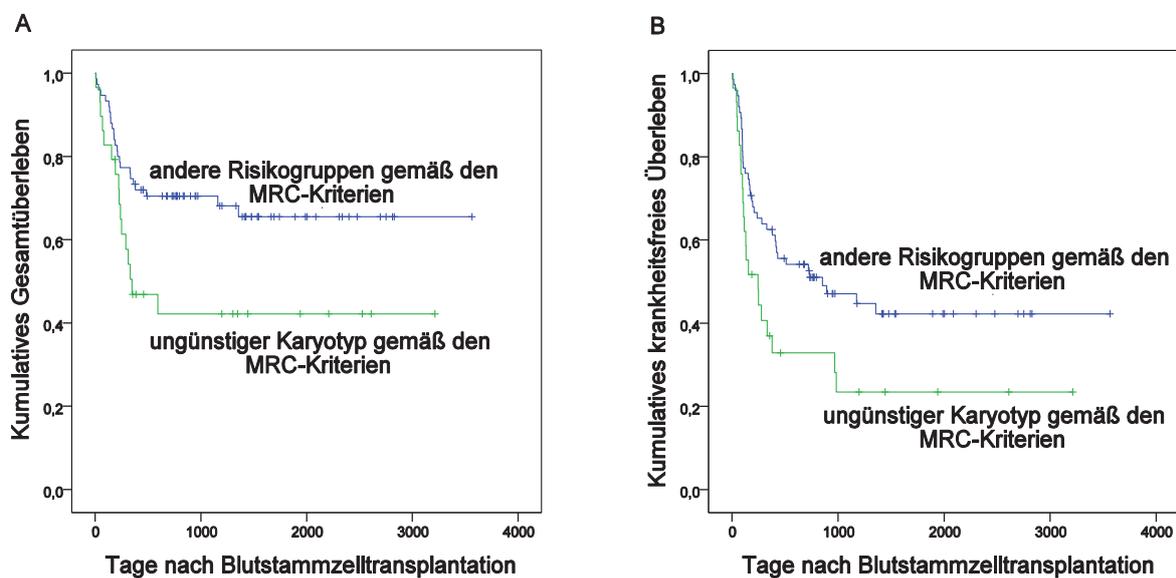


Abbildung 26 (A) Gesamtüberleben ($p = 0,026$) und (B) krankheitsfreies Überleben ($p = 0,030$) von Patienten mit einem ungünstigen Karyotyp (gemäß den MRC-Kriterien) im Vergleich zu dem Rest des Patientenkollektivs.

Ein ungünstiger Karyotyp, klassifiziert nach den SWOG-Kriterien, hatte hingegen keine signifikante prognostische Bedeutung in unserem Hochrisiko-Kollektiv (4-J-OS: 48 % vs. 65 %, $p = 0,080$; 4-J-DFS: 25 % vs. 43 %, $p = 0,071$). Auch der Vergleich eines abnormalen mit einem normalen Karyotyp, der Vergleich eines komplexen mit einem nicht-komplexen Karyotyp, sowie der Vergleich eines monosomalen mit einem nicht-monosomalen Karyotyp erbrachte in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Melphalan keine signifikanten Ergebnisse. Betrachteten wir jedoch zwei Subgruppen anhand der Diagnosen, MDS und sekundäre AML (MDS/sAML) einerseits und De Novo AML andererseits, getrennt von einander, deutete sich für Patienten mit den Diagnosen MDS/sAML ein signifikanter Unterschied im Transplantationsergebnis an. MDS/sAML-Patienten mit einem abnormalen Karyotyp hatten ein signifikant niedrigeres Gesamtüberleben und ein signifikant niedriges krankheitsfreies Überleben im Vergleich zu MDS/sAML-Patienten mit einem normalen Karyotyp (4-J-OS: 55 % vs. 92 %, $p = 0,041$; 4-

J-DFS: 22 % vs. 50 %, $p = 0,044$). MDS/sAML-Patienten mit einem komplexen Karyotyp und ohne einen komplexen Karyotyp unterschieden sich nicht im krankheitsfreien, jedoch marginalsignifikant im Gesamtüberleben (4-J-OS: 38 % vs. 76 %, $p = 0,065$; 4-J-DFS: 25 % vs. 34 %, $p = 0,243$; 4-J-RR: 71 % vs. 61 %, $p = 0,223$; 4-J-TRM: 12 % vs. 10 %, $p = 0,849$). Demnach konnten MDS/sAML-Patienten ohne das zytogenetische Merkmal „komplexer Karyotyp“ im Falle eines Rezidivs nach allogener BSZT häufiger erfolgreich therapiert werden. Im Vergleich zu dem zytogenetischen Merkmal „komplexer Karyotyp“, hatte das Merkmal „monosomaler Karyotyp“ für Patienten mit einem MDS oder einer sekundären AML einen größeren prognostischen Stellenwert. MDS/sAML-Patienten mit einem monosomalen Karyotyp rezidierten signifikant häufiger nach Transplantation und verstarben auch häufiger in Folge eines Rezidives im Vergleich zu MDS/sAML-Patienten, bei denen kein monosomaler Karyotyp nachgewiesen werden konnte (79 % vs. 60 %, $p = 0,035$ für RR; 17 % vs. 36 %, $p = 0,029$ für DFS; 33 % vs. 74 %, $p = 0,057$ für OS). In der Diagnose-Subgruppe De Novo AML waren die zytogenetischen Merkmale abnormaler Karyotyp, ungünstiger Karyotyp nach MRC und SWOG, komplexer und monosomaler Karyotyp hingegen nicht von Bedeutung für das Transplantationsergebnis (4-J-OS: $p = 0,970$ für MRC-ungünstige vs. andere; $p = 0,976$ für SWOG-ungünstige vs. andere; $p = 0,305$ für komplexer vs. nicht-komplexer Karyotyp; $p = 0,162$ für monosomaler vs. nicht-monosomaler Karyotyp). Zudem zeigte sich in den Subgruppenanalysen anhand der Diagnosen MDS/sAML und De Novo AML, dass ein ungünstiger Karyotyp klassifiziert nach den MRC-Kriterien allein für MDS/sAML-Patienten ein signifikanter Risikofaktor war (MDS/sAML: 42 % vs. 83 %, $p = 0,006$ für OS; 13 % vs. 43 %, $p = 0,008$ für DFS).

Der Frage nachgehend, ob sich die prognostische Bedeutung der Zytogenetik mit dem Therapie- und/oder Remissionsstatus zum Zeitpunkt der Transplantation verändert, verglichen wir in einer weiteren Subgruppen-Analyse folgende zytogenetische Krankheitsmerkmale getrennt für Patienten mit einer kompletten Remission, Patienten ohne Erreichen einer kompletten Remission vor der Transplantation und für Patienten, die ohne eine Vortherapie transplantiert wurden (*First-line* BSZT): „MRC-ungünstiger Karyotyp vs. Andere“, „SWOG-ungünstiger Karyotyp vs. Andere“, „komplexer Karyotyp vs. Andere“ und „monosomaler Karyotyp vs. Andere“. Interessanterweise erzielten alle getesteten zytogenetischen Merkmale allein in der Patienten-Subgruppe mit einer *First-line* Transplantation signifikante Ergebnisse. Auch wenn wir nur Patienten mit einem MDS oder einer sAML betrachteten, war allein in der Gruppe der frühzeitig Transplantierten ein negativer Einfluss der zytogenetischen Merkmale ungünstiger Karyotyp, komplexer Karyotyp und monosomaler Karyotyp zu beobachten. Diese Ergebnisse deuten an, dass die Zytogenetik bei Hochrisiko-Patienten, die ohne eine Vortherapie mit FLAMSA-Mel behandelt und anschließend allogene blutstammzelltransplantiert wurden (sogenannte *First-line* Transplantation), von besonders großer Bedeutung für den Transplantationserfolg war. Zudem lässt sich aus diesem Ergebnis schließen, dass das Erreichen einer

kompletten Remission nach einer Induktionstherapie womöglich eine stärkere prognostische Aussagekraft hat als ein abnormaler Karyotyp zum Zeitpunkt der allogenen Blutstammzelltransplantation. Zum Vergleich siehe Tabelle 31 und 32.

Tabelle 31 Statistische Signifikanzen für den Vergleich ungünstiger Karyotyp vs. Andere in den drei Subgruppen anhand des Therapie- und Remissionsstatus zum Zeitpunkt der allogenen Blutstammzelltransplantation

Vergleich Ungünstiger Karyotyp vs. Andere	Subgruppe: Keine Vortherapie/ First-line BSZT p-Wert	Subgruppe: Erreichen einer kompletten Remission (CR) p-Wert	Subgruppe: Nicht-Erreichen einer kompletten Remission (Non-CR) p-Wert
OS	0,005	0,802	0,477
DFS	0,006	0,830	0,489
RR	0,097	0,982	0,665
TRM	0,020	0,802	0,130

OS = Gesamtüberleben (*Overall Survival*), DFS = Krankheitsfreies Überleben (*Disease Free Survival*), RR = Rezidivrate (*Relapse Rate*)

Tabelle 32 Transplantationsergebnis von Patienten mit einer First-line Transplantation in Abhängigkeit von vier zytogenetischen Merkmalen

Zytogenetisches Merkmal	OS		DFS		RR		TRM	
	4-J-R	p	4-J-R	p	4-J-R	p	4-J-R	p
MRC-Kriterien								
Ungünstiger Karyotyp	50 %		15 %		75 %		40 %	
Andere	94 %	0,005	59 %	0,006	37 %	0,097	6 %	0,020
SWOG-Kriterien								
Ungünstiger Karyotyp	60 %		20 %		70 %		33 %	
Andere	92 %	0,051	65 %	0,017	30 %	0,086	8 %	0,097
Komplexer Karyotyp								
Ja	40 %		20 %		67 %		40 %	
Nein	83 %	0,029	45 %	0,086	45 %	0,266	17 %	0,181
Monosomaler Karyotyp								
Ja	25 %		0 %		100 %		50 %	
Nein	83 %	0,003	48 %	0,001	42 %	0,003	17 %	0,049

Während die zytogenetischen Untersuchungen in unserem Hochrisiko-Kollektiv allein bei Patienten mit einem MDS oder einer sekundärer AML von prognostischer Bedeutung waren, zeigten die molekulargenetischen Untersuchungen nur bei Patienten mit einer De Novo AML einen signifikanten Einfluss auf das Transplantationsergebnis. Bei De Novo AML-Patienten war der Nachweis spezifischer molekulargenetischer Marker mit einer signifikanten Zunahme der Rezidivrate und einer signifikanten Abnahme des krankheitsfreien Überlebens assoziiert. (Positive Mutationsanalyse vs. negative Mutationsanalyse; 4-J-RR: 83 % vs. 0 %, p = 0,009 und 4-J-DFS: 13 % vs. 71 %, p = 0,050). Auch das Gesamtüberleben von De Novo AML Patienten war im Falle einer positiven Mutationsanalyse vermindert, jedoch erreichte das Ergebnis womöglich aufgrund der geringen Größe der Vergleichsgruppen (Mutation negativ: n = 7 vs. Mutation positiv: n = 12) nicht das statistische Signifikanzniveau (4-J-OS: 37 % vs. 71 %, p = 0,401).

Keiner der getesteten krankheitsspezifischen Prognosefaktoren zeigte einen signifikanten Einfluss auf die Inzidenz der GVHD im Verlauf nach der allogenen BSZT. Die Tabelle 33 fasst die univariaten Analyseergebnisse krankheitsspezifischer Prognosefaktoren in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Mel noch einmal übersichtlich zusammen.

Tabelle 33 Krankheitsspezifische Prognosefaktoren in der univariaten Analyse

	Gesamtüberleben (OS)		Krankheitsfreies Überleben (DFS)		Rezidivrate (RR)		Therapieassoziierte Mortalität (TRM)	
	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p	4-J-Rate	P	4-J-Rate	p
Signifikante Ergebnisse								
Blastenanteil im KM								
< 6 %	73 %		49 %		37 %		19 %	
≥ 6 %	52 %	0,015	31 %	0,042	62 %	0,029	16 %	0,847
< 20 %	65 %		39 %		48 %		22 %	
≥ 20 %	47 %	0,059	32 %	0,071	65 %	0,004	9 %	0,146
Therapie- und Remissionsstatus								
<i>First-line</i> BSZT & CR	75 %		43 %		42 %		23 %	
Non-CR	43 %	0,003	29 %	0,038	66 %	0,001	12 %	0,147
Therapie- und Remissionsstatus								
CR	80 %		50 %		36 %		20 %	
<i>First-line</i> BSZT	75 %		41 %		48 %		21 %	
Non-CR	43 %	0,014	29 %	0,122	66 %	0,007	12 %	0,311
Rezidiv in der Vorgeschichte								
Ja	40 %		36 %		57 %		15 %	
Nein	68 %	0,015	36 %	0,456	53 %	0,204	19 %	0,510
Therapiertes Rezidiv in der Vorgeschichte								
Refraktäres Rezidiv	10 %		0 %		100 %		47 %	
CR nach Rezidivtherapie	100 %	0,014	100 %	0,003	0 %	0,004	0 %	0,181
Chemotherapiezyklen im Rahmen der Vortherapie								
< 5 Zyklen	66 %		43%		50 %		14 %	
≥ 5 Zyklen	27 %	0,018	0%	0,011	70 %	0,026	46 %	0,271
Zytogenetik (MRC-Kriterien)								
Ungünstig	42 %		24%		66 %		30 %	
Andere	65 %	0,026	42%	0,030	50 %	0,176	12 %	0,014

Im Rahmen der univariaten Analysen wurden die Kaplan-Mayer Kurven von zwei oder mehr Gruppen mit dem *log rank* Test miteinander verglichen. Ein p-Wert < 0,05 wurde signifikant gewertet. KM = Knochenmark, BSZT = Blutstammzelltransplantation, CR = Komplette Remission, Non-CR = Keine komplette Remission, MRC = *Medical Research Council* des *United Kingdom*; SWOG = *Southwest Oncology Group* der *United States of America*, AML = Akute myeloische Leukämie, MDS = Myelodysplastisches Syndrom, MPE = Myeloproliferative Erkrankungen, hier MPN und MDS/MPN

Fortsetzung der Tabelle 33 Krankheitsspezifische Prognosefaktoren in der univariaten Analyse

	Gesamtüberleben (OS)		Krankheitsfreies Überleben (DFS)		Rezidivrate (RR)		Therapieassoziierte Mortalität (TRM)	
	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p
Nicht-signifikante Ergebnisse								
<i>First-line</i> BSZT								
Ja	75 %		41 %		48 %		21 %	
Nein	54 %	0,134	36 %	0,388	57 %	0,133	14 %	0,308
Rezidiv in der Vorgeschichte								
Therapiert	32 %		26 %		70 %		29 %	
Nicht therapiert	47 %	0,167	42 %	0,129	51 %	0,190	7 %	0,071
Rezidiv in der Vorgeschichte								
Refraktäres Rezidiv	10 %		0 %		100 %		47 %	
CR nach Rezidivtherapie	100 %		100 %		0 %		0 %	
Nicht therapiertes Rezidiv	47 %		42 %		51 %		7 %	
Zytogenetik (MRC-Kriterien)								
<i>Favorable</i>	100 %		0 %		100 %		0 %	
<i>Intermediate/ normal</i>	63 %		46 %		45 %		15 %	
<i>Intermediate/ others</i>	46 %		36 %		60 %		0 %	
<i>Unknown</i>	74 %		37 %		53 %		13 %	
<i>Unfavorable</i>	44 %	0,142	25 %	0,365	65 %	0,470	29 %	0,200
Zytogenetik (SWOG-Kriterien)								
<i>Unfavorable</i>	48 %		25 %		67 %		24 %	
Andere	65 %	0,080	43 %	0,071	47 %	0,162	14 %	0,111
Zytogenetik (SWOG-Kriterien)								
<i>Favorable</i>	100 %		0 %		100 %		0 %	
<i>Intermediate/ normal</i>	63 %		46 %		45 %		15 %	
<i>Intermediate/ others</i>	50 %		38 %		56 %		0 %	
<i>Unknown</i>	74 %		44 %		44 %		14 %	
<i>Unfavorable</i>	48 %	0,250	25 %	0,360	67 %	0,408	24 %	0,418
Abnormaler Karyotyp								
Ja	55 %		30 %		60 %		19 %	
Nein	63 %	0,482	46 %	0,224	45 %	0,191	15 %	0,931
Komplexer Karyotyp								
Ja	51 %		31 %		63 %		18 %	
Nein	60 %	0,404	37 %	0,640	53 %	0,717	18 %	0,718
Monosomaler Karyotyp								
Ja	54 %		29 %		62 %		23 %	
Nein	59 %	0,550	38 %	0,479	53 %	0,769	17 %	0,382
Mutationsanalyse								
Positiv	56 %		30 %		63 %		16 %	
Negativ	80 %	0,231	51 %	0,505	39 %	0,525	7 %	0,440
Diagnose zur BSZT								
De Novo AML	51 %		39 %		48 %		20 %	
Andere	66 %	0,157	34 %	0,942	60 %	0,695	15 %	0,915
Diagnose zur BSZT								
De Novo AML	51 %		39 %		48 %		20 %	
Sekundäre AML	70 %	0,163	35 %	0,970	64 %	0,402	4 %	0,112
Diagnose zur BSZT								
De Novo AML	51 %		39 %		48 %		20 %	
MDS & sAML aus MDS	67 %		32 %		60 %		11 %	
MPE & sAML aus MPE	63 %	0,367	40 %	0,995	48 %	0,865	25 %	0,459
Therapieassoziation								
Ja	53 %		31 %		63 %		12 %	
Nein	60 %	0,466	38 %	0,372	52 %	0,228	18 %	0,687

Im Rahmen der univariaten Analysen wurden die Kaplan-Mayer Kurven von zwei oder mehr Gruppen mit dem *log rank* Test miteinander verglichen. Ein p-Wert < 0,05 wurde signifikant gewertet.

4.4.1.5 Therapieassoziierte Prognosefaktoren

Als therapieassoziierte Prognosefaktoren untersuchten wir den Einfluss der im Rahmen der Konditionierung applizierten Melphalan-Dosierung, den Einfluss der in-vivo T-Zell Depletion mittels Anti-Human-T-Lymphozyten Immunglobulin (ATG-Fresenius®/Grafalon®, ATG) und den Einfluss der Behandlung mit einem Granulozyten-Kolonie-stimulierenden Faktor (Neulasta®, Granocyte®, Neupogen®, G-CSF). Die Höhe der Melphalan-Dosis und die Gabe von ATG im Rahmen der Konditionierung erwiesen sich in der univariaten Analyse als signifikante Prognosefaktoren für das Transplantationsergebnis. Der Gabe von G-CSF in einem Zeitraum von 14 Tagen vor und/oder 14 Tagen nach der Transplantation kam hingegen keine prognostische Bedeutung zu.

Da im Rahmen des Studienprotokolls die Konditionierung mit Melphalan in drei verschiedenen Dosierungen erfolgte, verglichen wir das Transplantationsergebnis von Patienten mit den Melphalan-Dosierungen 75-100 mg/m² Körperoberfläche (KO), 140-150 mg/m² KO und 175-200 mg/m² KO miteinander. Bei diesem Vergleich erzielte die Konditionierung mit einer hohen Melphalan-Dosis von 175-200 mg/m² KO die niedrigste Rezidivrate, das beste krankheitsfreie und das beste Gesamtüberleben nach allogener BSZT (4-J-OS: 75 %; 4-J-DFS: 51 %; 4-J-RR: 42 %; 4-J-TRM: 13 %). Signifikante Unterschiede zeigten sich jedoch nur zwischen Patienten mit einer 175-200 mg/m² Dosierung und Patienten mit einer 75-100 mg/m² Dosierung im Hinblick auf die Rezidivrate und das krankheitsfreie Überleben (4-J-RR: 42 % vs. 69 %, p = 0,031; 4-J-DFS: 51 % vs. 24 %, p = 0,042).

Im Vergleich zu Patienten, die Melphalan in der Dosierung 140-150 mg/m² KO erhielten, erlitten Patienten mit einer niedrigen Dosierung von 75-100 mg/m² KO häufiger ein Rezidiv im Verlauf nach der Transplantation (4-J-RR: 57 % für 140-150 mg/m² vs. 69 % für 75-100 mg/m², p = 0,0239). Andererseits zeigten Patienten mit einer Dosierung von 140-150 mg/m² KO eine erhöhte Rate therapieassoziiierter Todesfälle (4-J-TRM: 22 % für 140-150 mg/m² vs. 12 % für 75-100 mg/m², p = 0,383). Dem zu Folge hatten Patienten mit einer Melphalan-Dosis von 75-100 mg/m² KO und Patienten mit einer Dosis von 140-150 mg/m² KO letzten Endes ein ähnliches krankheitsfreies und Gesamtüberleben (4-J-DFS: 32 % für 140-150 mg/m² vs. 24 % für 75-100 mg/m², p = 0,311 und 4-J-OS: 52 % für 140-150 mg/m² vs. 47 % für 75-100 mg/m², p = 0,682). Zum Vergleich siehe Abbildung 27. Die Tabelle 34 stellt das geschätzte Transplantationsergebnis für die drei Patientengruppen mit den unterschiedlichen Melphalan-Dosierungen dar.

Tabelle 34 Transplantationsergebnis in Abhängigkeit von der applizierten Melphalan-Dosierung

	Gesamtüberleben (OS)	Krankheitsfreies Überleben (DFS)	Rezidivrate (RR)	Therapieassoziierte Mortalität (TRM)
75-100 mg/m² KO Melphalan				
31-T-R (% , SF)	100	100	0	0
100-T-R (% , SF)	96 (± 4)	69 (± 9)	28 (± 9)	4 (± 4)
1-J-R (% , SF)	58 (± 10)	42 (± 10)	47 (± 11)	12 (± 7)
4-J-R (% , SF)	47 (± 11)	24 (± 9)	69 (± 11)	12 (± 7)
MÜ (Tage, SF)	1494 (± 257)	871 (± 227)	1070 (± 263)	2482 (± 179)
140-150 mg/m² KO Melphalan				
31-T-R (% , SF)	97 (± 3)	97 (± 3)	0	3 (± 3)
100-T-R (% , SF)	90 (± 5)	80 (± 7)	11 (± 5)	10 (± 5)
1-J-R (% , SF)	62 (± 8)	56 (± 8)	32 (± 8)	22 (± 7)
4-J-R (% , SF)	52 (± 8)	32 (± 8)	57 (± 9)	22 (± 7)
MÜ (Tage, SF)	1838 (± 238)	1267 (± 230)	1603 (± 260)	2547 (± 210)
175-200 mg/m² KO Melphalan				
31-T-R (% , SF)	93 (± 4)	93 (± 4)	0	8 (± 4)
100-T-R (% , SF)	88 (± 5)	83 (± 6)	6 (± 4)	13 (± 5)
1-J-R (% , SF)	75 (± 7)	62 (± 8)	29 (± 8)	13 (± 5)
4-J-R (% , SF)	75 (± 7)	51 (± 9)	42 (± 10)	13 (± 5)
MÜ (Tage, SF)	2696 (± 238)	1947 (± 280)	2221 (± 293)	3122 (± 185)

31-T-R = Geschätzte Rate nach 31 Tagen, 100-T-R = Geschätzte Rate nach 100 Tagen, 1-J-R = Geschätzte Rate nach einem Jahr, 4-J-R = Geschätzte Rate nach vier Jahren, MÜ = Mittlere Überlebenszeit (insgesamt, krankheitsfrei, ohne Rezidiv, ohne therapieassoziierten Tod), KO = Körperoberfläche, SF = Standardfehler

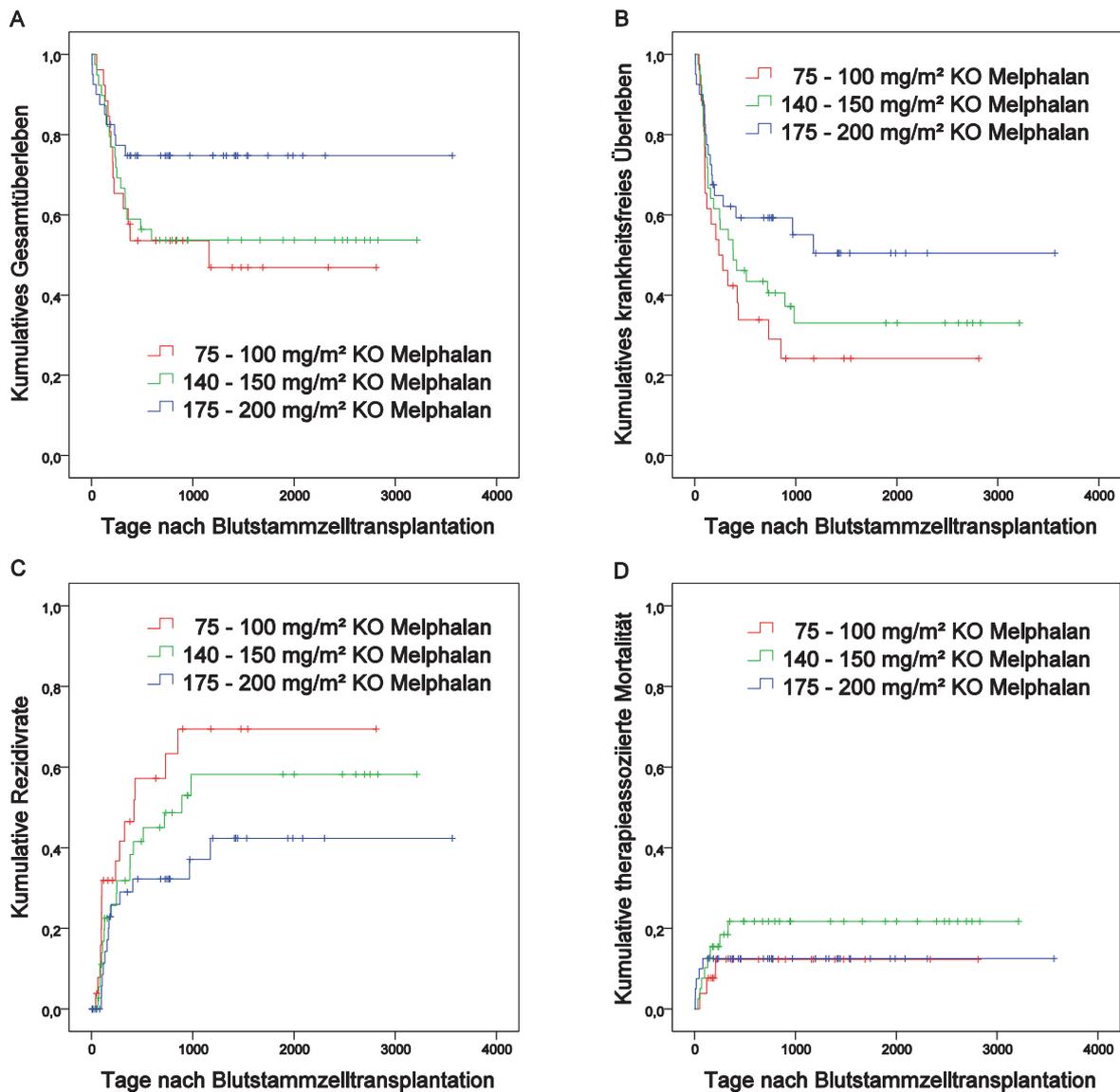


Abbildung 27 (A) Gesamtüberleben ($p = 0,162$), (B) krankheitsfreies Überleben ($p = 0,110$), (C) Rezidivrate ($p = 0,095$) und (D) therapieassoziierte Mortalität ($p = 0,606$) von Patienten, die mit 75-100 mg/m² KO Melphalan, 140-150 mg/m² KO Melphalan und 175-200 mg/m² KO Melphalan konditioniert wurden.

Unseren univariaten Analysen zu Folge hatte auch die in vivo T-Zell Depletion mit Anti-T-Lymphozyten Globulin einen signifikanten Einfluss auf das Transplantationsergebnis. Durch die Gabe von ATG im Rahmen der Konditionierung konnten die Inzidenz und Schwere der chronischen *Graft-versus-Host Disease* (cGVHD) signifikant vermindert werden. Für Patienten, die ATG im Rahmen der Konditionierung erhielten, betrug die kumulative Inzidenz der cGVHD nach 4 Jahren 36 %, im Vergleich zu 91 % für Patienten ohne eine ATG-Gabe ($p = 0,0001$). Sowohl die Inzidenz der leichten als auch die Inzidenz der schweren Form der chronischen GVHD waren in der Patientengruppe mit einer ATG-Gabe vermindert (*limited*: 35 % vs. 65 %, $p = 0,012$; *extensive*: 2 % vs. 22 %, $p = 0,006$). Siehe Abbildung 28.

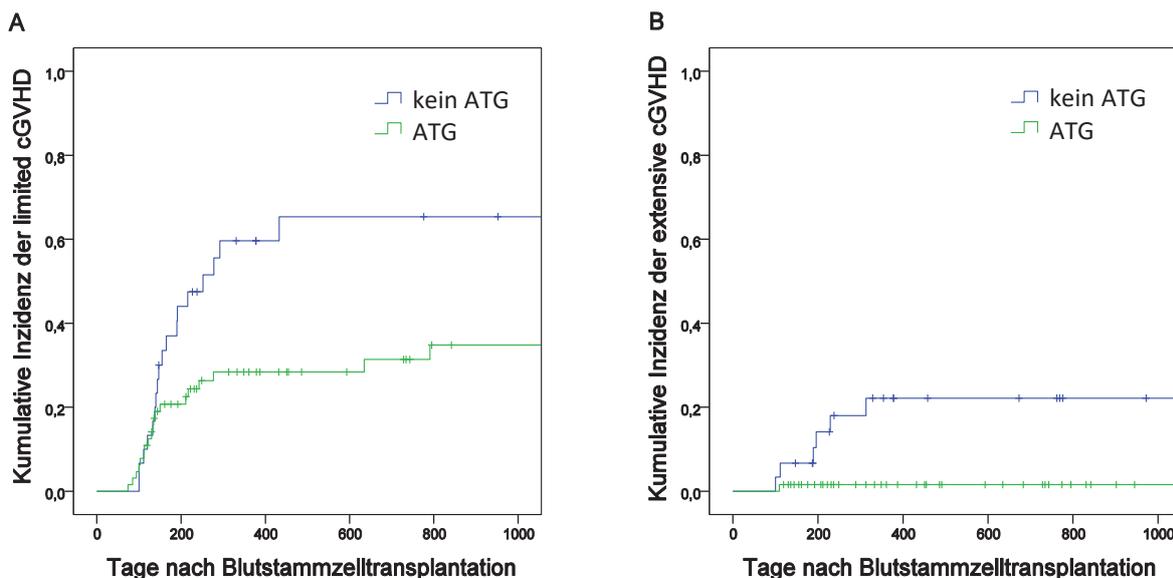


Abbildung 28 (A) Inzidenz der *limited* chronischen GVHD ($p = 0,012$) und (B) Inzidenz der *extensive* chronischen GVHD ($p = 0,006$) in Abhängigkeit von der ATG-Gabe im Rahmen der Konditionierung.

Die geschätzte Rate der akuten GVHD unterschied sich hingegen nicht signifikant zwischen Patienten mit und ohne ATG-Gabe im Rahmen der Konditionierung (41 % vs. 44 %, $p = 0,697$). Im Hinblick auf die Inzidenz der schweren Formen der akuten *Graft-versus-Host Disease* (aGVHD Grad III-IV) war zumindest ein Trend zu beobachten: Patienten mit einer ATG-Gabe entwickelten tendenziell seltener eine aGVHD Grad III-IV im Vergleich zu Patienten, die keine Behandlung mit ATG erhielten (7 % vs. 16 %, $p = 0,178$). Die Entwicklung leichter Ausprägungen der akuten *Graft-versus-Host Disease* (aGVHD Grad I-II) wurde hingegen nicht durch die ATG-Gabe im Rahmen der Konditionierung beeinflusst, nicht signifikant und auch nicht tendenziell (35 % vs. 28 %, $p = 0,557$). Letztlich bewirkte die Reduktion der chronischen GVHD bei Patienten mit einer in vivo T-Zell Depletion mit ATG auch keine Verbesserung der therapieassoziierten Mortalität. Die Rate therapieassoziiierter Todesfälle von Patienten mit und ohne einer ATG-Gabe fiel ähnlich aus (13 % vs. 17 %, $p = 0,567$).

Während die Gabe von ATG die Inzidenz und Schwere der chronischen GVHD signifikant reduzierte, führte sie in unserem Hochrisiko-Kollektiv andererseits zu einem Anstieg der Rezidivrate. Vier Jahre nach der Transplantation betrug die geschätzte Rezidivrate in der Patientengruppe mit einer ATG-Gabe 66 %, wohingegen die geschätzte Rezidivrate nur 28 % in der Patientengruppe ohne eine ATG-Gabe betrug ($p = 0,014$). Siehe Abbildung 29.

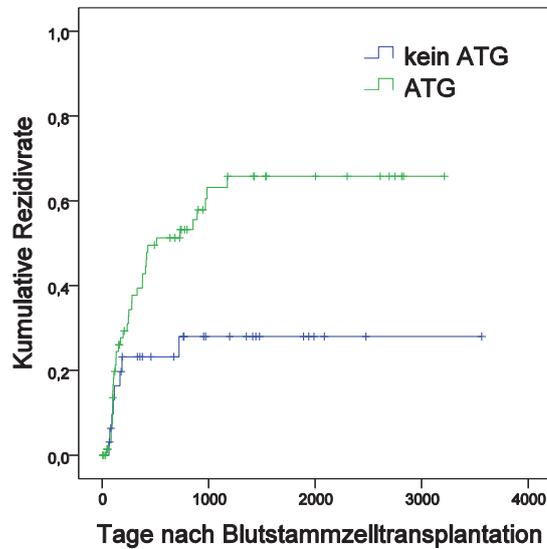


Abbildung 29 Rezidivrate von Patienten die im Rahmen der Konditionierung ATG erhielten und von Patienten, die kein ATG erhielten ($p = 0,014$).

In Folge der erhöhten Rezidivrate, zeigten Patienten, die ATG im Rahmen der Konditionierung erhielten, ein signifikant vermindertes krankheitsfreies Überleben nach 4 Jahren (28 % vs. 58 %, $p = 0,013$). Im Hinblick auf das geschätzte Gesamtüberleben waren die Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne einer ATG-Gabe weniger deutlich: Für Patienten mit einer in vivo T-Zell Depletion mit ATG betrug die geschätzte 4-Jahres Gesamtüberlebensrate 55 % im Vergleich zu 68 % für Patienten ohne eine in vivo T-Zell Depletion ($p = 0,147$). Siehe Abbildung 30.

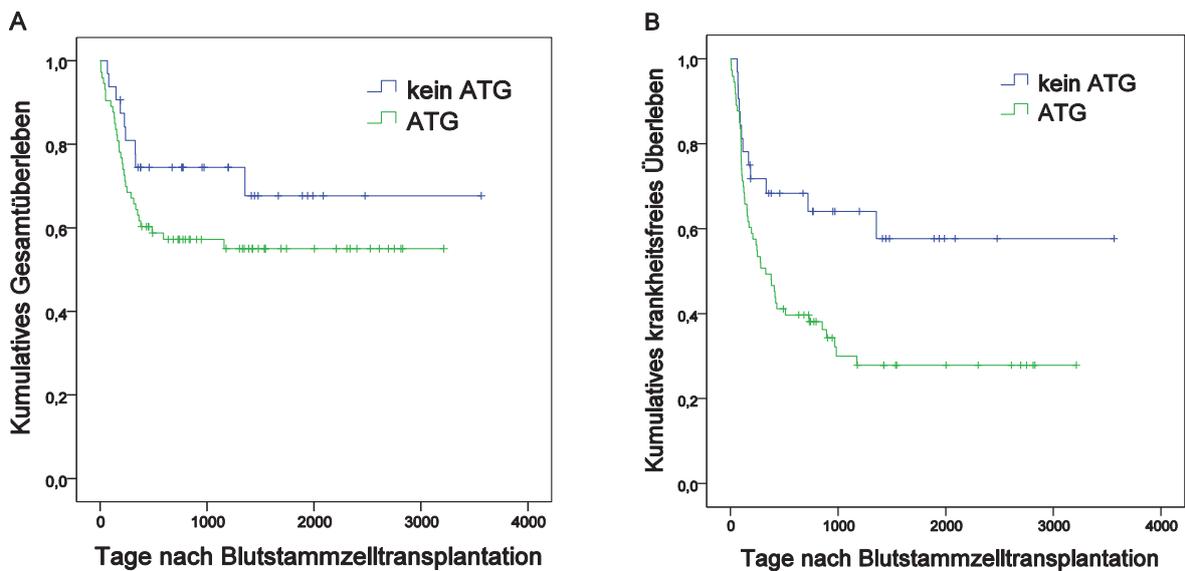


Abbildung 30 (A) Gesamtüberleben ($p = 0,147$) und (B) krankheitsfreies Überleben ($p = 0,013$) von Patienten die im Rahmen der Konditionierung ATG erhielten und von Patienten, die kein ATG erhielten.

Um zu prüfen, ob der Einfluss der in vivo T-Zell Depletion mit ATG auf die Rezidivrate und das krankheitsfreie Überleben unabhängig von intervenierenden Variablen war, verglichen wir die Häufigkeitsverteilungen von koexistenten Prognosefaktoren in den beiden Vergleichsgruppen. Die Vergleichsgruppen ATG vs. kein ATG unterschieden sich signifikant in der Häufigkeitsverteilung der folgenden drei Merkmale: Verwandtschaft zwischen Spender und Patient, HLA-Kompatibilität zwischen Spender und Patient und die Höhe der Melphalan-Dosierung im Rahmen der Konditionierung. In der Patientengruppe mit einer ATG-Applikation gab es signifikant weniger HLA-identische Spender (80 % vs. 100 %, $p = 0,006$), weniger Familienspender (11 % vs. 97 %, $p = 0,0001$) und weniger Patienten, die Melphalan in einer hohen Dosierung von 175-200 mg/m² KO erhalten hatten (32 % vs. 53 %, $p = 0,036$). Andere Begleitfaktoren mit einem potentiellen Einfluss auf das Transplantationsergebnis, wie das Patientenalter, die Diagnose zum Zeitpunkt der Transplantation, die Zytogenetik, der Remissionsstatus, der Blastenanteil im Knochenmark, die Behandlung mit G-CSF im Rahmen der Transplantation, sowie die Anzahl an Chemotherapiezyklen im Rahmen einer Vortherapie, waren einheitlich in den beiden Patientengruppen "ATG vs. kein ATG" verteilt. Siehe Tabelle 35.

Tabelle 35 Unterschiede in den Vergleichsgruppen ATG versus kein ATG

Merkmal	ATG n (%)	Kein ATG n (%)	p
HLA-Kompatibilität			
HLA-identisch/-kompatibel	58 (80 %)	32 (100 %)	
HLA- <i>mismatch</i>	15 (20 %)	0 (0 %)	0,006
Spender			
Fremdspender	65 (89 %)	1 (3 %)	
Familienspender	8 (11 %)	31 (97 %)	0,0001
Melphalan-Dosierung			
175-200 mg/m ² KO	23 (32 %)	17 (53 %)	
≤ 150 mg/m ² KO	50 (68 %)	15 (47 %)	0,036
Melphalan-Dosierung			
75-100 mg/m ² KO	23 (32 %)	3 (9 %)	
140-150 mg/m ² KO	27 (36 %)	12 (38 %)	
175-200 mg/m ² KO	23 (32 %)	17 (53 %)	0,028
Rezidiv in der Vorgeschichte			
Ja	20 (27 %)	15 (47 %)	
Nein	53 (73 %)	17 (53 %)	0,051
Anzahl der CD34+ Zellen im Transplantat			
< 6 x 10 ⁶ CD34+ Zellen/kg KG	25 (34 %)	6 (19 %)	
≥ 6 x 10 ⁶ CD34+ Zellen/kg KG	48 (66 %)	26 (81 %)	0,100
Alter des Patienten			
< 50 Jahre	28 (38 %)	16 (50 %)	
≥ 50 Jahre	45 (62 %)	16 (50 %)	0,266
Anzahl der Chemotherapiezyklen vor BSZT			
< 5	55 (75 %)	27 (84 %)	
≥ 5	18 (25 %)	5 (16 %)	0,303
Zytogenetik (MRC-Kriterien)			
Ungünstig	18 (34 %)	11 (25 %)	
Andere	55 (66 %)	21 (75 %)	0,305
Diagnose			
De Novo AML	33 (45 %)	19 (60 %)	
MDS/sAML	27 (37 %)	10 (31 %)	
MPE/sAML	13 (18 %)	3 (9 %)	0,342
Prozentualer Blastenananteil im Knochenmark zum Zeitpunkt der BSZT			
< 6 %	22 (30 %)	12 (38 %)	
≥ 6 %	51 (70 %)	20 (62 %)	0,458
Therapie mit G-CSF			
Ja	50 (68 %)	20 (62 %)	
Nein	23 (32 %)	12 (38 %)	0,549
Therapie und Remissionsstatus zum Zeitpunkt der BSZT			
CR & <i>First-line</i> BSZT	37 (51 %)	16 (50 %)	
Non-CR	36 (49 %)	16 (50 %)	0,958
Therapie- und Remissionsstatus zum Zeitpunkt der BSZT			
CR	17 (23 %)	8 (25 %)	
<i>First-line</i> BSZT	20 (27 %)	8 (25 %)	
Non-CR	36 (49 %)	16 (50 %)	0,962

HLA = Humanes Leukozyten-Antigen, KO = Körperoberfläche, KG = Körpergewicht, CR = Komplette Remission, Non-CR = Keine komplette Remission, G-CSF = Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor, BSZT = Blutstammzelltransplantation

Um die im Rahmen der Konditionierung applizierte Melphalan-Dosis als Störvariable auszuschließen, führten wir ergänzende Subgruppen-Analysen durch. In der Patientengruppe mit einer Melphalan-Dosierung von 175-200 mg/m² KO einerseits (n = 40, 23 ATG vs. 17 kein ATG) und in der Patientengruppe mit einer Melphalan-Dosierung von 75-150 mg/m² KO andererseits (n = 65, 40 ATG vs. 15 kein ATG), überprüften wir den Einfluss der ATG-Gabe im Rahmen der Konditionierung getrennt. Diesen Subgruppenanalysen zu Folge, war ATG insbesondere in der Patientengruppe, die eine hohe Melphalan-Dosierung von 175-200 mg/m² KO im Rahmen der Konditionierung erhielt, ein signifikanter Risikofaktor für ein Rezidiv und ein vermindertes krankheitsfreies Überleben (4-J-RR: 65 % vs. 12 %, p = 0,011 und 4-J-DFS: 29 % vs. 83 %, p = 0,006). Sogar die 4-Jahres-Gesamtüberlebensrate war im Trend vermindert, wenn Patienten ergänzend zu einer hohen 175-200 mg/m² KO Melphalan-Konditionierung eine in vivo T-Zell Depletion mittels ATG erhielten (4-J-OS: 65 % vs. 88 %, p = 0,105). Führten wir die gleiche Untersuchung nur für HLA-identische Transplantationen durch, erhielten wir ein vergleichbares Resultat (p = 0,024 für RR, p = 0,014 für DFS, p = 0,236 für OS von Patienten mit 175-200 mg/m² KO Melphalan). In der Patientengruppe mit der 75-150 mg/m² KO Melphalan-Dosierung war der Einfluss von ATG auf die Rezidivrate und das krankheitsfreie Überleben weniger deutlich zu erkennen (4-J-RR: 66 % vs. 46 %, p = 0,459; 4-J-DFS: 28 % vs. 33 %, p = 0,599). Das mag daran liegen, dass die Vergleichsgruppe ohne ATG-Gabe unter den Patientin mit niedriger Melphalan-Dosierung sehr klein ausfiel (n = 15) oder daran, dass die Rezidivrate in der Vergleichsgruppe ohne ATG-Gabe bei Patientin mit hoher Melphalan-Dosierung sehr niedrig war (4-J-RR: 12 %).

Im Hinblick auf die Auswirkungen der ATG-Gabe auf das Transplantationsergebnis könnte neben der Melphalan-Dosierung auch der Verwandtschaftsgrad zwischen Spender und Patient eine potentielle Störvariable gewesen sein. In unserem FLAMSA-Mel Patientenkollektiv erhielten nämlich 98 % (n = 65) der Patienten mit einem Fremdspender ATG, während 79 % (n = 31) der Familienspender kein ATG im Rahmen der Konditionierung erhielten. Da Fremdspender-Transplantationen in der Regel mit einem verstärkten GVL-Effekt assoziiert sind, ist es sehr unwahrscheinlich, dass die Erhöhung der Rezidivrate in der ATG-Patientengruppe auf die intervenierende Variable Fremdspender-Transplantation zurück zu führen ist. Um dennoch sicher zu gehen, dass der ATG-Einfluss in unserem Hochrisiko-Kollektiv nicht zufällig beobachtet wurde, führten wir den Vergleich ATG vs. kein ATG noch einmal in einem bereinigten Kollektiv durch. Die Vergleichsgruppe mit der ATG-Gabe enthielt in diesem bereinigten Kollektiv nur Patienten mit einem Fremdspender und die Gruppe ohne eine ATG-Gabe enthielt nur Patienten mit einem HLA-identischen Familienspender (N = 88; n = 31 für Familienspender-BSZT ohne eine ATG-Gabe und n = 57 für Fremdspender-BSZT mit einer ATG-Gabe). Zudem wurden ein Patient mit einer Knochenmark-Transplantation, sowie 1 Patient mit einer kombinierten Transplantatquelle aus peripheren Blutstammzellen und Nabelschnurblut aus den

Analysen ausgeschlossen. Selbst in diesem bereinigten Hochrisiko-Kollektiv erwies sich die in vivo T-Zell Depletion mit ATG als ein signifikanter Risikofaktor für ein Rezidiv und ein vermindertes krankheitsfreies Überleben (Fremdspender/ATG vs. Familienspender/Kein ATG: 4-J-RR: 69 % vs. 29 %, $p = 0,015$; 4-J-DFS: 26 % vs. 56 %, $p = 0,019$).

Da sich die ATG-Patientengruppe in 61 Patienten mit einer 60 mg/kg KG ATG-Dosierung (84 %) und 12 Patienten mit einer 30 mg/kg KG ATG-Dosierung (16 %) untergliedert, gingen wir der Frage nach ob in unserem Studienkollektiv womöglich ein Dosis-Effekt von ATG zu erkennen ist. Unsere univariaten Analysen führten zu dem Ergebnis, dass sowohl die Rezidivrate als auch die therapieassoziierte Mortalität im Trend mit der Höhe der applizierten ATG-Dosis anstiegen. Für Patienten, die eine hohe 60 mg/kg KG ATG-Dosierung erhielten, betrug die geschätzte Rezidivrate 70 % und die geschätzte therapieassoziierte Mortalität 19 % nach 4 Jahren. Bei Patienten, die mit 30 mg/kg KG ATG behandelt wurden, lag die geschätzte Rezidivrate hingegen bei 54 % und die geschätzte therapieassoziierte Mortalität bei 8 % nach 4 Jahren ($p = 0,351$ für RR und $p = 0,384$ für TRM). Während das krankheitsfreie Überleben von Patienten mit einer 30 mg/kg KG ATG-Dosierung leicht verbessert war, unterschied sich das Gesamtüberleben nicht in Abhängigkeit von der ATG-Dosierung (42 % vs. 24 %, $p = 0,203$ für DFS; 58 % vs. 54 %, $p = 0,635$ für OS). Die Inzidenz der chronischen GVHD, wiederum, wurde mit der hohen 60 mg/kg KG ATG-Dosierung deutlicher gesenkt: Die kumulative 4-Jahres Inzidenz der cGVHD betrug 52 % in Patienten mit einer 30 mg/kg KG ATG-Dosierung und 33 % in Patienten mit einer 60 mg/kg KG ATG-Dosierung ($p = 0,118$). Im Hinblick auf die Schwere der chronischen GVHD, verdeutlichten die Analysen, dass die Behandlung mit 30 mg/kg KG ATG die Entstehung einer schweren *extensive* cGVHD genauso effektiv vorbeugen konnte wie vergleichsweise eine Behandlung mit 60 mg/kg KG ATG (4-J-Rate der *extensive* cGVHD: 0 % vs. 2 %, $p = 0,631$). Die leichtere *limited* Form der cGVHD, konnte in unserem Studienkollektiv hingegen nur verhindert werden, wenn ATG in einer hohen 60 mg/kg KG Dosierung appliziert wurde. So zeigten Patienten mit einer 30 mg/kg KG ATG-Dosierung eine ähnliche 4-Jahres Inzidenz der *limited* cGVHD wie Patienten ohne eine ATG-Behandlung (52 % vs. 65 %, $p = 0,769$). Patienten mit einer hohen 60 mg/kg KG ATG-Dosierung entwickelten signifikant seltener eine *limited* cGVHD im Verlauf nach der Transplantation im Vergleich zu Patienten der 30 mg/kg KG ATG-Dosis-Gruppe und der Kein ATG-Gruppe (31 % für 60 mg/kg KG ATG vs 52 % für 30 mg/kg KG ATG, $p = 0,079$). Zum Vergleich siehe Abbildung 31.

Die Tabelle 36 zeigt die Transplantationsergebnisse von Patienten, die nicht mit ATG behandelt wurden, sowie von Patienten, die mit 60 mg/kg KG ATG oder 30 mg/kg KG ATG behandelt wurden.

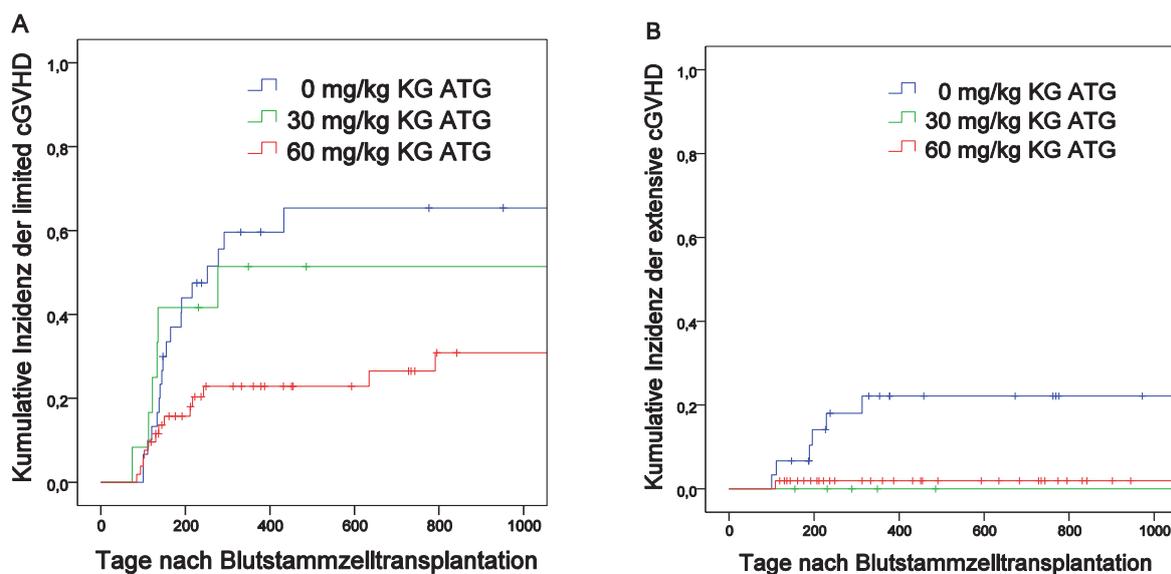


Abbildung 31 (A) Inzidenz der *limited* chronischen GVHD ($p = 0,011$) und (B) Inzidenz der *extensive* chronischen GVHD ($p = 0,007$) in Abhängigkeit von der ATG-Dosierung im Rahmen der Konditionierung.

Tabelle 36 Transplantationsergebnis in Abhängigkeit von der ATG-Gabe

	Gesamt- überleben (OS)	Krankheitsfreies Überleben (DFS)	Rezidivrate (RR)	Therapie- assoziierte Mortalität (TRM)	Inzidenz der chronischen GVHD (cGVHD)
Kein ATG					
31-T-R (%)	100	100	0	0	0
100-T-R (% SF)	94 (± 4)	84 (± 6)	10 (± 5)	6 (± 4)	10 (± 6)
1-J-R (% SF)	74 (± 8)	68 (± 8)	23 (± 8)	10 (± 6)	83 (± 8)
4-J-R (% SF)	68 (± 10)	58 (± 10)	28 (± 9)	18 (± 9)	91 (± 7)
MÜ (Tage, SF)	2555 (± 285)	2213 (± 306)	2627 (± 285)	3039 (± 248)	254 (± 39)
ATG					
31-T-R (% SF)	95 (± 3)	95 (± 3)	0	5 (± 3)	0
100-T-R (% SF)	89 (± 4)	75 (± 5)	15 (± 4)	11 (± 4)	6 (± 3)
1-J-R (% SF)	62 (± 6)	49 (± 6)	39 (± 6)	17 (± 5)	30 (± 6)
4-J-R (% SF)	55 (± 6)	28 (± 6)	66 (± 7)	17 (± 5)	36 (± 7)
MÜ (Tage, SF)	1880 (± 177)	1111 (± 165)	1346 (± 187)	2684 (± 140)	1881 (± 173)
30 mg/kg KG ATG					
31-T-R (%)	100	100	0	0	0
100-T-R (% SF)	100	92 (± 8)	8 (± 8)	0	8 (± 8)
1-J-R (% SF)	67 (± 14)	67 (± 14)	27 (± 13)	8 (± 8)	52 (± 15)
4-J-R (% SF)	58 (± 14)	42 (± 14)	54 (± 15)	8 (± 8)	52 (± 15)
MÜ (Tage, SF)	2001 (± 415)	1537 (± 412)	1676 (± 429)	2959 (± 244)	1442 (± 394)
60 mg/kg KG ATG					
31-T-R (% SF)	93 (± 3)	93 (± 3)	0	7 (± 3)	0
100-T-R (% SF)	87 (± 4)	72 (± 6)	17 (± 5)	13 (± 4)	6 (± 3)
1-J-R (% SF)	61 (± 6)	46 (± 6)	42 (± 7)	19 (± 5)	25 (± 6)
4-J-R (% SF)	54 (± 7)	24 (± 6)	70 (± 8)	19 (± 5)	33 (± 8)
MÜ (Tage, SF)	1525 (± 156)	859 (± 142)	1061 (± 164)	2138 (± 129)	1710 (± 157)

31-T-R = Geschätzte Rate nach 31 Tagen, 100-T-R = Geschätzte Rate nach 100 Tagen, 1-J-R = Geschätzte Rate nach einem Jahr, 4-J-R = Geschätzte Rate nach vier Jahren, MÜ = Mittlere Überlebenszeit (insgesamt, krankheitsfrei, ohne Rezidiv, ohne therapieassoziierten Tod), SF = Standardfehler, ATG = Anti-Human-T-Lymphozyten Immunglobulin (ATG-Fresenius®/Grafalon®)

Die univariaten Analysen bezüglich der Dosis-Wirkung von ATG deuten an, dass im Rahmen der Transplantation von Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Erkrankungen eine niedrige Dosierung von ATG genügen könnte, um schwere Formen der cGVHD zu vermeiden und somit die cGVHD-assoziierte Morbidität und Mortalität zu senken. Eine hohe ATG-Dosis von 60 mg/kg KG hingegen, könnte bei älteren Patienten mit Hochrisiko-Neoplasien sowohl die Leukämie- als auch die Infektabwehr beeinträchtigen.

In einem weiteren Schritt wurde der Einfluss der in vivo T-Zell Depletion auf die Geschwindigkeit des *Engraftments* einerseits und auf die Immunrekonstitution im Verlauf nach der Transplantation andererseits untersucht. In der ATG-Patientengruppe erfolgte das Leukozyten- und Thrombozyten-*Engraftment* verzögert, im Vergleich zu der Patientengruppe ohne eine ATG-Behandlung. Bei Patienten mit einer ATG-Gabe im Rahmen der Konditionierung wurde das Leukozyten-*Engraftment* im Durchschnitt nach 17 Tagen beobachtet, bei Patienten ohne eine ATG-Gabe bereits nach 11 Tagen (*Mann-Whitney-U-Test*: Mittelwert: 17 Tage vs. 11 Tage, $U = 320,00$, $z = -5,740$, $p = 0,0001$). Das Thrombozyten-*Engraftment* wurde im Durchschnitt nach 32 Tagen bei Patienten mit einer ATG-Gabe und nach 16 Tagen bei Patienten ohne eine ATG-Gabe erreicht (Mittelwert: 32 Tage vs. 16 Tage, $U = 283,50$, $z = -5,811$, $p = 0,0001$). Im Hinblick auf die frühe Immunrekonstitution, konnte gezeigt werden, dass die Lymphozytenzahlen an Tag 28 und 100 nach der Transplantation im Durchschnitt signifikant vermindert waren, wenn ATG im Rahmen der Konditionierung appliziert wurde. Ergänzende Berechnungen für die ATG-Dosis-Subgruppen 30 mg/kg KG und 60 mg/kg KG belegen, dass die Lymphozytenzahlen an Tag +28 und Tag +100 Dosis-abhängig anstiegen. Siehe Abbildung 32 und Tabelle 37.

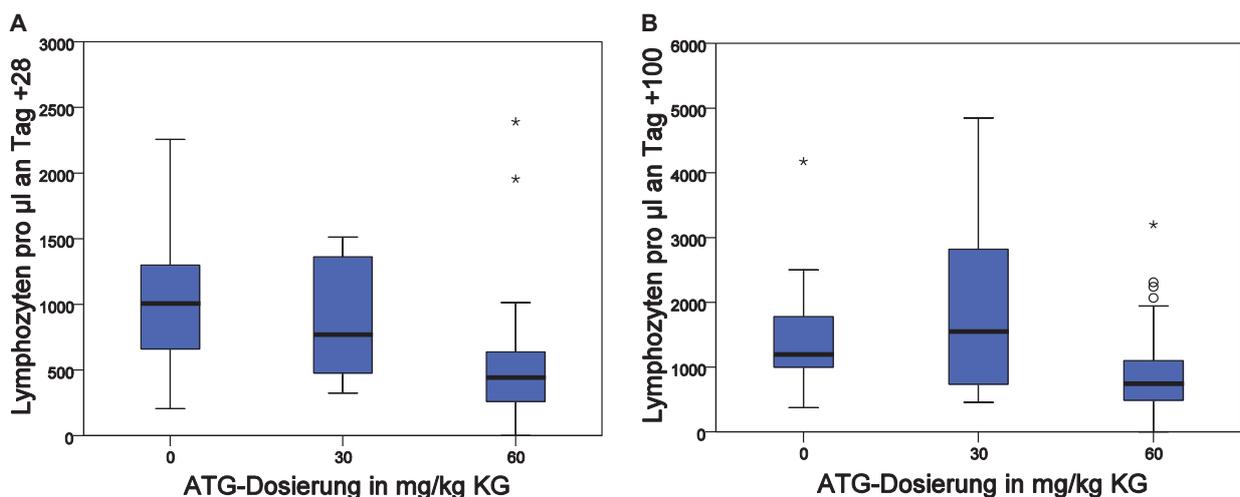


Abbildung 32 Absolute Lymphozytenzahlen an Tag 28 (A) und Tag 100 (B) nach BSZT in Abhängigkeit von der ATG-Dosierung im Rahmen der Konditionierung.

Tabelle 37 Zusammenhang zwischen der ATG-Gabe im Rahmen der Konditionierung und den absoluten Lymphozytenzahlen während der frühen Posttransplantationsperiode

Zeitpunkt nach der BSZT	Subgruppen	Lymphozyten/ μ l		U	z	p
		Median (Spanne)	Mittelwert (SD)			
Tag +28	Kein ATG	1010 (206-2982)	1081 (616)	509,5	-4,403	<0,0001
	ATG	462 (0-2391)	568 (437)			
	60 mg/kg KG ATG	445 (0-2391)	508 (413)			
	30 mg/kg KG ATG	773 (324-1512)	861 (445)			
Tag +100	Kein ATG	1200 (374-9493)	1705 (1675)	570,0	-3,128	0,002
	ATG	789 (0-4848)	1087 (902)			
	60 mg/kg KG ATG	749 (0-3200)	900 (622)			
	30 mg/kg KG ATG	1556 (456-4848)	1924 (1416)			

Wir führten einen *Mann-Whitney-U-Test* durch, um Unterschiede in den absoluten Lymphozytenzahlen an Tag +28 und Tag +100 zwischen Patienten der ATG-Gruppe und Patienten der Kein ATG-Gruppe aufzudecken. Darüber hinaus wurden Unterschiede in den absoluten Lymphozytenzahlen zwischen Patienten mit einer 30 mg/kg KG und und Patienten mit einer 60 mg/kg KG ATG-Dosierungen untersucht. Patienten ohne eine ATG-Gabe hatten im Mittel signifikant höhere Lymphozytenzahlen an Tag +28 und an Tag +100. Der Vergleich zwischen Patienten mit einer 30 mg/kg KG und Patienten mit einer 60 mg/kg KG ATG-Dosierung führte zu dem Ergebnis, dass eine hohe 60 mg/kg KG ATG-Dosierung mit signifikant niedrigeren Lymphozytenzahlen in der frühen Posttransplantationsperiode assoziiert war.

Des Weiteren untersuchten wir mittels *Mann-Whitney-U-Test*, in wie fern die Applikation von ATG die Immunrekonstitution in sechs aufeinanderfolgenden Zeiträumen nach der allogenen BSZT beeinflusste (Tag 0-50, Tag 50-100, Tag 100-150, Tag 150-200, Tag 200-300, Tag 300-400). Für jeden Zeitraum wurden jeweils die durchschnittlichen Zahlen der T-Helfer-Zellen, der T-Suppressor-Zellen, der natürlichen Killerzellen und der B-Lymphozyten in der Patientengruppe mit einer ATG-Gabe einerseits und ohne einer ATG-Gabe andererseits miteinander verglichen. Die durchschnittlichen T-Helfer-Zellzahlen waren im Verlauf nach der Transplantation signifikant vermindert in der ATG-Patientengruppe im Vergleich zu der Kein ATG-Patientengruppe ($p = 0,001$ für Tag 0-50, $p = 0,0001$ für Tag 50-100, $p = 0,0001$ für Tag 100-150, $p = 0,045$ für Tag 150-200, $p = 0,0001$ für Tag 200-300, $p = 0,0001$ für Tag 300-400). Siehe Abbildung 34 A. Auch bei Betrachtung der beiden Dosis-Subgruppen, 30 mg/kg KG ATG und 60 mg/kg KG ATG zeigten sich Unterschiede in den T-Helferzellzahlen, so dass eine Dosis-abhängige Wirkung von ATG auf die Rekonstitution der T-Helferzellen zu vermuten ist. Siehe Tabelle 38.

Tabelle 38 Zusammenhang zwischen der ATG-Gabe im Rahmen der Konditionierung und der Rekonstitution der T-Helferzellen im Posttransplantationsverlauf

Zeitraum nach der BSZT	Subgruppen	T-Helferzellen/ μ l		U	z	p
		Median	Mittelwert (SD)			
Tag 0-50	Kein ATG	243	328 (299)	54,5	-3,272	0,001
	ATG	29	35 (14)			
	30 mg/kg KG ATG	127	171 (112)			
	60 mg/kg KG ATG	15	379 (1609)			
Tag 50-100	Kein ATG	323	370 (184)	40,0	-4,350	0,0001
	ATG	74	111 (106)			
	30 mg/kg KG ATG	201	219 (165)			
	60 mg/kg KG ATG	72	84 (65)			
Tag 100-150	Kein ATG	361	391 (199)	48,5	-3,605	0,0001
	ATG	118	156 (127)			
	30 mg/kg KG ATG	377	119 (14)			
	60 mg/kg KG ATG	105	126 (91)			
Tag 150-200	Kein ATG	272	335 (258)	71,0	-2,007	0,045
	ATG	123	296 (813)			
	30 mg/kg KG ATG	439	392 (310)			
	60 mg/kg KG ATG	114	286 (850)			
Tag 200-300	Kein ATG	344	340 (148)	43,0	-4,382	0,0001
	ATG	108	157 (169)			
	30 mg/kg KG ATG	216	398 (407)			
	60 mg/kg KG ATG	101	130 (108)			
Tag 300-400	Kein ATG	462	539 (191)	8,0	-4,945	0,0001
	ATG	146	164 (84)			
	30 mg/kg KG ATG	221	202 (61)			
	60 mg/kg KG ATG	137	158 (87)			

Wir führten einen *Mann-Whitney-U-Test* durch, um Unterschiede in den absoluten T-Helferzellzahlen im Verlauf nach der BSZT zwischen Patienten der ATG-Gruppe und Patienten der Kein ATG-Gruppe aufzudecken. Darüber hinaus wurden Unterschiede in den absoluten T-Helferzellzahlen zwischen Patienten mit einer 30 mg/kg KG und und Patienten mit einer 60 mg/kg KG ATG-Dosierung untersucht. ATG = Anti-Human-T-Lyphozyten Immunglobulin (ATG-Fresenius®/Grafalon®), KG = Körpergewicht, BSZT = Blutstammzelltransplantation

Die Anzahl der zytotoxischen T-Zellen unterschied sich hingegen nicht signifikant zwischen Patienten mit einer ATG-Gabe und Patienten ohne einer ATG-Gabe im Rahmen der Konditionierung ($p > 0,200$ für alle sechs Perioden im Verlauf nach der Transplantation). Siehe Abbildung 34 B. Im Hinblick auf die natürliche Killerzell- und die B-Zell-Rekonstitution, zeigten Patienten mit einer ATG-Behandlung nur in der späten Posttransplantationsphase, zwischen Tag 300 und 400, im Durchschnitt weniger Zellen im Vergleich zu Patienten, die nicht mit ATG behandelt wurden ($p = 0,052$ für NK-Zellen und $p = 0,049$ für B-Zellen). In früheren Posttransplantationsperioden wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Vergleichsgruppen beobachtet (NK-Zellen und B-Zellen in den Perioden zwischen Tag 0 und 300 nach Transplantation: $p > 0,300$). Siehe Abbildung 33 C-D.

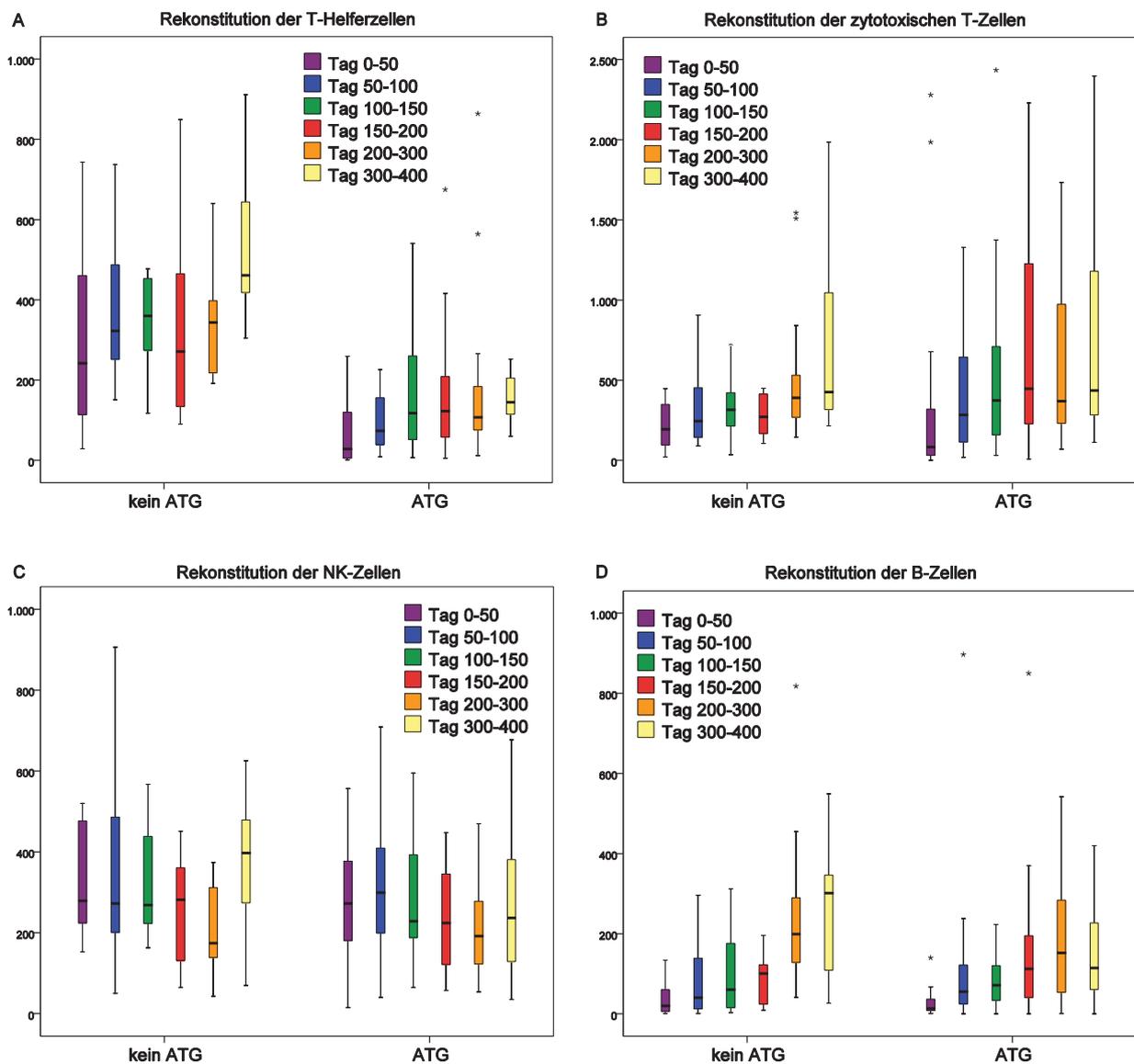


Abbildung 33 Einfluss von ATG auf die Immunrekonstitution der T-Helferzellen (A), der zytotoxischen T-Zellen (B), der NK-Zellen (C) und der B-Zellen (D) im Verlauf nach der allogenen BSZT.

Andere Prognosefaktoren, wie beispielsweise die Anzahl der CD34-positiven Zellen im Transplantat oder die Gabe von G-CSF, hatten keine Auswirkungen, weder auf die T-Zell-Rekonstitution noch auf die Rekonstitution der NK-Zellen und B-Lymphozyten. In dem betrachteten Hochrisiko-Kollektiv war ATG der einzige Prognosefaktor, der langanhaltend die T-Helferzell-Rekonstitution im Verlauf nach der allogenen BSZT verzögerte.

Neben der Anzahl der CD34-positiven Zellen im Transplantat war die in vivo T-Zell Depletion mit ATG der einzige signifikante Einflussfaktor auf die Inzidenz der chronischen GVHD in dem Patientenkollektiv FLAMSA-Mel.

Die Tabelle 39 fasst alle univariaten Analyse-Ergebnisse zum Einfluss der therapieabhängigen Prognosefaktoren auf die vier Zielvariablen, Gesamtüberleben, krankheitsfreies Überleben, Rezidivrate und therapieassoziierte Mortalität, zusammen.

Tabelle 39 Therapieabhängige Prognosefaktoren in der univariaten Analyse

	Gesamtüberleben (OS)		Krankheitsfreies Überleben (DFS)		Rezidivrate (RR)		Therapieassoziierte Mortalität (TRM)	
	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p
Signifikante Ergebnisse								
ATG								
Nein	68 %		58 %		28 %		18 %	
Ja	55 %	0,147	28 %	0,013	66 %	0,014	17 %	0,547
ATG-Dosis								
0 mg/kg KG	68 %		58 %		28 %		18 %	
30 mg/kg KG	58 %		42 %		54 %		8 %	
60 mg/kg KG	54 %	0,298	24 %	0,017	70 %	0,030	19 %	0,510
Nicht-signifikante Ergebnisse								
Melphalan-Dosis								
175-200 mg/m ² KO	75 %		51 %		42 %		13%	
≤ 150 mg/m ² KO	50 %	0,063	29 %	0,069	61 %	0,081	21%	0,610
Melphalan-Dosis								
75-100 mg/m ² KO	47 %		24 %		69 %		12 %	
≥ 100 mg/m ² KO	63 %	0,230	41 %	0,084	50 %	0,056	19 %	0,585
Melphalan-Dosis								
75-100 mg/m ² KO	47 %		24 %		69 %		12 %	
140-150 mg/m ² KO	52 %		32 %		57 %		22 %	
175-200 mg/m ² KO	75 %	0,162	51 %	0,110	42 %	0,095	13 %	0,606
G-CSF Gabe								
Ja	62 %		38 %		50 %		22 %	
Nein	54 %	0,688	33 %	0,711	63 %	0,215	10 %	0,163

Im Rahmen der univariaten Analysen wurden die Kaplan-Mayer Kurven von zwei oder mehr Gruppen mit dem *log rank* Test miteinander verglichen. Ein p-Wert < 0,05 wurde signifikant gewertet. ATG = Anti-Human-T-Lyphozyten Immunglobulin (ATG-Fresenius®/Grafalon®), KG = Körpergewicht, KO = Körperoberfläche, G-CSF = Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor, BSZT = Blutstammzelltransplantation

4.4.2 Prognosefaktoren des Posttransplantationsverlaufes

Prognosefaktoren des Posttransplantationsverlaufes entwickeln sich erst im Verlauf nach der allogenen BSZT. Hierzu zählen Blutwerte, spezifische Untersuchungsergebnisse oder Komplikationen im Verlauf nach der Transplantation. In dieser Arbeit wurde der Spenderchimärismus, die Vollständigkeit und Geschwindigkeit der hämatologischen und Immunrestitution, sowie das Auftreten einer GVHD als potentielle Prognosefaktoren des Posttransplantationsverlaufes untersucht. Die univariaten Analyseergebnisse zu diesen Prognosefaktoren werden im Folgenden beschrieben.

4.4.2.1 Die prognostische Bedeutung der Geschwindigkeit der frühen hämatologischen Reconstitution

Um die prognostische Bedeutung der Geschwindigkeit der frühen hämatologischen Reconstitution in unserem Kollektiv zu beleuchten, verglichen wir die Patientengruppen „Dauer der Reconstitution schneller als die mediane Zeitspanne bis zur Reconstitution im Gesamtkollektiv“ und „Dauer der Reconstitution identisch mit oder langsamer als die mediane Zeitspanne bis zu Reconstitution im Gesamtkollektiv“ miteinander. In unserem Studienkollektiv FLAMSA-Melphalan dauerte die Reconstitution der Leukozyten im Median 14 Tage und die Reconstitution der Thrombozyten im Median 21 Tage. Unserer univariaten Analyse zu Folge, war ein Zeitraum von ≥ 21 Tage bis zur Reconstitution der Thrombozyten mit einem signifikanten Anstieg der therapieassoziierten Mortalität assoziiert, im Vergleich zu einem Zeitraum von < 21 Tage (4-J-TRM: 21 % vs. 4 %, $p = 0,047$). Die Rezidivrate wurde jedoch nicht von der Zeit bis zur Reconstitution der Thrombozyten beeinflusst (< 21 Tage vs. ≥ 21 Tage, 4-J-RR: 53 % vs. 55 %, $p = 0,325$). Der Anstieg der therapieassoziierten Mortalität bei Patienten mit einer verzögerten Thrombozyten-Reconstitution resultierte in einem verminderten krankheitsfreien und Gesamtüberleben (4-J-DFS: 32 % vs. 46 %, $p = 0,043$; 4-J-OS: 52 % vs. 74 %, $p = 0,019$). Die Zeit bis zur Reconstitution der Leukozyten hatte wiederum keine signifikante prognostische Bedeutung für das Transplantationsergebnis (< 14 Tage vs. ≥ 14 Tage; 4-J-TRM: 19 % vs. 10 %, $p = 0,478$; 4-J-RR: 52 % vs. 58 %, $p = 0,870$; 4-J-DFS: 37 % vs. 38 %, $p = 0,662$; 4-J-OS: 56 % vs. 66 %, $p = 0,444$).

4.4.2.2 Die prognostische Bedeutung der Immunrekonstitution

Die Rekonstitution des Immunsystems im Verlauf nach der allogenen BSZT kann in eine frühe Phase und eine späte Phase untergliedert werden. Die frühe Phase der Immunrekonstitution erstreckt sich bis zu einem halben Jahr nach der Transplantation. Die Rekonstitution in der darauffolgenden Zeit wird als späte Phase der Immunrekonstitution bezeichnet.

Als einfache laborchemische Marker der frühen Immunrekonstitution untersuchten wir in einem ersten Schritt den Einfluss der Leukozytenzahlen und der Lymphozytenzahlen im peripheren Blut an Tag 28 und Tag 100 nach BSZT auf die Zielvariablen Gesamtüberleben (OS), krankheitsfreies Überleben (DFS), Rezidivrate (RR), therapieassoziierte Mortalität (TRM) und Inzidenz der chronischen GVHD (cGVHD). Hierzu wurden Patienten mit Zellzahlen über dem Median und Patienten mit Zellzahlen unter dem Median miteinander verglichen.

Unseren Analysen zu Folge, waren niedrige Lymphozytenzahlen an Tag +28 und niedrige Leukozytenzahl an Tag +100 von prognostischer Bedeutung für die Rezidivrate und das krankheitsfreie Überleben nach allogener BSZT. Für Patienten mit weniger als 591 Lymphozyten/ μl an Tag +28 war die geschätzte Rezidivrate und die therapieassoziierte Mortalität tendenziell erhöht (4-J-RR: 65 % vs. 47 %, $p = 0,138$; 4-J-TRM: 18 % vs. 11 %, $p = 0,101$). Dem zu Folge zeigten Patienten mit weniger als 591 Lymphozyten/ μl an Tag +28 ein signifikant vermindertes krankheitsfreies Überleben und im Trend auch ein vermindertes Gesamtüberleben (4-J-DFS: 28 % vs. 46 %, $p = 0,031$; 4-J-OS: 57 % vs. 66 %, $p = 0,124$). Patienten, bei denen die Untersuchung des peripheren Blutbildes an Tag 100 nach BSZT weniger als 4500 Leukozyten/ μl ergab, hatten ein signifikant erhöhtes Risiko im weiteren Posttransplantationsverlauf ein Rezidiv zu erleiden (4-J-RR: 66 % vs. 44 %, $p = 0,033$). Auch das Risiko eines therapieassoziierten Todes war bei Patienten mit weniger als 4500 Leukozyten/ μl an Tag +100 erhöht, wenngleich das Ergebnis nicht signifikant ausfiel (4 % vs. 14 %, $p = 0,350$). Im Vergleich zu Patienten mit Leukozytenzahlen $\geq 4500/\mu\text{l}$ zeigten Patienten mit Leukozytenzahlen $< 4500/\mu\text{l}$ an Tag +100 einen Trend hin zu einem reduzierten krankheitsfreien Überleben, bei ähnlichem Gesamtüberleben (4-J-DFS: 32 % vs. 47 %, $p = 0,086$; 4-J-OS: 62 % vs. 66 %, $p = 0,689$).

Auf der anderen Seite hatten Patienten mit Leukozyten- und Lymphozytenzahlen unter dem Median an Tag 28 und 100 nach BSZT ein signifikant niedrigeres Risiko, eine chronische GVHD nach allogener BSZT zu entwickeln. Zum Vergleich siehe Tabelle 40.

Tabelle 40 Einfluss der Leukozyten- und Lymphozytenzahlen an Tag 28 und Tag 100 nach BSZT auf das Transplantationsergebnis

	OS		DFS		RR		TRM		cGVHD	
	4-J-Rate	p								
Tag 28 nach BSZT										
Leukozyten/ μ l										
< 4400	56 %		35 %		60 %		9 %		42 %	
\geq 4400	65 %	0,411	39 %	0,659	49 %	0,242	21%	0,187	65 %	0,006
Lymphozyten/ μ l										
< 591	57 %		28 %		65 %		18 %		42 %	
\geq 591	66 %	0,124	46 %	0,031	47 %	0,138	11 %	0,101	63 %	0,016
Tag 100 nach BSZT										
Leukozyten/ μ l										
< 4500	62 %		32 %		66 %		4 %		44 %	
\geq 4500	66 %	0,689	47 %	0,086	44 %	0,033	14 %	0,350	63 %	0,034
Lymphozyten/ μ l										
< 950	62 %		30 %		67 %		9 %		45 %	
\geq 950	66 %	0,836	45 %	0,330	49 %	0,430	9 %	0,565	62 %	0,427

Im Rahmen der univariaten Analysen wurden die Kaplan-Mayer Kurven von zwei Gruppen mit dem *log rank* Test miteinander verglichen. Ein p-Wert < 0,05 wurde signifikant gewertet. OS = Gesamtüberleben, DFS = Krankheitsfreies Überleben, RR = Rezidivrate, TRM = Therapieassoziierte Mortalität, cGVHD = Chronische Transplantat-gegen-Wirt Erkrankung, BSZT = Blutstammzelltransplantation

In einem zweiten Analyseschritt betrachteten wir die Lymphozyten-Subpopulationen der T-Helferzellen (CD4+ Zellen), zytotoxischen T-Zellen (CD8+ Zellen), natürliche Killerzellen (CD56+ Zellen) und B-Zellen (CD19+ Zellen), die wir anhand der Immunstadien bestimmten. Für sechs aufeinanderfolgende Perioden (Tag 0-50, Tag 50-100, Tag 100-150, Tag 150-200, Tag 200-300 und Tag 300-400), wurde der Einfluss der Zellzahlen auf die Zielvariablen Gesamtüberleben (OS), krankheitsfreies Überleben (DFS), Rezidivrate (RR), therapieassoziierte Mortalität (TRM) und Inzidenz der chronischen *Graft-versus-Host Disease* (cGVHD) untersucht.

T-Helferzellzahlen unter dem Median waren mit einem signifikanten Anstieg der Rezidivrate und einer Verminderung des krankheitsfreien Überlebens assoziiert. Insbesondere in den Perioden nach Tag +100 war ein Zusammenhang zwischen niedrigen T-Helferzellzahlen und einer erhöhten Rezidivrate ersichtlich. Siehe Tabelle 41. Der deutlichste Unterschied zwischen Patienten mit T-Helferzellzahlen über und unter dem Median wurde in der Posttransplantationsperiode zwischen Tag 200 und 300 beobachtet. Für Patienten, die zwischen Tag 200 und 300 weniger als 184 T-Helferzellen pro μ l aufwiesen, betrug die geschätzte Rezidivrate 56 % nach 4 Jahren, im Vergleich zu 6 % für Patienten mit T-Helferzellzahlen von 184/ μ l oder mehr (p = 0,003). Folglich zeigten Patienten mit T-Helferzellzahlen unter 184/ μ l zwischen Tag 200 und 300 ein signifikant vermindertes krankheitsfreies Überleben (4-J-DFS: 44 % vs. 86 %, p = 0,006). Auch das Gesamtüberleben dieser Patienten war im Trend vermindert (4-J-OS: 80 % vs. 92 %, p = 0,085). Zum Vergleich siehe Abbildung 34.

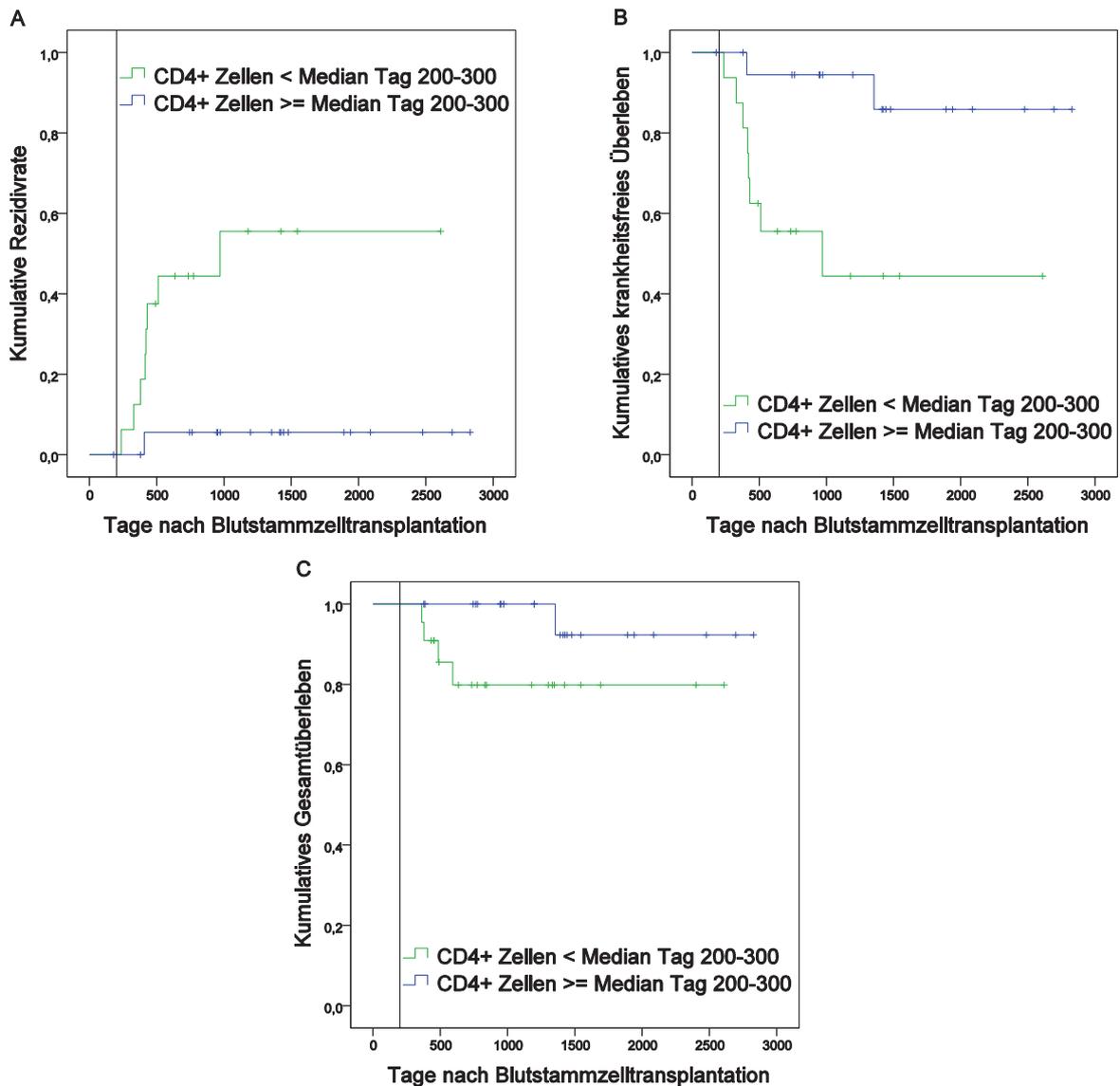


Abbildung 34 (A) Rezidivrate ($p = 0,003$), (B) krankheitsfreies Überleben ($p = 0,006$) und (C) Gesamtüberleben ($p = 0,085$) von Patienten mit einer T-Helferzellzahl im oder über dem Median (blau) und von Patienten mit einer T-Helferzellzahl unter dem Median (grün) in dem Zeitraum Tag 200-300.

Während Patienten mit T-Helferzellzahlen unter dem Median ein erhöhtes Rezidivrisiko nach der allogenen BSZT hatten, war das Risiko eine chronische GVHD zu entwickeln vermindert. In den Posttransplantationsperioden Tag 100-150 und Tag 200-300 war der Einfluss der T-Helferzellzahlen auf die Inzidenz der chronischen GVHD signifikant ($p = 0,015$ für Tag 100-150 und $p = 0,034$ für Tag 200-300). Auch in den frühen Posttransplantationsperioden und in der Periode zwischen Tag 150 und 200 war ein Unterschied zwischen den Vergleichsgruppen erkennbar, jedoch war dieser nicht signifikant. Im Hinblick auf die therapieassoziierte Mortalität war kein unidirektionaler Einfluss der T-Helferzellzahlen im Verlauf der Immunrekonstitution zu beobachten. Zum Vergleich siehe Tabelle 41.

Tabelle 41 Einfluss der der T-Helferzell-Rekonstitution auf das Transplantationsergebnis

Zeitraum nach BSZT T-Helferzellen/ μ l	OS		DFS		RR		TRM		cGVHD	
	4-J-Rate	p								
Tag 0-50										
< 55	79 %		28 %		72 %		0 %		45 %	
\geq 55	63 %	0,516	39 %	0,642	51 %	0,417	21 %	0,146	56 %	0,236
Tag 50-100										
< 130	64 %		31 %		69 %		0 %		49 %	
\geq 130	71 %	0,432	50 %	0,232	40 %	0,126	13 %	0,222	54 %	0,988
Tag 100-150										
< 159	71 %		71 %		81 %		10 %		17 %	
\geq 159	77 %	0,814	18 %	0,014	29 %	0,024	0 %	0,179	61 %	0,015
Tag 150-200										
< 159	59 %		53 %		48 %		5 %		19 %	
\geq 159	81 %	0,339	72 %	0,363	29 %	0,363	0 %	0,330	35 %	0,667
Tag 200-300										
< 184	80 %		44 %		56 %		0 %		0 %	
\geq 184	92 %	0,085	86 %	0,006	6 %	0,003	8 %	0,535	42 %	0,034
Tag 300-400										
< 197	82 %		44 %		56 %		0 %		8 %	
\geq 197	92 %	0,266	81 %	0,014	9 %	0,005	8 %	0,414	0 %	0,617

Im Rahmen der univariaten Analysen wurden die Kaplan-Mayer Kurven von zwei Gruppen mit dem *log rank* Test miteinander verglichen. Ein p-Wert < 0,05 wurde signifikant gewertet. OS = Gesamtüberleben, DFS = Krankheitsfreies Überleben, RR = Rezidivrate, TRM = Therapieassoziierte Mortalität, cGVHD = Chronische Transplantat-gegen-Wirt Erkrankung, BSZT = Blutstammzelltransplantation

In den Auswertungen der zytotoxischen T-Zellzahlen im Verlauf nach der allogenen BSZT, war nur in den sehr frühen und den späten Posttransplantationsperioden ein Einfluss der zytotoxischen T-Zellzahlen auf die Rezidivrate angedeutet. Bis Tag 100 und zwischen Tag 200 und Tag 400 nach BSZT, waren zytotoxische T-Zellen unter dem Median tendenziell mit einer Erhöhung der Rezidivrate assoziiert (p = 0,293 für Tag 0-50, p = 0,038 für Tag 50-100, p = 0,270 für Tag 200-300, p = 0,058 für Tag 300-400). Das krankheitsfreie Überleben und das Gesamtüberleben waren, zumindest im Trend, vermindert bei Patienten mit zytotoxischen T-Zellzahlen unter dem Median.

Darüber hinaus fiel auf, dass zytotoxische T-Zellzahlen über dem Median in den ersten 50 Tagen nach BSZT, einerseits mit einem Anstieg der therapieassoziierten Mortalität und andererseits mit einem verminderten Rezidivrisiko im weiteren Posttransplantationsverlauf einhergingen. Jedoch verfehlten auch diese Ergebnisse, höchstwahrscheinlich aufgrund der zu geringen Größe der Vergleichsgruppen, das Signifikanzniveau (4-J-TRM: 19 % vs. 0 %, p = 0,179; 4-J-RR: 51 % vs. 72 %, p = 0,293 for RR).

Im Hinblick auf die Inzidenz der cGVHD, war kein eindeutiger Einfluss der zytotoxischen T-Zellen zu beobachten. Siehe Tabelle 42.

Tabelle 42 Einfluss der zytotoxischen T-Zell-Rekonstitution auf das Transplantationsergebnis

Zeitraum nach BSZT zytotox. T-Zellen/ μ l	OS		DFS		RR		TRM		cGVHD	
	4-J-Rate	p								
Tag 0-50										
< 109	74 %		28 %		72 %		0 %		45 %	
\geq 109	69 %	0,870	39 %	0,488	51 %	0,293	19 %	0,179	60 %	0,124
Tag 50-100										
< 285	55 %		14 %		84 %		5 %		50 %	
\geq 285	77 %	0,118	56 %	0,026	38 %	0,038	7 %	0,628	52 %	0,904
Tag 100-150										
< 319	66 %		50 %		47 %		5 %		26 %	
\geq 319	82 %	0,308	47 %	0,841	53 %	0,917	5 %	0,942	46 %	0,326
Tag 150-200										
< 377	65 %		67 %		33 %		0 %		45 %	
\geq 377	76 %	0,809	56 %	0,527	54 %	0,527	6 %	0,304	15 %	0,170
Tag 200-300										
< 385	79 %		58 %		42 %		0 %		33 %	
\geq 385	93 %	0,065	72 %	0,358	20 %	0,270	7 %	0,593	10 %	0,808
Tag 300-400										
< 428	77 %		43 %		57 %		0 %		0 %	
\geq 428	93 %	0,094	74 %	0,083	18 %	0,058	7 %	0,564	10 %	0,480

Im Rahmen der univariaten Analysen wurden die Kaplan-Mayer Kurven von zwei Gruppen mit dem *log rank* Test miteinander verglichen. Ein p-Wert < 0,05 wurde signifikant gewertet. OS = Gesamtüberleben, DFS = Krankheitsfreies Überleben, RR = Rezidivrate, TRM = Therapieassoziierte Mortalität, cGVHD = Chronische Transplantat-gegen-Wirt Erkrankung, BSZT = Blutstammzelltransplantation

Die Anzahl der natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) in der frühen Phase der Immunrekonstitution zeigte keinen Einfluss auf die Rezidivrate, die therapieassoziierte Mortalität, das krankheitsfreie Überleben und das Gesamtüberleben im weiteren Posttransplantationsverlauf. Für die späte Phase der Immunrekonstitution, nach Tag +200, deuten die univariaten Analysen an, dass hohe NK-Zellzahlen über dem Median mit einer erhöhten therapieassoziierten Mortalität und einem verminderten Gesamtüberleben einhergehen könnten (Tag 200-300: 10 % vs. 0 %, p = 0,371 für TRM; 78 % vs. 96 %, p = 0,213 für OS; Tag 300-400: 9 % vs. 0 %, p = 0,366 für TRM; 25 % vs. 100 %, p = 0,048 für OS). Auch das Risiko eine cGVHD im weiteren Verlauf zu entwickeln war tendenziell erhöht, wenn Patienten hohe NK-Zellzahlen in den Zeiträumen Tag 200-300 und Tag 300-400 aufwiesen (Tag 200-300: 26 % vs. 0 %, p = 0,163; Tag 300-400: 17 % vs. 0 %, p = 0,221).

Eine Erhöhung des Risikos eine cGVHD zu entwickeln, konnten ebenfalls für die frühen Phase der Immunrekonstitution zwischen Tag 0 und Tag +100 beobachtet werden. Beispielsweise betrug die kumulative Inzidenz der cGVHD 68 % für Patienten mit 285 NK-Zellen/ μ l oder mehr zwischen Tag 50 und 100 nach BSZT, im Vergleich zu 35 % für Patienten mit NK-Zellzahlen unter 285/ μ l (p = 0,048). Siehe Abbildung 35 und Tabelle 43.

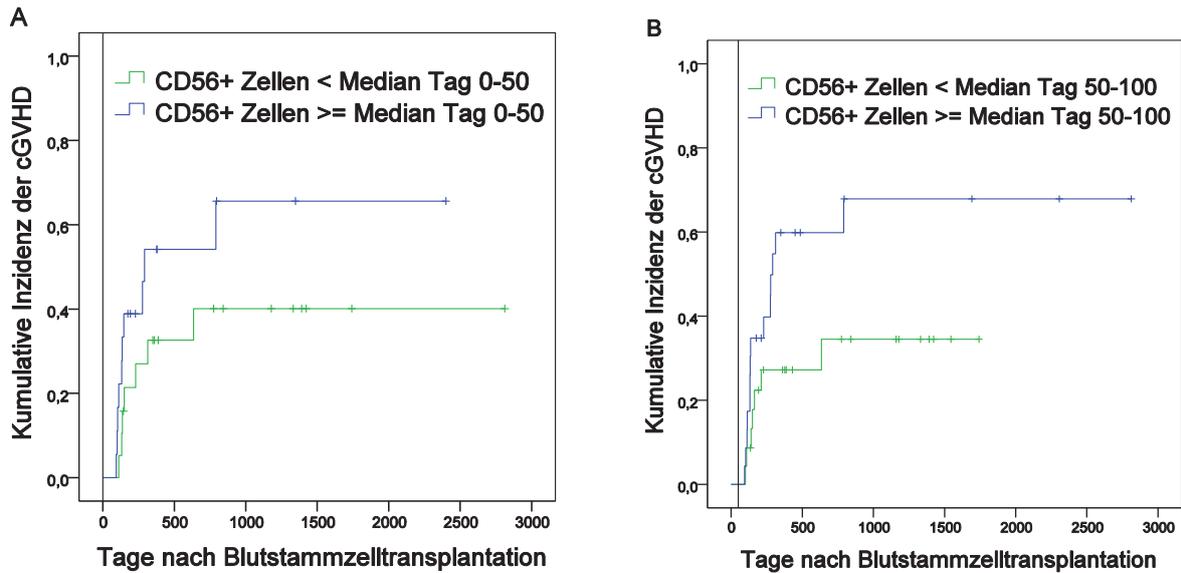


Abbildung 35 Inzidenz der chronischen GVHD von Patienten, die in den Zeiträumen (A) Tag 0-50 ($p = 0,134$) und (B) Tag 50-100 ($p = 0,048$) nach BSZT NK-Zellzahlen im oder über dem Median zeigen (blau) im Vergleich zu Patienten mit NK-Zellzahlen unter dem Median (grün).

Tabelle 43 Einfluss der NK-Zell-Rekonstitution auf das Transplantationsergebnis

Zeitraum nach BSZT NK-Zellen/ μ l	OS		DFS		RR		TRM		cGVHD	
	4-J-Rate	p								
Tag 0-50										
< 275	70 %		35 %		53 %		17 %		40 %	
\geq 275	70 %	0,472	31 %	0,397	67 %	0,375	5 %	0,942	66 %	0,134
Tag 50-100										
< 288	67 %		34 %		63 %		5 %		35 %	
\geq 288	68 %	0,898	50 %	0,175	44 %	0,200	8 %	0,822	68 %	0,048
Tag 100-150										
< 250	68 %		45 %		52 %		11 %		34 %	
\geq 250	81 %	0,251	54 %	0,328	47 %	0,457	0 %	0,137	38 %	0,751
Tag 150-200										
< 234	85 %		73 %		27 %		5 %		33 %	
\geq 234	59 %	0,120	51 %	0,302	49 %	0,302	0 %	0,330	20 %	0,550
Tag 200-300										
< 178	96 %		71 %		29 %		0 %		0 %	
\geq 178	78 %	0,213	63 %	0,719	26 %	0,965	10 %	0,371	26 %	0,163
Tag 300-400										
< 274	100 %		56 %		44 %		0 %		0 %	
\geq 274	25 %	0,048	68 %	0,366	23 %	0,227	9 %	0,366	17 %	0,221

Im Rahmen der univariaten Analysen wurden die Kaplan-Mayer Kurven von zwei Gruppen mit dem *log rank* Test miteinander verglichen. Ein p-Wert < 0,05 wurde signifikant gewertet. OS = Gesamtüberleben, DFS = Krankheitsfreies Überleben, RR = Rezidivrate, TRM = Therapieassoziierte Mortalität, cGVHD = Chronische Transplantat-gegen-Wirt Erkrankung, BSZT = Blutstammzelltransplantation

Ähnlich den Analysen zu der Rekonstitution zytotoxischer T-Zellen, ergaben auch die Analysen zum Einfluss der B-Zell-Rekonstitution nur wenige signifikante Ergebnisse. Wenngleich die Ergebnisse nicht signifikant waren, fiel auf, dass in allen sechs Perioden des Posttransplantationsverlaufes, niedrige B-Zellzahlen unter dem Median mit einem Anstieg der therapieassoziierten Mortalität

einhergingen. Die Rezidivrate und die Inzidenz der cGVHD hingegen, wurden offensichtlich nicht von der Höhe der B-Zellzahlen im Verlauf nach der BSZT beeinflusst. In Folge der leicht erhöhten therapieassoziierten Mortalität, zeigten Patienten mit niedrigen B-Zellzahlen im Trend ein vermindertes krankheitsfreies und Gesamtüberleben. Jedoch wurde nur bei der Analyse zum Einfluss der B-Zellzahlen zwischen Tag 200 und 300 auf das Gesamtüberleben ein signifikantes Ergebnis erzielt (64 % vs. 100 %, p = 0,009). Siehe Tabelle 44.

Tabelle 44 Einfluss der B-Zell-Rekonstitution auf das Transplantationsergebnis

Zeitraum nach BSZT B-Zellen / μ l	OS		DFS		RR		TRM		cGVHD	
	4-J-Rate	p								
Tag 0-50										
< 16	68 %		31 %		61 %		14 %		46 %	
\geq 16	75 %	0,982	39 %	0,720	59 %	0,676	5 %	0,971	57 %	0,142
Tag 50-100										
< 56	62 %		37 %		52 %		17 %		62 %	
\geq 56	74 %	0,538	46 %	0,973	53 %	0,649	0 %	0,139	41 %	0,161
Tag 100-150										
< 64	72 %		44 %		53 %		10 %		40 %	
\geq 64	77 %	0,770	53 %	0,793	47 %	0,998	0 %	0,157	32 %	0,671
Tag 150-200										
< 105	70 %		56 %		43 %		5 %		18 %	
\geq 105	71 %	0,954	65 %	0,691	35 %	0,691	0 %	0,330	32 %	0,432
Tag 200-300										
< 179	64 %		54 %		28 %		20 %		25 %	
\geq 179	100 %	0,009	74 %	0,379	26 %	0,668	0 %	0,107	9 %	0,869
Tag 300-400										
< 147	75 %		58 %		27 %		13 %		0 %	
\geq 147	94 %	0,260	63 %	0,773	36 %	0,474	0 %	0,221	14 %	0,285

Im Rahmen der univariaten Analysen wurden die Kaplan-Mayer Kurven von zwei Gruppen mit dem *log rank* Test miteinander verglichen. Ein p-Wert < 0,05 wurde signifikant gewertet. OS = Gesamtüberleben, DFS = Krankheitsfreies Überleben, RR = Rezidivrate, TRM = Therapieassoziierte Mortalität, cGVHD = Chronische Transplantat-gegen-Wirt Erkrankung, BSZT = Blutstammzelltransplantation

4.4.2.3 Die prognostische Bedeutung des Spenderchimärismus

Um die prognostische Bedeutung des Spenderchimärismus für das Überleben nach der allogenen BSZT zu ermitteln, wurde das Transplantationsergebnis von Patienten mit einem vollständigen Spenderchimärismus (100 %) mit dem von Patienten verglichen, die keinen vollständigen Spenderchimärismus erreichten (< 100 %). Der Vergleich wurde jeweils für die Chimärismus-Untersuchungen aus dem Knochenmark (KM) und aus dem peripheren Blut (PB) an den Tagen 28 und 100 nach BSZT durchgeführt.

Bereits an Tag +28 deutete sich an, dass Patienten, die keinen 100%-igen Spenderchimärismus erreichten, ein erhöhtes Rezidivrisiko im weiteren Posttransplantationsverlauf hatten. Signifikante Ergebnisse ergaben sich jedoch nur für die Chimärismus-Bestimmung aus dem Knochenmark, nicht für die Bestimmung aus dem peripheren Blut. An Tag 100 nach BSZT, war ein Spenderchimärismus < 100 % sowohl bei der Chimärismus-Bestimmung aus dem Knochenmark als auch bei der Chimärismus-Bestimmung aus dem peripheren Blut ein signifikanter Risikofaktor für ein Rezidiv und einen rezidivassozierten Tod im weiteren Posttransplantationsverlauf.

Aus diesen Beobachtungen können wir schlussfolgern, dass die Bestimmung des Spenderchimärismus an Tag +28 und Tag +100 eine geeignete Methode ist, um das Rezidivrisiko und das Überleben nach einer allogenen Blutstammzelltransplantation zu prognostizieren. Während an Tag +28 nur die Chimärismus-Bestimmung aus dem Knochenmark ein Rezidiv zuverlässig prognostizieren konnte, gelang dies an Tag +100 sowohl aus dem Knochenmark als auch aus dem peripheren Blut. Zum Vergleich siehe Abbildung 36 und Tabelle 45.

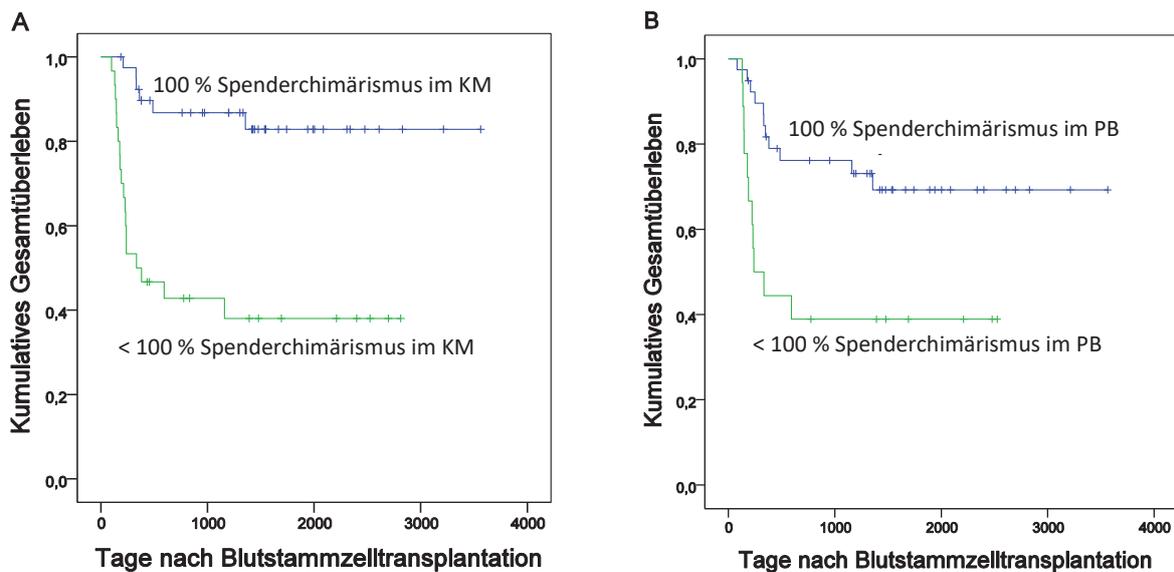


Abbildung 36 Gesamtüberleben von Patienten mit einem 100 % Spenderchimärismus im Vergleich zu Patienten mit einem Spenderchimärismus < 100 % an Tag 100 nach BSZT, im Falle einer Chimärismus-Bestimmung aus dem (A) Knochenmark ($p < 0,0001$) und dem (B) peripheren Blut ($p = 0,006$).

Tabelle 45 Einfluss des Spenderchimärismus auf das Transplantationsergebnis

	n	Gesamtüberleben (OS)		Krankheitsfreies Überleben (DFS)		Rezidivrate (RR)		Therapie-assoziierte Mortalität (TRM)	
		4-J-R	p	4-J-R	p	4-J-R	p	4-J-R	p
Spenderchimärismus Tag +28									
Untersuchung aus dem PB									
< 100 %	7	69 %		29 %		71 %		0 %	
100 %	46	59 %	0,543	40 %	0,499	52 %	0,281	17 %	0,318
Untersuchung aus dem KM									
< 100 %	18	60 %		17 %		81 %		11 %	
100 %	54	64 %	0,704	48 %	0,015	43 %	0,015	11 %	0,658
Spenderchimärismus Tag +100									
Untersuchung aus dem PB									
< 100 %	18	39 %		6 %		94 %		0 %	
100 %	39	69 %	0,006	47 %	<0,0001	44 %	<0,0001	15 %	0,201
Untersuchung aus dem KM									
< 100 %	30	38 %		7 %		92 %		3 %	
100 %	40	83 %	<0,0001	60 %	<0,0001	33 %	<0,0001	9 %	0,711

Im Rahmen der univariaten Analysen wurden die Kaplan-Meier Kurven von zwei Gruppen mit dem *log rank* Test miteinander verglichen. Ein p-Wert < 0,05 wurde signifikant gewertet. 4-J-R = 4-Jahres-Rate, PB = Peripheres Blut, KM = Knochenmark

4.4.2.4 Die prognostische Bedeutung der Graft-versus-Host Disease

Im Folgenden gingen wir der Frage nach, ob und in wie weit das Auftreten einer GVHD in unserem Patientenkollektiv die vier Zielvariablen Gesamtüberleben, krankheitsfreies Überleben, Rezidivrate und therapieassoziierte Mortalität, beeinflusste. Hierzu wurden in einem ersten Schritt Patienten mit einer GVHD (n = 67), mit Patienten verglichen, die im Verlauf nach der allogenen BSZT keine GVHD entwickelt hatten (n = 36). Bei der Analyse wurden nur Patienten berücksichtigt, die die Phase der Aplasie überlebt hatten.

Patienten, die im Verlauf nach der BSZT eine GVHD entwickelten, lebten insgesamt und krankheitsfrei länger, im Vergleich zu Patienten ohne eine GVHD im Verlauf nach der BSZT (4-J-OS: 71 % vs. 39 %, p = 0,001; 4-J-DFS: 53 % vs. 8 %, p = 0,0001). Patienten, bei denen keine GVHD im Verlauf nach der BSZT auftrat, rezidierten signifikant häufiger (4-J-RR: 90 % vs. 37 %, p = 0,0001). Die therapieassoziierte Mortalität wurde von dem Auftreten einer GVHD im Verlauf nach der BSZT nicht beeinflusst (p = 0,756).

Da es sich bei der Entwicklung einer GVHD um einen zeitabhängigen Faktor handelt, ist die Einschätzung ihres Einflusses mit der Kaplan-Mayer Methode nur bedingt aussagekräftig. Um den intervenierenden Einflussfaktor Zeit so klein wie möglich zu halten, führten wir ergänzende Zielpunkt-Analysen durch. Zur Einschätzung der prognostischen Bedeutung einer akuten GVHD wurde eine Zielpunkt-Analyse an Tag +100 und einer chronischen GVHD an Tag +200 durchgeführt. Bei den Analysen zum Einfluss der aGVHD wurden nur Patienten berücksichtigt, die vor Tag +100 eine aGVHD entwickelten und Patienten, die den Zielpunkt Tag +100 überlebten. Im Hinblick auf den Einfluss der cGVHD wurden Patienten, die vor Tag +200 verstarben und Patienten, die nach Tag +200 eine cGVHD entwickelten, von den Analysen ausgeschlossen.

Zunächst verglichen wir das Transplantationsergebnis von Patienten, die bis Tag +100 eine aGVHD entwickelten (n = 42), mit Patienten die bis zu diesem Zeitpunkt keine aGVHD entwickelten (n = 60). Patienten, die vor Tag +30 verstarben, wurden von der Analyse ausgeschlossen. Für diese Analyse wurde die klassische Klassifikation der akuten GVHD nach Glucksberg angewandt. Patienten, die gemäß *NIH-Consensus* eine *late onset* aGVHD entwickelten wurden somit nicht berücksichtigt.

In der Analyse deutete sich an, dass Patienten mit einer aGVHD innerhalb von 100 Tagen nach der BSZT, ein etwas niedrigeres Rezidivrisiko und ein besseres krankheitsfreies Überleben hatten. Jedoch wurde das Signifikanzniveau verfehlt. (4-J-RR: 43 % vs. 64 %, p = 0,120; 4-J-DFS: 48 % vs. 29 %, p = 0,205). Im Hinblick auf die therapieassoziierte Mortalität und das Gesamtüberleben zeigten sich keine signifikanten und auch keine tendenziellen Unterschiede zwischen den beiden Vergleichsgruppen (4-J-OS: 64 % für aGVHD vs. 57 % für keine aGVHD, p = 0,867; 4-J-TRM: 18 % für aGVHD vs. 14 % für keine aGVHD, p = 0,344). Zum Vergleich siehe Abbildung 37.

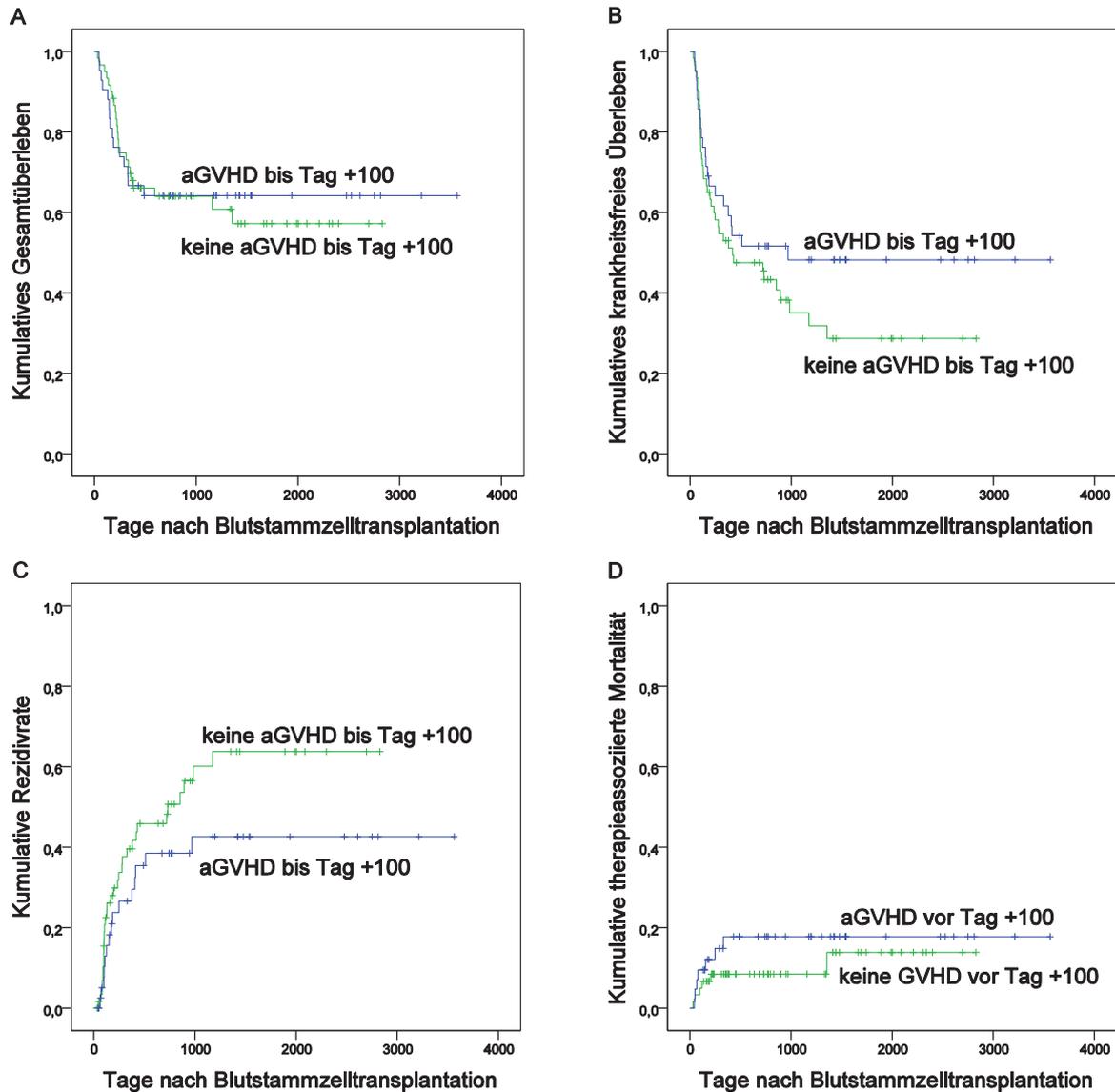


Abbildung 37 (A) Gesamtüberleben ($p = 0,867$), (B) krankheitsfreies Überleben ($p = 0,205$), (C) Rezidivrate ($p = 0,120$) und (D) therapieassoziierte Mortalität ($p = 0,344$) von Patienten, die bis Tag +100 nach Transplantation eine bzw. keine akute GVHD entwickelten.

In einem weiteren Analyse-Schritt gingen wir der Frage nach in wieweit sich die Prognose von Patienten mit einer aGVHD Grad I-II (n = 32) und einer aGVHD Grad III-IV (n = 10) voneinander unterschied. Während Patienten mit den aGVHD Schweregraden I-II im Trend häufiger rezidierten, starben Patienten mit den aGVHD Schweregraden III-IV signifikant häufiger in Folge therapieassoziierter Komplikationen nach BSZT (4-J-RR: 48 % für Grad I-II vs. 14 % für Grad III-IV, p = 0,235; 4-J-TRM: 11 % für Grad I-II vs. 40 % für Grad III-IV, p = 0,009). Siehe Abbildung 38. Patienten mit einer aGVHD Grad I-II und einer aGVHD Grad III-IV zeigten daher ein ähnliches krankheitsfreies Überleben (4-J-DFS: 47 % für Grad I-II vs. 50 % für Grad III-IV, p = 0,560). Das Gesamtüberleben von Patienten mit einer aGVHD Grad I-II war jedoch geringfügig besser als das von Patienten mit einer aGVHD Grad III-IV (4-J-OS: 69 % vs. 50 %, p = 0,102). Womöglich aufgrund der niedrigen Gruppengröße von Patienten mit einer aGVHD Grad III-IV (n = 10) waren die Unterschiede zwischen den aGVHD-Schweregraden I-II und III-IV nur im Hinblick auf die therapieassoziierte Mortalität signifikant.

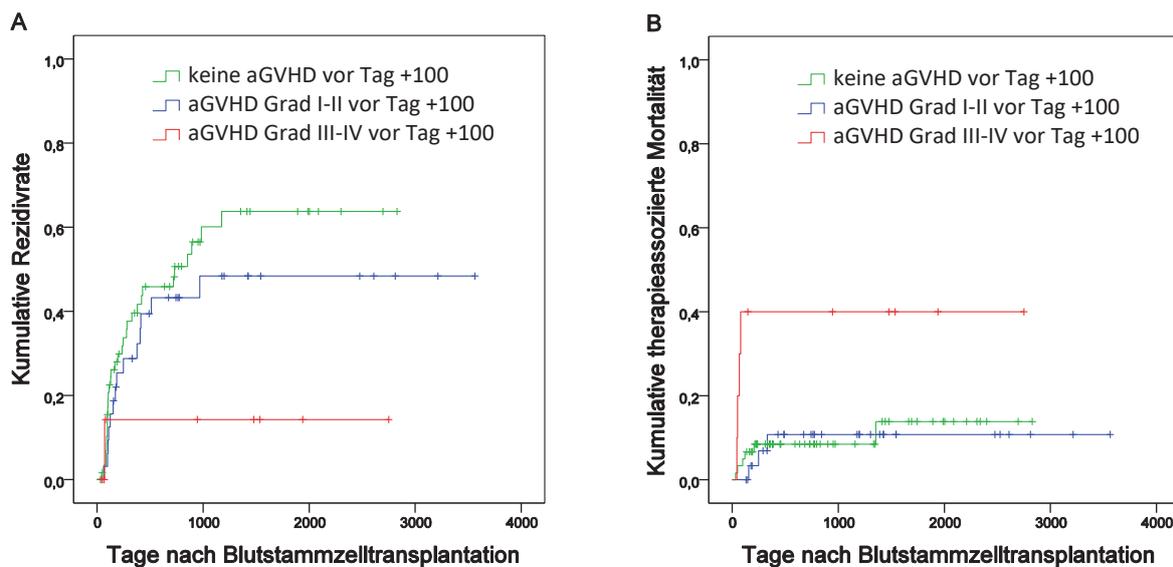


Abbildung 38 (A) Rezidivrate und (B) therapieassoziierte Mortalität von Patienten mit einer akuten GVHD Grad I-II vor Tag +100, Patienten mit einer akuten GVHD Grad III-IV vor Tag +100 und von Patienten, die bis Tag +100 keine akute GVHD entwickelten (p = 0,235 für den Vergleich der RR und p = 0,009 für den Vergleich der TRM von aGVHD Grad I-II vs. aGVHD Grad III-IV).

Letztlich deutet die Zielpunkt-Analyse an Tag +100 an, dass die Rezidivrate nach allogener BSZT durch das Auftreten einer akuten GVHD gesenkt werden könnte. Gleichzeitig zeigte sich eine signifikante Erhöhung der therapieassozierten Mortalität, wenn die akute GVHD die Schweregrade III-IV erreichte.

Bei der Untersuchung des Einflusses der GVHD auf RR und TRM ist jedoch zu beachten, dass es sich bei RR und TRM um zwei konkurrierende Ereignisse handelt. Dem zu Folge können Patienten, die

eine aGVHD entwickeln und nach Tag +100 therapieassoziiert sterben im weiteren Verlauf kein Rezidiv entwickeln. Die Betrachtung des krankheitsfreien Überlebens, bei dem sowohl das Rezidiv als auch der rezidiv- und therapieassoziierte Tod als Ereignisse berücksichtigt werden, liefern in diesem Fall verlässlichere Hinweise.

In einem weiteren Schritt führten wir eine entsprechende Zielpunkt-Analyse für den Einflussfaktor chronische GVHD an Tag 200 nach allogener BSZT durch (cGVHD-Klassifikation nach Shulmann). Patienten, die bis Tag +200 eine cGVHD entwickelten, zeigten eine signifikant niedrigere Rezidivrate und ein signifikant verbessertes krankheitsfreies Überleben im weiteren Posttransplantationsverlauf, im Vergleich zu Patienten, die bis Tag +200 keine cGVHD entwickelten (4-J-RR: 29 % vs. 76 %, $p = 0,0001$; 4-J-DFS: 66 % vs. 24 %, $p = 0,0001$). Auch das geschätzte Gesamtüberleben war für Patienten mit einer chronischen GVHD vor Tag +200 geringfügig besser, jedoch nicht signifikant (4-J-OS: 83 % vs. 64 %, $p = 0,134$). Die therapieassoziierte Mortalität wurde von dem Auftreten einer cGVHD bis Tag + 200 nicht beeinflusst (4-J-TRM: 7 % vs. 3 %, $p = 0,400$). Siehe Abbildung 39.

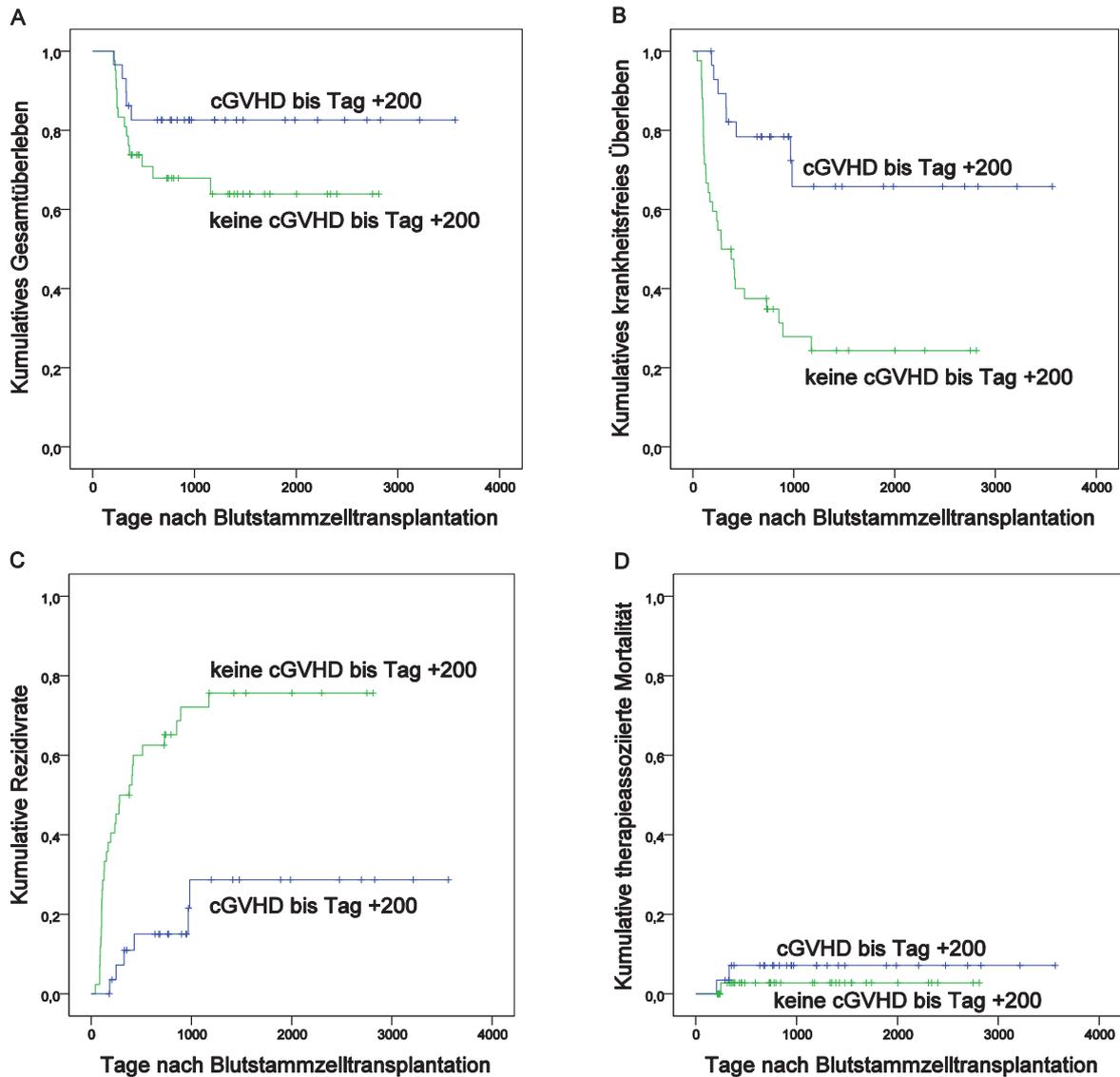


Abbildung 39 (A) Gesamtüberleben ($p = 0,134$), (B) krankheitsfreies Überleben ($p = 0,0001$), (C) Rezidivrate ($p = 0,0001$) und (D) therapieassoziierte Mortalität ($p = 0,400$) von Patienten, die bis Tag + 200 nach Transplantation eine bzw. keine chronische GVHD entwickelten.

Bei dem Vergleich zwischen Patienten mit einer *limited* cGVHD und einer *extensive* cGVHD vor Tag +200 ergaben sich keine Unterschiede im Hinblick auf die Rezidivrate (4-J-RR: 28 % vs. 25 %, $p = 0,719$). Die therapieassoziierte Mortalität war in der Vergleichsgruppe *extensive* cGVHD erhöht (4-J-TRM: 4 % für *limited* vs. 20 % für *extensive*; $p = 0,245$). Dem zu Folge waren das krankheitsfreie, sowie das Gesamtüberleben von Patienten mit einer *extensive* cGVHD vermindert (4-J-DFS: 69 % für *limited* vs. 50 % für *extensive*, $p = 0,275$; 4-J-OS: 88 % für *limited* vs. 60 % für *extensive*; $p = 0,197$). Höchstwahrscheinlich aufgrund der geringen Größe der Vergleichsgruppe „*extensive* cGVHD vor Tag +200“ fielen die Ergebnisse nicht signifikant aus ($n = 24$ für *limited* cGVHD vor Tag +200; $n = 5$ für *extensive* cGVHD vor Tag +200).

Schlussendlich war in unserem Hochrisiko-Kollektiv das Auftreten einer chronischen GVHD zwischen Tag +100 und Tag +200 ein Protektivfaktor im Sinne eines verminderten Rezidivrisikos. Durch eine ausgedehnte chronische GVHD wurde das Risiko eines therapieassoziierten Todes im Vergleich zu einer begrenzten chronischen GVHD leicht, wenn auch nicht signifikant erhöht. Das Rezidivrisiko andererseits wurde durch die ausgedehnte Form der chronischen GVHD nicht weiter gesenkt.

Die Tabelle 46 gibt abschließend einen Überblick über alle Ergebnisse zum Einfluss der GVHD auf die vier Zielvariablen Gesamtüberleben, krankheitsfreies Überleben, Rezidivrate und therapieassoziierte Mortalität.

Tabelle 46 Einfluss der *Graft-versus-Host Disease* auf das Transplantationsergebnis

	Gesamtüberleben (OS)		Krankheitsfreies Überleben (DFS)		Rezidivrate (RR)		Therapieassoziierte Mortalität (TRM)	
	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p	4-J-Rate	p
Entwicklung einer GVHD nach BSZT								
Ja	71 %		53 %		37 %		16 %	
Nein	39 %	0,001	8 %	0,0001	90 %	0,0001	14 %	0,756
Zielpunkt-Analysen								
Entwicklung einer aGVHD bis Tag +100								
Ja	64 %		48 %		43 %		18 %	
Nein	57 %	0,867	29 %	0,205	64 %	0,120	14 %	0,344
Schweregrad der aGVHD vor Tag +100								
Grad I-II	69 %		47 %		48 %		11 %	
Grad III-IV	50 %	0,102	50 %	0,560	14 %	0,235	40 %	0,009
Entwicklung einer cGVHD bis Tag +200								
Ja	83 %		66 %		29 %		7 %	
Nein	64 %	0,134	24 %	0,0001	76 %	0,0001	3 %	0,400
Schweregrad der cGVHD vor Tag +200								
<i>Limited</i>	88 %		69 %		28 %		4 %	
<i>Extensive</i>	60 %	0,197	50 %	0,275	25 %	0,719	20 %	0,245

Im Rahmen der univariaten Analysen wurden die Kaplan-Mayer Kurven von zwei Gruppen mit dem *log rank* Test miteinander verglichen. Ein p-Wert < 0,05 wurde signifikant gewertet. aGVHD = Akute Transplantat-gegen-Wirt Erkrankung (*Acute Graft-versus-Host Disease*), cGVHD = Chronische Transplantat-gegen-Wirt Erkrankung (*Chronic Graft-versus-Host Disease*), BSZT = Blutstammzelltransplantation

4.5 Ergebnisse der multivariaten Analyse

Im Rahmen der multivariaten Analyse wurden mit Hilfe eines Cox-Regressionsmodells Abhängigkeitsstrukturen zwischen den einzelnen Prognosefaktoren untersucht. Die Frage ob es sich bei den univariat signifikant-getesteten Prognosefaktoren um unabhängige Prognosefaktoren handelte, ließ sich somit beantworten. In die multivariaten Analyse konnten nur Variablen mit einem vollständigen Datensatz aufgenommen werden. Sämtliche Prognosefaktoren des Posttransplantationsverlaufes waren daher nicht Teil der multivariaten Analyse. Alle Prognosefaktoren des Prätransplantationsverlaufes, die in der univariaten einen p-Wert von $\leq 0,100$ erzielten, wurden in die multivariaten Modelle aufgenommen.

Im Folgenden werden die Ergebnisse der multivariaten Analyse für die Zielvariablen Gesamtüberleben (OS), krankheitsfreies Überleben (DFS), Rezidivrate (RR), therapieassoziierte Mortalität (TRM) und Inzidenz der chronischen *Graft-versus-Host Disease* (cGVHD) dargestellt.

4.5.1 Unabhängige Prognosefaktoren für das Gesamtüberleben

Unter allen Prognosefaktoren, die in der univariaten Analyse einen signifikanten oder zumindest richtungsweisenden Einfluss auf das Gesamtüberleben hatten, identifizierte die multivariate Analyse vier Prognosefaktoren mit einer zentralen Bedeutung für das Gesamtüberleben nach allogener BSZT in unserem Hochrisiko-Kollektiv: Den Blastenanteil im Knochenmark zum Zeitpunkt der Transplantation, der Stammzelltransplantationsspezifische Komorbiditätsindex (HCT-CI), die Geschlechterkonstellation weiblicher Spender bei männlichem Patient und das Patientenalter. Hierunter erwiesen sich der Blastenanteil im Knochenmark zum Zeitpunkt der Transplantation und der Stammzelltransplantationsspezifische Komorbiditätsindex als unabhängige Prognosefaktoren für das Gesamtüberleben. Patienten mit einem Blastenanteil im Knochenmark von $\geq 6\%$ zum Zeitpunkt der BSZT hatten ein 2,64-fach erhöhtes Risiko im Verlauf nach der Transplantation zu versterben, im Vergleich zu Patienten mit einem Blastenanteil $< 6\%$ (HR: 2,64, 95%-KI: 1,17 - 5,99, $p = 0,020$). Für Patienten mit einem HCT-CI von ≥ 3 Punkten zum Zeitpunkt der Transplantation war das Risiko nach der Transplantation zu versterben um den Faktor 2,02 erhöht (HR: 2,02, 95%-KI: 1,05 - 3,87, $p = 0,034$). Auch alle anderen Geschlechterkonstellationen im Vergleich zu der Konstellation weiblicher Spender bei männlichem Patient, sowie das Patientenalter von ≥ 50 Jahren zum Zeitpunkt der Transplantation waren, der multivariaten Analyse zu Folge, mit einer ungünstigen Prognose assoziiert (HR: 2,53, 95%-KI: 0,99 - 6,47 für Andere Geschlechterkonstellationen vs. Spender w/ Patient m und HR: 1,87, 95%-KI: 0,90 - 3,88 für Patientenalter ≥ 50 vs. < 50 Jahre). Jedoch verfehlten die Ergebnisse

das Signifikanzniveau. Für den Prognosefaktor „Andere Geschlechterkonstellation“ betrug die Irrtumswahrscheinlichkeit 5,3 %, für den Prognosefaktor „Alter“ 9,4 %. Siehe Tabelle 47.

Tabelle 47 Ergebnis der multivariaten Analyse für die Prognosefaktoren des Gesamtüberlebens

Gesamtüberleben (OS)	n	Relatives Risiko	95 % Konfidenzintervall	p
Prozentualer Blastenanteil im KM				
zum Zeitpunkt der BSZT				
< 6 %	31	1,00		
≥ 6 %	66	2,64	1,17 - 5,99	0,020
HCT-CI				
< 3 Punkte	65	1,00		
≥ 3 Punkte	32	2,02	1,05 - 3,87	0,034
Geschlechterkonstellation				
Spender w/ Patient m	24	1,00		
Andere	73	2,53	0,99 - 6,47	0,053
Patientenalter				
< 50 Jahre	43	1,00		
≥ 50 Jahre	54	1,87	0,90 - 3,88	0,094

Für die multivariate Analyse wurde eine Cox-Regressionsanalyse mit einer *stepwise backward* Methode angewandt. Ein p-Wert < 0,05 wurde als signifikant gewertet. KM = Knochenmark, HCT-CI = Blutstammzelltransplantations-spezifischer Komorbiditätsindex (*Hematopoietic Cell Transplantation-specific Comorbidity Index*), BSZT = Blutstammzelltransplantation, w = weiblich, m = männlich

4.5.2 Unabhängige Prognosefaktoren für das krankheitsfreie Überleben

Im Hinblick auf das krankheitsfreie Überleben nach der allogenen BSZT identifizierte die multivariate Analyse folgende therapieabhängigen und krankheitsspezifischen Charakteristika als unabhängige Risikofaktoren für ein vermindertes krankheitsfreies Überleben: Die Applikation von Anti-T-Lymphozyten Globulin (ATG) im Rahmen der Konditionierung, eine ungünstige Zytogenetik klassifiziert nach den MRC-Kriterien und ≥ 5 Chemotherapiezyklen im Rahmen der Vortherapie. Hierunter zeigte die *in vivo* T-Zell Depletion mittels ATG den stärksten Einfluss auf das krankheitsfreie Überleben. Patienten, die im Rahmen der Konditionierung ATG erhielten, hatten ein 2,59-fach erhöhtes Risiko im Verlauf nach der Transplantation ein Rezidiv zu erleiden oder in Folge therapieassoziierter Komplikationen zu versterben (HR: 2,59, 95%-KI: 1,34 - 5,03, p = 0,005). Für Patienten mit einem ungünstigen Karyotyp klassifiziert nach den MRC-Kriterien war das Risiko um den Faktor 1,85 und für Patienten, die vor der BSZT 5 Chemotherapiezyklen oder mehr erhielten, war das Risiko um den Faktor 1,84 erhöht. Darüber hinaus hatten Patienten, die keine komplette Remission vor der Transplantation erreichten (Non-CR) eine schlechtere Prognose im Hinblick auf das krankheitsfreie Überleben als Patienten mit einer kompletten Remission oder Patienten mit einer Transplantation unmittelbar nach der Erstdiagnose der Erkrankung (CR & *First-line* BSZT) (HR: 1,64,

95%-KI: 0,97 - 2,77). Der Vergleich Non-CR vs. *First-line* BSZT & CR verfehlte jedoch knapp das Signifikanzniveau ($p = 0,066$). Zum Vergleich siehe Tabelle 48.

Tabelle 48 Ergebnis der multivariaten Analyse für die Prognosefaktoren des krankheitsfreien Überlebens

Krankheitsfreies Überleben (DFS)	n	Relatives Risiko	95 % Konfidenzintervall	p
ATG				
Nein	31	1,00		
Ja	73	2,59	1,34 - 5,03	0,005
Zytogenetik (MRC-Kriterien)				
Andere	76	1,00		
Ungünstig	28	1,85	1,08 - 3,19	0,026
Anzahl der Chemotherapiezyklen im Rahmen der Vortherapie				
< 5 Zyklen	81	1,00		
≥ 5 Zyklen	23	1,84	1,04 - 3,28	0,037
Therapie- und Remissionsstatus zum Zeitpunkt der BSZT				
<i>First-line</i> BSZT & CR	52	1,00		
Non-CR	52	1,64	0,97 - 2,77	0,066

Für die multivariate Analyse wurde eine Cox-Regressionsanalyse mit einer *stepwise backward* Methode angewandt. Ein p -Wert < 0,05 wurde als signifikant gewertet. ATG = Anti-Human-T-Lymphozyten Immunglobulin (ATG-Fresenius®/Grafalon®), CR = Komplette Remission, Non-CR = Keine komplette Remission, BSZT = Blutstammzelltransplantation

4.5.3 Unabhängige Prognosefaktoren für die Rezidivrate

Die multivariate Analyse der Prognosefaktoren für die Rezidivrate nach BSZT führte zu folgenden vier Kernfaktoren: Der Transplantation mit einem HLA-*mismatched* Spender, dem Blastenanteil im Knochenmark von ≥ 20 % im Knochenmark zum Zeitpunkt der Transplantation, die Applikation von Anti-T-Lymphozyten Globulin im Rahmen der Konditionierung und die Transplantation ohne zuvor eine komplette Remission erreicht zu haben.

Patienten, die in einem der HLA-Merkmale auf der Allel- oder der Antigenebene nicht mit ihrem Spender übereinstimmten (*mismatched*), hatten ein 2,66-fach erhöhtes Risiko nach der Transplantation zu rezidivieren (HR: 2,66, 95 %-KI: 1,33 - 5,32). Für Patienten mit einem Blastenanteil von 20 % war das Rezidivrisiko um den Faktor 2,01 erhöht (HR = 2,01, 95 %-KI: 1,04 - 3,88). Patienten, die ATG im Rahmen der Konditionierung erhielten, hatten ein 2,19-mal so hohes Rezidivrisiko wie Patienten, die ohne eine Behandlung mit ATG transplantiert wurden (HR: 2,19, 95%-KI: 0,98 - 4,86). Auch die BSZT ohne eine komplette Remission durch eine Vortherapie erreicht zu haben, war mit einem Anstieg des Rezidivrisikos assoziiert (HR: 1,95, 95%-KI: 0,97 - 3,91). Während die multivariaten Ergebnisse zum Einfluss der HLA-Kompatibilität und dem Blastenanteil im Knochenmark signifikant ausfielen, erzielten die Ergebnisse zum Einfluss der ATG-Gabe und des Therapie-/Remissionsstatus zum Zeitpunkt der Transplantation nur marginale Signifikanz. Siehe Tabelle 49.

Tabelle 49 Ergebnis der multivariaten Analyse für die Prognosefaktoren der Rezidivrate

Rezidivrate (RR)	n	Relatives Risiko	95 % Konfidenzintervall	p
HLA-Kompatibilität				
HLA-identisch/-kompatibel	89	1,00		
HLA- <i>mismatch</i>	15	2,66	1,33 - 5,32	0,006
Prozentualer Blastenanteil im KM zum Zeitpunkt der BSZT				
< 20 %	66	1,00		
≥ 20 %	38	2,01	1,04 - 3,88	0,038
ATG				
Nein	31	1,00		
Ja	73	2,19	0,98 - 4,86	0,055
Therapie- und Remissionsstatus zum Zeitpunkt der BSZT				
<i>First-line</i> BSZT & CR	52	1,00		
Non-CR	52	1,95	0,97 - 3,91	0,060

Für die multivarite Analyse wurde eine Cox-Regressionsanalyse mit einer *stepwise backward* Methode angewandt. Ein p-Wert < 0,05 wurde als signifikant gewertet. HLA = Humanes Leukozyten-Antigen, KM = Knochenmark, ATG = Anti-Human-T-Lymphozyten Immunglobulin (ATG-Fresenius®/Grafalon®), CR = Komplette Remission, Non-CR = Keine komplette Remission, BSZT = Blutstammzelltransplantation

4.5.4 Unabhängige Prognosefaktoren für die therapieassoziierte Mortalität

Im Hinblick auf die therapieassoziierte Mortalität waren das Patientenalter zum Zeitpunkt der Transplantation und ein ungünstiger Karyotyp klassifiziert nach den MRC-Kriterien die alleinigen unabhängigen Prognosefaktoren. Ein hohes Patientenalter war der bedeutendste Risikofaktor für einen therapieassoziierten Tod nach der Konditionierung mit FLAMSA-Melphalan und der anschließenden BSZT. Patienten, die zum Zeitpunkt der allogenen BSZT 50 Jahre oder älter waren, hatten ein 5,74-fach erhöhtes Risiko im Verlauf nach Transplantation an therapieassoziierten Komplikationen zu versterben (HR: 5,74, 95 %-KI: 1,30 - 25,28, p = 0,021). Für Patienten mit einem ungünstigen Karyotyp klassifiziert nach den MRC-Kriterien war das Risiko eines therapieassoziierten Todes nach der Transplantation um den Faktor 3,09 erhöht (HR = 3,09, 95%-KI: 1,15 - 8,24, p = 0,025). Zum Vergleich siehe Tabelle 50.

Tabelle 50 Ergebnis der multivariaten Analyse für die Prognosefaktoren der therapieassoziierten Mortalität

Therapieassoziierte Mortalität (TRM)	n	Relatives Risiko	95 % Konfidenzintervall	p
Patientenalter				
< 50 Jahre	43	1,00		
≥ 50 Jahre	54	5,74	1,30 - 25,28	0,021
Zytogenetik (MRC-Kriterien)				
Andere	76	1,00		
Ungünstig	28	3,09	1,15 - 8,24	0,025

Für die multivariate Analyse wurde eine Cox-Regressionsanalyse mit einer *stepwise backward* Methode angewandt. Ein p-Wert < 0,05 wurde als signifikant gewertet. MRC = Medical Research Council des United Kingdom

4.5.5 Unabhängige Prognosefaktoren für die Inzidenz der chronischen Graft-versus-Host Disease

In der univariaten Analyse wurden nur drei signifikante Prognosefaktoren für das Auftreten einer chronischen *Graft-versus-Host Disease* (cGVHD) identifiziert: Das transplantatabhängige Charakteristikum “≥ 5 x 10⁶ CD34+ Zellen/kg KG im Transplantat”, das spenderabhängige Charakteristikum “Transplantation mit einem Fremdspender” und das therapieabhängige Charakteristikum “ATG-Gabe im Rahmen der Konditionierung”. In der multivariaten Analyse erwies sich allein die in vivo T-Zell Depletion mit ATG im Rahmen der Konditionierung als ein unabhängiger Prognosefaktor für die Inzidenz der cGVHD. Patienten, die im Rahmen der Konditionierung mit FLAMSA-Mel ATG erhielten, hatten ein deutlich vermindertes Risiko eine chronische GVHD im Verlauf nach der Transplantation zu entwickeln (HR: 0,029, 95%-KI: 0,15 - 0,53, p = 0,0001). Siehe Tabelle 51.

Tabelle 51 Ergebnis der multivariaten Analyse für die Prognosefaktoren der chronischen Graft-versus-Host Disease

Inzidenz der chronischen Graft-versus-Host Disease (cGVHD)	n	Relatives Risiko	95 % Konfidenzintervall	p
ATG				
Nein	31	1,00		
Ja	73	0,29	0,15 - 0,53	0,0001
Anzahl der CD34+ Zellen im Transplantat				
< 5 x 10 ⁶ /µl	19	1,00		
≥ 5 x 10 ⁶ /µl	86	2,35	0,84 - 6,63	0,106

Für die multivariate Analyse wurde eine Cox-Regressionsanalyse mit einer *stepwise backward* Methode angewandt. Ein p-Wert < 0,05 wurde als signifikant gewertet. ATG = Anti-Human-T-Lymphozyten Immunglobulin (ATG-Fresenius®/Grafalon®)

5 Diskussion

5.1 Diskussion der sequentiellen Konditionierung mit FLAMSA-Melphalan

Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Neoplasien haben eine sehr schlechte Prognose. Unter alleiniger Behandlung mit einer intensiven Kombinationschemotherapie, Ara-C mit inbegriffen, erreichen beispielsweise AML-Patienten nur in etwa 40-80 % eine komplette Remission oder die Dauer der Remission beträgt nur 12-45 Monate. (345–351) Eine allogene Blutstammzelltransplantation stellt für Hochrisiko-Patienten oftmals die einzige Option dar, um langfristig krankheitsfrei zu bleiben und bestenfalls eine Heilung zu erzielen. (352,353) Um das Transplantationsergebnis, insbesondere bei Hochrisiko-Patienten, stetig zu verbessern, werden neue Transplantationsstrategien ins Leben gerufen. Eine neue Transplantationsstrategie, die erstmals von der Münchener Arbeitsgruppe um Professor Kolb beschrieben wurde (295,298), ist die sequentielle Konditionierung gefolgt von einer frühen allogenen BSZT. In der Klinik für Hämatologie, Onkologie und Klinische Immunologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf wurden Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Neoplasien mit der neuen Transplantationsstrategie einer sequenziellen Konditionierung und einer frühen BSZT behandelt. Der Theorie zu Folge, soll die allogene BSZT so früh wie möglich nach der Chemotherapie, noch in der Phase der Knochenmarksaplasie, durchgeführt werden. Auf diesem Wege soll die Selektion chemoresistenter Leukämiezellen, sowie das kumulative Infektionsrisiko vermindert werden. Leukämiezellen, die die sequenzielle Chemotherapie überleben, könnten bei einer frühen Transplantation unmittelbar durch die Immunzellen im Transplantat eliminiert werden (sog. GVL-Effekt). Gemäß dem Münchener Protokoll, wurde auch in Düsseldorf eine Chemotherapie-Kombination bestehend aus Fludarabin, Amsacrin und Ara-C (FLAMSA) eingesetzt. An Stelle der bei Kolb et al. beschriebenen, eher immunsuppressiv wirkenden Kombination aus Cyclophosphamid und 4 Gray Ganzkörperbestrahlung (*Total Body Irradiation*, TBI), wurde in Düsseldorf Melphalan in einer altersadaptierter Dosierung zwecks Konditionierung eingesetzt (FLAMSA-Mel: 200 mg/m² KO für Patienten jünger als 50 Jahre, 150 mg/m² KO für Patienten zwischen 50 und 60 Jahre und 100 mg/m² KO für Patienten älter als 60 Jahre). Während das Münchener Protokoll zu den intensitätsreduzierten Konditionierungen (*Reduced-Intensity Conditioning*, RIC) zählt, rangiert das Düsseldorfer Protokoll aufgrund der altersadaptierten Melphalan-Dosierung per Definition zwischen einer myeloablativen (200 mg/m² KO Melpahln) und einer intensitätsreduzierten Konditionierung (≤ 140 mg/m² KO).

Ziel dieser Dissertation war es zum einen die Effektivität des Düsseldorfer FLAMSA-Mel Protokolls zu untersuchen. Zum anderen wollten wir in unserem Patientenkollektiv potentielle Risikofaktoren bzw. Protektivfaktoren des Prä- und Posttransplantationsverlaufes aufdecken.

Die vorliegenden Daten zeigen, dass das Düsseldorfer FLAMSA-Mel Protokoll ein effektiver Therapieansatz im Kampf gegen aggressive myeloische Neoplasien ist. Zudem konnten wir zahlreiche Einflussfaktoren auf die Rezidivrate, das krankheitsfreie Überleben und das Gesamtüberleben identifizieren. Diese Einflussfaktoren bilden die Grundlage weiterer Forschungsprojekte und können in Zukunft bei der Therapieplanung und bei therapeutischen Entscheidungen im Verlauf nach der allogenen BSZT einbezogen werden.

Die Effektivität des Düsseldorfer FLAMSA-Mel Protokolls lässt sich nur indirekt mit dem Münchener FLAMSA-RIC-Protokoll vergleichen. Gemäß den im Jahr 2005 und 2006 veröffentlichten Forschungsergebnissen der Arbeitsgruppe um Professor Kolb betragen die geschätzten Gesamtüberlebensraten nach zwei Jahren 40% - 42% und nach vier Jahren 32 %. Im Vergleich hierzu zeigten Patienten, die mit dem Düsseldorfer Protokoll behandelt wurden, eine Gesamtüberlebensrate von 62 % und 59 % nach zwei und nach vier Jahren. In Anbetracht des krankheitsfreien Überlebens verringert sich der Unterschied zwischen den beiden Protokollen jedoch (4-J-DFS: 44 % bei FLAMSA-Mel vs. 39-40 % bei FLAMSA-RIC). In dem Münchener Patientenkollektiv waren das Gesamtüberleben und das krankheitsfreie Überleben nahezu identisch. Somit starben Patienten, die mit FLAMSA-RIC therapiert wurden, in der Regel im Falle eines Rezidivs nach der BSZT auch an den Folgen dieses Rezidivs. In Düsseldorf konnte hingegen ein Großteil der rezidierten Patienten erneut erfolgreich therapiert werden. Bei einer Rezidivrate von 44 % nach zwei Jahren betrug die rezidivassoziierte Mortalität nur 26 %. Das Gesamtüberleben und das krankheitsfreie Überleben divergieren daher deutlich in unserem Patientenkollektiv: Nach 4 Jahren betrug der Unterschied 23 %. Zum einen spricht dieser Unterschied für die Effektivität der angewandten Rezidivtherapie. Insbesondere die Kombination aus DLI-Gaben und Azacitidin (5-Aza) wurde zwecks Rezidivtherapie nach der allogenen BSZT häufig angewandt. Von 18 Patienten, die mit DLI-Gaben und 5-Aza therapiert wurden, erreichten 9 Patienten erneut eine komplette Remission, 3 Patienten waren zum Zeitpunkt der letzten Nachbeobachtung noch unter Rezidivtherapie. Diese Beobachtungen spiegeln sich in den 2013 veröffentlichten Ergebnissen der AZARELA-Studie wieder. Hier sprachen insgesamt 30 % der rezidierten Patienten auf die Kombination aus DLI-Gaben und 5-Aza an, worunter 23 % eine komplette Remission und 7 % eine partielle Remission erreichten. (354) Des Weiteren lässt der Erfolg der Rezidivtherapie indirekt auch Rückschlüsse auf das FLAMSA-Mel Protokoll zu. Eine erneute Chemotherapie kann nur dann zum Erfolg führen, wenn die kumulative Organtoxizität der Behandlungen deren Nutzen nicht übersteigt. Nach der Behandlung mit FLAMSA-Mel hingegen, wurde die Toxizität der Rezidivtherapie zumeist gut toleriert. Diese Vermutung wird

auch durch die insgesamt niedrige Rate therapieassoziierter Todesfälle untermauert. Die geschätzte therapieassoziierte Mortalität betrug in dem Düsseldorfer Kollektiv 15 % nach 2 Jahren. Interessanterweise entwickelten in unserem Studienkollektiv viele Patienten eine *limited* chronische GVHD nach der allogenen BSZT (35 % bei FLAMSA-Mel vs. 26 % bei FLAMSA-RIC). Die höhere cGVHD-Inzidenz in unserem Patientenkollektiv spiegelte sich letztlich jedoch nicht in der therapieassoziierten Mortalität wider.

Tabelle 52 fasst die Studiencharakteristika der Düsseldorfer FLAMSA-Mel Studie und der Münchener FLAMSA-RIC Studien zusammen. Die Ergebnisse der Düsseldorfer und Münchener-Arbeitsgruppe werden im Hinblick auf die vier Zielgrößen in Tabelle 53 und im Hinblick auf die Inzidenz der GVHD in Tabelle 54 dargestellt.

Tabelle 52 Charakteristika des FLAMSA-Mel und des FLAMSA-RIC Studienkollektivs

Studie	N	Diagnose	MPA	Therapie	Risiko	MND
FLAMSA-Mel Uniklinik Düsseldorf	105	AML MDS MPN MDS/MPN	52 Jahre (20-68)	FLAMSA-Mel, DLI bei Rezidiv, ggf. im Verlauf bei ausbleibender GVHD	Ungünstige Zytogenetik, frühes Rezidiv, ≥ 2. Rezidiv, primäres Induktionsversagen, refraktäre Erkrankung	1340 T (187-3564) 44,4 M (6,2-118,8) 3,7 J (0,5-9,8)
FLAMSA-RIC Schmid et al. 2005 (298)	75	AML MDS	52 Jahre (18-70)	FLAMSA-RIC, DLI an Tag +120 bei ausbleibender GVHD	Ungünstige Zytogenetik, refraktäre oder progressive Erkrankung, frühes Rezidiv, primäres Induktionsversagen	945 T (408-1428) 31,5 M (13,6-47,6) 2,6 J (1,1-4,0)
FLAMSA-RIC Schmid et al. 2006 (295)	103	AML	52 Jahre (19- 68)	FLAMSA-RIC, DLI an Tag +120 bei ausbleibender GVHD	Primäres Induktionsversagen, frühes-, refraktäres oder sekundäres Rezidiv	750 T (90-2040) 25 M (3,0-66,8) 2,1 J (0,25-5,58)

MPA = Medianes Patientenalter, MND = Mediane Nachbeobachtungsdauer, AML = Akute myeloische Leukämie, MDS = Myelodysplastisches Syndrom, MPN = Myeloproliferative Neoplasien, MDS/MPN = Myelodysplastische/Myeloproliferative Neoplasien.

Tabelle 53 Transplantationsergebnis nach FLAMSA-Mel und nach FLAMSA-RIC

	Gesamtüberleben (OS) & MS	Krankheitsfreies Überleben (DFS)	Rezidivrate (RR), RRM & MT-R	Therapieassoziierte Mortalität (TRM)
FLAMSA-Mel	66 % nach 1 J	55 % nach 1 J	RR: 34 % nach 1 J	10 % nach 100 T
Uniklinik	62 % nach 2 J	47 % nach 2 J	44 % nach 2 J	15 % nach 1 J
Düsseldorf	62 % nach 3 J	40 % nach 3 J	53 % nach 3 J	15 % nach 2 J
	59 % nach 4 & 5 J	36 % nach 4 & 5 J	55 % nach 4 & 5 J	15 % nach 3 J
			RRM: 22 % nach 1 J	18 % nach 4 & 5 J
			26 % nach 2 J	
			26 % nach 3 J	
			28 % nach 4 & 5 J	
			MT-R: 170 T	
			(41 - 1175 T)	
FLAMSA-RIC	42 % nach 2 J	40 % nach 2 J	RRM: 23 % nach 2 J	20 % nach 100 T
Schmid et al. 2005			MT-R: 149 T	33 % nach 1 & 2 J
			(65 - 770 T)	
FLAMSA-RIC	54 % nach 1 J	50 % nach 1 J	RRM: 29 % nach 1 J	11 % nach 100 T
Schmid et al. 2006	40 % nach 2 J	39 % nach 2 J	39 % nach 2 J	17 % nach 1 J
	32 % nach 4 J	32 % nach 4 J	MT-R: 120 T	22 % nach 2 J
	MS: 16.4 M		(39-798 T)	
	(11-21,5 M)			

MS = Mediane Überlebenszeit (*Median Survival*), RRM = Rezidivassoziierte Mortalität (*Relapse Related Mortality*), MT-R = Mediane Zeit bis zum Rezidiv (*Median Time to Relapse*), T = Tag/Tage; J = Jahr/Jahre

Tabelle 54 Graft-versus-Host Disease nach FLAMSA-Mel und FLAMSA-RIC

Studie	Inzidenz und Schwere der akuten GVHD	Inzidenz und Schwere der chronischen GVHD
FLAMSA-Mel	Kumulative Inzidenz:	Kumulative Inzidenz:
Uniklinik	42 % nach 100 Tagen	53 % nach 3 Jahren
Düsseldorf	- Grad I-II: 32 %	- <i>limited</i> : 44 %
	- Grad III-IV: 10 %	- <i>extensive</i> : 8 %
	Inzidenz:	Inzidenz:
	52 (50 %)	44 (42 %)
	- Grad I-II: 39 (37 %)	- <i>limited</i> : 37 (35 %)
	- Grad II-IV: 13 (12 %)	- <i>extensive</i> : 7 (7 %)
	MT-aGVHD:	MT-cGVHD:
	47 Tage (5-180 T)	140 Tage (74-791 T)
FLAMSA-RIC	Inzidenz:	Inzidenz:
Schmid et al. 2005 (298)	46 (61%)	26 (45 %)
	- Grad I-II: 19 (25 %)	- <i>limited</i> : 15 (26 %)
	- Grad III-IV: 18 (24 %)	- <i>extensive</i> : 11 (19 %)
	MT-aGVHD: 17 Tage (7-51 T)	MT-cGVHD: 211 Tage (101-673 T)
FLAMSA-RIC	Inzidenz:	Inzidenz:
Schmid et al. 2006 (295)	63 (63 %)	24 (33 %)
	- Grad I-II: 48 (48 %)	- <i>limited</i> : 19 (26 %)
	- Grad III-IV: 15 (15 %)	- <i>extensive</i> : 5 (4 %)
	MT-aGVHD: 19 Tage (7-62 T)	MT-cGVHD: 181 Tage (91-546 T)

MT-aGVHD = Mediane Zeit bis zum Auftreten der akuten *Graft-versus-Host Disease*, MT-cGVHD = Mediane Zeit bis zum Auftreten der chronische *Graft-versus-Host Disease*

Auch im Vergleich zu anderen Therapie-Protokollen mit MAC, RIC oder MIC lieferte das Düsseldorfer FLAMSA-Mel Protokoll zufriedenstellende Ergebnisse (*Standard-dose Myeloablative Conditioning*, MAC; *Reduced-Intensity Conditioning*, RIC; *Minimal-Intensity Conditioning*, MIC).

Der Vorteil von Therapie-Protokollen mit standard-dosierten myeloablativen Konditionierungen (*Standard-dose Myeloablative Conditioning*, MAC) ist ihre gute anti-Leukämische Aktivität. Da die anti-Leukämische Aktivität bzw. die Tumorkontrolle bei MAC-Protokollen vordergründig durch eine hohe Dosierung der Konditionierung erreicht wird, sind die Toxizität dieser Protokolle und folglich auch die therapieassoziierte Mortalität je nach Fitness und Widerstandskraft des Patienten verhältnismäßig hoch. Beispielsweise wurden in zwei großen *Multi-Center* Studien der EBMT (*European Society for Blood and Marrow Transplantation*) myeloablative Konditionierungs-Protokolle im Hinblick auf ihre Toxizität und ihr kuratives Potential beleuchtet. Die erste Studie aus dem Jahr 2005 betrachtete MAC-Protokolle, deren Grundlage die Kombination aus Fludarabin und Ganzkörper-Bestrahlung (> 10 Gray TBI) oder Busulphan (> 8 mg/kg KG) bildete (Aoudjhane et al., n = 407). (235) Die darauffolgende Studie aus dem Jahr 2006, untersuchte MAC-Protokolle, die auf der Kombination von Cyclophosphamid mit hochdosierter Ganzkörper-Bestrahlung (\geq 8 Gray TBI) beziehungsweise hochdosiertem Busulphan (16 mg/kg KG) basierten (Martino et al., n = 621). (355) In beiden Studien lag das geschätzte Gesamtüberleben nach der myeloablativen Konditionierung und der allogenen BSZT mit 45-46 % unter dem des FLAMSA-Mel Protokolls (FLAMSA-Mel: 62 % nach 2 und 3 Jahren). Im Hinblick auf das krankheitsfreie Überleben waren unsere Ergebnisse mit denen der EBMT-Studien vergleichbar (41-44 % vs. 47 % für FLAMSA-Mel). Die Rezidivrate war bei den myeloablativen Konditionierungs-Protokollen der EBMT-Studien niedriger (24-27 % vs. 44 % für FLAMSA-Mel), die therapieassoziierte Mortalität hingegen lag deutlich höher (32 % vs. 15 % für FLAMSA-Mel). Man muss jedoch beachten, dass es sich in beiden EBMT-Studien nicht um reine Hochrisiko-Kollektive handelte (Anteil an fortgeschrittenen Erkrankungen in den MAC-Gruppen: 27 % für die EBMT-Studie 2005, 28 % für die EBMT-Studie 2006; Anteil an Patienten mit ungünstiger Zytogenetik in den MAC-Gruppen: 12 % für die EBMT-Studie 2005, 59 % für die EBMT-Studie 2006). Zudem wurde unserer Rezidivdefinition zu Folge ein Rezidiv auch dann diagnostiziert, wenn Patienten mit fehlenden zytogenetischen oder molekulargenetischen Verlaufsmarkern einen Abfall des Spenderchimärismus auf Werte \leq 80 % zeigten. In diesen Fällen wurde eine Rezidivtherapie mit beispielsweise Spenderlymphozyten Infusionen (*Donor Lymphocyte Infusions*, DLIs) oder einer Kombination aus DLIs und Chemotherapie frühzeitig eingeleitet. In diesem Licht betrachtet, relativiert sich die verhältnismäßig hohe Rezidivrate in unserem Patientenkollektiv.

Protokolle mit Konditionierungen reduzierter Intensität (*Reduced-Intensity Conditioning*, RIC) weisen im Vergleich zu MAC-Protokollen eine niedrigere Toxizität auf, wodurch sie eine allogene BSZT als kurative Therapieoption hämatologischer Neoplasien auch für ältere und komorbide Patienten

zugänglich machen. Die niedrigere Toxizität von RIC-Protokollen wird einerseits durch eine niedrigere Dosierungen der zytotoxischen Medikamente und andererseits durch eine dosisunabhängige Verstärkung der Chemotherapie, beispielsweise durch eine sequenzielle Applikation, erreicht (siehe Münchener FLAMSA-Protokoll). Neben dem Münchener FLAMSA-Protokoll, existieren noch zahlreiche weitere RIC-Protokolle, die Fludarabin und Melpahalan im Rahmen der Konditionierung erfolgreich einsetzen. Die retrospektiven Studien von De Lima et al. und Tauro et al. sollen hier exemplarisch genannt werden. (356,357) Beide Studien untersuchen das Transplantationsergebnis von Patienten mit Hochrisiko-AML und MDS nach RIC und anschließender BSZT.

Im Vergleich zu der intensitätsreduzierten Konditionierung allein mit Fludarabin und Melphalan (De Lima et al., 2004) lieferte das FLAMSA-Mel Protokoll nach 3 Jahren folgende Ergebnisse: Sowohl das geschätzte krankheitsfreie wie auch das Gesamtüberleben waren in unserem Studienkollektiv verlängert (40 % und 62 % für FLAMSA-Mel vs. 32 % und 35 % für FM). Insbesondere die therapieassoziierte Mortalität war nach der Behandlung mit der FM-Konditionierung vergleichsweise hoch (26 % nach 100 Tagen und 39 % nach 3 Jahren für FM vs. 10 % nach 100 Tagen und 15 % nach 3 Jahren für FLAMSA-Mel). Mit 19 % vs. 12 % nach 100 Tagen traten unter FM etwas häufiger schwere Fälle einer akuten GVHD (Grad III-IV) auf. Dies könnte eine Erklärung für die hohe therapieassoziierte Mortalität unter der FM-RIC sein. Die Inzidenz der chronischen GVHD insgesamt war unter der FM- und der FLAMSA-Mel Konditionierung jedoch ähnlich (39 % für FM vs. 42 % für FLAMSA-Mel), wobei in der Studie von De Lima et al. nicht weiter zwischen limited und extensive cGVHD differenziert wurde. (356)

In der *Multi-Center* Studie von Tauro et al. wurde die intensitätsreduzierte Konditionierung mit Fludarabin und Melphalan durch eine in vivo T-Zell Depletion mit dem monoklonalen T- und B-Zell-Antikörper Alemtuzumab (AL) ergänzt (FM/AL). Bei dem Vergleich zwischen FM-RIC (De Lima et al.) (356) und FM/AL-RIC (Tauro et al.) (357) fällt auf, dass die Inzidenz der GVHD und die therapieassoziierte Mortalität unter dem ergänzenden Einsatz von Alemtuzumab deutlich gesunken war (FM/AL: 28 % aGVHD, 11 % cGVHD; TRM: 9 % nach 100 Tagen und 19 % nach 1 Jahr). Interessanterweise zeigte sich andererseits ein leichter Anstieg der Rezidivrate unter FM/Alemtuzumab (Rezidiv-Inzidenz: 36 % für FM/AL vs. kumulative 3-Jahres-Rezidivrate: 30 % für FM). (356,357) Das Rezidiv nach FM/AL-Konditionierung war mit 59 % die häufigste Todesursache in dem Hochrisiko-Kollektiv. Insbesondere bei Patienten mit refraktärer oder rezidivierter AML beobachteten Tauro et al. eine hohe Rezidivrate und dem zu Folge ein sehr geringes krankheitsfreies Überleben (3-Jahres-DFS 20 %). Auch in unserem Hochrisiko-Kollektiv wurde eine in vivo T-Zell Depletion im Rahmen der Konditionierung eingesetzt, jedoch mit Anti-T-Lymphozyten Globulin (ATG) und nur bei ausgewählten Patienten mit einem Fremdspender und/oder einem *mismatched* Spender. Demzufolge lag die Inzidenz der GVHD, insbesondere der *limited* cGVHD, in unserem Studienkollektiv deutlich höher als

in dem FM/AL-Kollektiv, was jedoch keine nennenswerte Erhöhung der therapieassoziierten Mortalität mit sich führte (Inzidenz der *limited* cGVHD: 35 % vs. 8 %; TRM nach 100 Tagen: 10 % vs. 9 %). Bei in Alter und Risiko vergleichbaren Studienkollektiven erreichte unsere Konditionierung mit FLAMSA-Mel ein ähnliches krankheitsfreies Überleben, jedoch ein deutlich besseres Gesamtüberleben als die Konditionierung mit FM/AL (40 % DFS und 62 % OS nach 3 Jahren für FLAMSA-Mel vs. 37 % DFS und 41 % OS nach 3 Jahren für FM/AL). (357)

Neben der Arbeitsgruppe aus Großbritannien um Tauro et al., beleuchtete auch eine *Multi-Center* Studie aus den USA das Transplantationsergebnis nach FM/Alemtuzumab-RIC (Van Besien et al. 2009). (358) In dieser Studie wurde das FM/AL-Studienkollektiv einem älteren Kollektiv gegenübergestellt, welches allein mit Fludarabin und Melphalan konditioniert wurde (Oran et al. 2007). (359) Im Vergleich zu der FM-RIC Gruppe wies die FM/AL-RIC Gruppe eine signifikant niedrigere GVHD-Inzidenz auf (2-J-aGVHD Grad II-IV: 58 % vs. 23 %, $p < 0,01$; 2-J-aGVHD Grad III-IV: 17 % vs. 9 %, $p = 0,08$; 2-J-cGVHD: 78 % vs. 16 %, $p < 0,01$). Das Gesamtüberleben und das krankheitsfreie Überleben waren wiederum in dem FM-Kollektiv geringfügig besser und die Rezidivrate etwas niedriger, jedoch erreichten die Ergebnisse keine statistische Signifikanz (FM/AL vs. FM: 41 % vs. 46 %, $p = 0,92$ für 2-J-OS; 33 % vs. 36 %, $p = 0,95$ für 2-J-DFS; 24 % vs. 20 %, $p = 0,24$ für 1-J-RR). (358,359) Bei der Interpretation dieser Studie muss bedacht werden, dass die Ergebnisse möglicherweise durch Differenzen in der Häufigkeitsverteilung bedeutender Merkmale beeinflusst wurden. So fanden sich in dem FM-Kollektiv signifikant mehr Patienten, die eine niedrigere Melphalan-Dosis im Rahmen der Konditionierung erhalten hatten (100 mg/m² KO Melphalan: 22 % vs. 0 %), sowie mehr Patienten mit einem hohen Komorbiditätsindex (HCT-CI ≥ 3 : 53 % vs. 36 %). Ein relevanter Anteil an Patienten (34 %) in der FM-Gruppe erhielt ebenfalls eine in vivo T-Zell Depletion, jedoch nicht mit Alemtuzumab sondern mittels ATG-T. Den Autoren zu Folge kann die Tatsache, dass das FM-Kollektiv mehrere Jahre vor dem FM/AL-Kollektiv transplantiert wurde (1997-2003 vs. 2002-2007), ebenfalls das Transplantationsergebnis, insbesondere die Inzidenz der GVHD, beeinflusst haben. Die Vergleichbarkeit der US-amerikanischen *Multi-Center* Studie zu unserer Studie wird dahingehend eingeschränkt, dass es sich bei den US-Kollektiven nicht um reine Hochrisiko-Kollektive handelte. Zudem wurden, anders als in unserer Studie, Spenderlymphozyten Infusionen (DLIs) nicht bereits bei fallendem oder gemischtem Spenderchimärismus appliziert. (358)

Auch eine Studie der Universität Freiburg um Marks et al. (360) aus dem Jahr 2008 beleuchtete eine Konditionierung mit reduzierter Intensität. Die klinische Phase-2-Studie untersuchte die Konditionierung mit 150 mg/m² KO Fludarabin, 300-400 mg/m² KO 1,3-Bis(2-Chloroethyl)-1-Nitrosourea (BCNU, Carmustin) und 110-150 mg/m² KO Melphalan (FBM) an 133 Patienten mit myeloischen, lymphatischen Neoplasien und soliden Tumoren. Aufgrund einer vergleichsweise geringen Rezidivrate (5-J-RR: 20 %) bei moderater Toxizität (5-J-TRM: 34 %) nach FBM führten Marks

et al. für die Konditionierung mit FBM den Begriff eines Toxizitäts-reduzierten Regimes ein, welches die myelosuppressiven Eigenschaften einer Standard-dosierten Konditionierung und die geringe Organtoxizität einer intensitätsreduzierten Konditionierung miteinander vereinen. Betrachteten Marks et al. eine MDS/AML-Subgruppe, die im Hinblick auf das Risikoprofil dem Düsseldorfer Studienkollektiv ähnelte (n = 81, darunter 61 aktive Erkrankungen zum Zeitpunkt der Transplantation), zeigte sich auch hier eine vergleichsweise niedrige Rezidivrate nach 5 Jahren (5-J-RR: 22 % für FBM vs. 55 % für FLAMSA-Mel). Im Unterschied zu Marks et al. wurde in unserer Studie die Standard-Definition eines Rezidivs dahin gehend erweitert, dass bereits ein Abfall des Spenderchimärismus unter 80 % als Krankheitsrezidiv anerkannt wurde, wenn keine spezifischen molekularen oder zytogenetischen Marker zur Detektion zur Verfügung standen. Diese Erweiterung der Standard-Definition könnte die vergleichsweise hohe Rezidivrate in unserem Kollektiv teilweise erklären. Des Weiteren wurden auch in dem Freiburger Kollektiv Patienten mit einem Fremdspender mit ATG behandelt. Wie viele Patienten in der MDS/AML-Subgruppe ATG erhalten hatten, in welcher Dosierung und ob es sich bei diesen Patienten um Hochrisiko-Erkrankungen handelte bleibt jedoch unklar. In unserem Hochrisiko-Kollektiv steht die hochdosierte Gabe von ATG (60 mg/kg KG) im Verdacht, ein Rezidiv nach der allogenen BSZT begünstigt zu haben (siehe Diskussion der in vivo T-Zell Depletion auf Seite 175). Ein niedriger Anteil an ATG-Applikationen in der Freiburger AML/MDS-Subgruppe könnte demnach zu der geringen Rezidivrate beigetragen haben. Die therapieassoziierte Mortalität war wiederum nach FLAMSA-Mel niedriger im Vergleich zu FBM, was auf eine sehr geringe Toxizität des Düsseldorfer Regimes schließen lässt (1-J-TRM: 26 % für FBM vs. 15 % für FLAMSA-Mel; Infekt-assoziierte Todesfälle: 23 % nach FBM vs. 27 % nach FLAMSA-Mel). Trotz der vergleichsweise hohen Rezidivrate in unserem Hochrisiko-Kollektiv war das Gesamtüberleben nach der Konditionierung mit FLAMSA-Mel letztendlich besser im Vergleich zu der MDS/AML-Subgruppe nach FBM-Konditionierung (5-J-OS: 45 % für FBM vs. 59 % für FLAMSA-Mel). (360) Ein ähnliches Transplantationsergebnis nach einer FBM-Konditionierung wie Marks et al. (360) wurde kürzlich in einer retrospektiven Studie der Universität München beschrieben (Engel et al. 2014) (361). Die Untersuchung des AML/MDS-Kollektivs (≥ 59 Jahre, 75 % Hochrisiko-Erkrankungen) deutete zudem an, dass insbesondere ältere Patienten (≥ 66 Jahren) mit Hochrisiko-AML von einer Konditionierung mit FBM profitieren könnten: In dieser Patienten-Subgruppe zeigte sich ein geschätztes Gesamtüberleben von 71 % nach einem Jahr (im Vergleich zu 55 % 2-J-OS im FBM-Gesamtkollektiv). Es bleibt jedoch zu bedenken, dass die AML-Subgruppe mit 26 Patienten sehr klein und der Beobachtungszeitraum mit einem Jahr sehr kurz waren. In der Studie von Engel et al. (361) wurde dem FBM-Kollektiv vergleichend ein Kollektiv gegenübergestellt, das mit FLAMSA-Busulphan konditioniert wurde (8 mg/kg KG Busulphan, FLAMSA-Bu). Nach dem Vorbild von Kolb (Schmid et al. 2005) (298) wurde diese Konditionierung sequentiell appliziert. Im Vergleich zu dem Düsseldorfer

FLAMSA-Mel Protokoll erzielte das Münchener FLAMSA-Bu Protokoll eine deutlich niedrigere Rezidivrate nach 2 Jahren (17 % für FLAMSA-Bu vs. 44 % für FLAMSA-Mel). Jedoch enthielt das FLAMSA-Bu Kollektiv mit 63 % deutlich weniger Patienten mit Hochrisiko-Erkrankungen. Die therapieassoziierte Mortalität war mit 25 % nach 1 Jahr vergleichsweise hoch nach FLAMSA-Bu (1-J-TRM für FLAMSA-Mel: 15 %). (361) Bereits bei älteren Studien, in denen Busulphan in Kombination mit Cyclophosphamid eingesetzt wurde, zeigte sich ein Anstieg der therapieassoziierten Mortalität auf 22 % nach 2 Jahren (MDS/AML-Patienten, 12,8 mg/kg KG Bu) (244) bzw. 28 %-30 % nach 3 Jahren (MDS-Patienten, Bu-Dosis orientiert am Plasma-Level 800 - 900 ng/ml) (362). Letztlich führte sowohl die sequentielle Konditionierung mit FLAMSA-Mel und die sequentielle Konditionierung mit FLAMSA-Bu zu einem ähnlichen Transplantationsergebnis nach 2 Jahren (62 % für FLAMSA-Bu vs. 58 % für FLAMSA-Mel). (361) Abzuwarten bleibt, ob die sequentielle Konditionierung mit FLAMSA-Bu auch langfristig die Hochrisiko-Erkrankungen zu kontrollieren vermag und ob sich die Toxizität des Regimes auf das Langzeitüberleben auswirken wird.

Anders als bei den myeloablativen und noch mehr als bei den intensitätsreduzierten Konditionierungs-Protokollen basiert die Leukämie-Kontrolle und -Abwehr bei den minimal-intensiven Konditionierungs-Protokollen auf dem Immun-vermittelten *Graft-versus-Leukemia* (GVL)-Effekt. Die Intensität und damit verbundene Toxizität ist bei diesen Regimen soweit minimiert, dass sie auch bei Patienten mit hohem Alter und/oder mit ausgeprägten Komorbiditäten eingesetzt werden können. Dass fortgeschrittene und/oder Hochrisiko-Erkrankungen mit minimal-intensiven Konditionierungs-Protokollen jedoch nicht ausreichend kontrolliert werden können, zeigte beispielsweise eine *Multi-Center* Studie aus dem Jahr 2006 (Hegenbart et al., 2006). (255) Patienten mit fortgeschrittener AML erreichten nach minimaler Konditionierung und anschließender allogener BSZT lediglich ein geschätztes Gesamtüberleben von 28 % nach 2 Jahren. (255) Ein Vergleich des Düsseldorfer FLAMSA-Mel Protokolls mit Protokollen minimaler Konditionierung erscheint nicht sinnvoll, da die Patientenkollektive für eine minimale Konditionierung im Hinblick auf Alter und Komorbiditäten vorselektiert sind: In der Regel enthalten sie deutlich mehr alte und/oder komorbide Patienten. (255,363–366) Die Tabellen 3-6 im Anhang geben einen Überblick über die Charakteristika, das Risikoprofil und das Transplantationsergebnis der sieben zum Vergleich zitierten Studien.

Aus den Vergleichen mit anderen Konditionierungs-Protokollen können wir schlussfolgern, dass das FLAMSA-Mel Protokoll ein effektiver Therapieansatz für myeloische Hochrisiko-Neoplasien ist. Es verspricht eine ausreichende Myelo- und Immunsuppression für ein erfolgreiches *Engraftment*, bei relativ geringer Toxizität. Obwohl das Gesamtüberleben unseres Hochrisiko-Kollektivs mit 62 % nach 3 Jahren und 59 % nach 4 Jahren im Vergleich mit anderen Protokollen sehr gut ist, stellt das Rezidiv nach der allogenen BSZT weiterhin ein großes Problem dar. Durch die gezielte Modulation an

wichtigen Stellschrauben des Transplantations-Ablaufes, wie beispielsweise der „Spender-Empfänger Kompatibilität“, der „Zytotoxizität der Chemotherapie“ und der „Intensität der Immunsuppression“, sollten in Zukunft versucht werden die Rezidivrate noch weiter zu senken. Der Blick auf potentielle Prognosefaktoren des Prä- und Posttransplantationsverlaufes ist in diesem Zusammenhang besonders wertvoll.

5.2 Diskussion der allogenen Blutstammzelltransplantation als Erstlinientherapie

Die allogene BSZT ist ein potentiell kuratives Therapieverfahren, wobei ihr kuratives Potential erheblich davon abhängen kann, zu welchem Zeitpunkt nach der Erstdiagnose die Transplantation erfolgt. (367,368) Eine allogene BSZT, frühzeitig im Krankheitsverlauf, ist eine neue Transplantationsstrategie, die das Überleben von Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Neoplasien verbessern könnte.

In Rahmen dieser Arbeit untersuchten wir das Transplantationsergebnis nach einer allogenen BSZT als Erstlinientherapie (*First-line* BSZT), einer Transplantation ohne jegliche Vortherapie. Insgesamt wurden in unserer Studie 28 (29 %) Patienten mit FLAMSA-Mel konditioniert und *First-line* allogene stammzelltransplantiert, hierunter 16 Patienten mit einem MDS, 3 mit einem MDS/MPN (1 CML-Ph- und 2 CMML) und 9 mit einer sAML (7 sAML aus MDS und 2 sAML aus CMML). Im Vergleich zu vortherapierten Patienten, zeigte sich für Patienten mit einer *First-line* BSZT ein Trend hin zu einer niedrigeren Rezidivrate (4-J-RR: 48 % für *First-line* vs. 57 % für vortherapiert, $p = 0,133$). Bei ähnlichem krankheitsfreiem Überleben erzielten Patienten mit einer *First-line* BSZT ein besseres Gesamtüberleben im Vergleich zu vortherapierten Patienten (4-J-OS: 75 % vs. 54 %, $p = 0,134$; 4-J-DFS: 41 % vs. 36 %, $p = 0,388$). Diese Beobachtung deutet darauf hin, dass Patienten mit einer *First-line* Transplantation im Falle eines Rezidivs vergleichsweise häufiger erneut mit Erfolg therapiert werden konnten; ein Argument, das für eine allogene BSZT als Erstlinientherapie spricht, wenngleich die Ergebnisse nicht signifikant waren. Bei dem Vergleich der *First-line* Transplantierten mit vortherapierten Patienten, die eine CR oder keine CR vor der BSZT erreichten, fiel uns auf, dass sich das Transplantationsergebnis von *First-line* Transplantierten und das von in CR transplantierten Patienten kaum voneinander unterschied. Für Patienten mit einer *First-line* BSZT war die Rezidivrate geringfügig höher und das krankheitsfreie Überleben niedriger, wobei die 4-Jahres Gesamtüberlebensrate von Patienten mit einer *First-line* Transplantation und von Patienten mit einer Transplantation in CR nahezu identisch ausfiel (4-J-RR: 48 % für *First-line* vs. 36 % für CR, $p = 0,600$; 4-J-DFS: 41 % vs. 50 %, $p = 0,648$; 4-J-OS: 75 % vs. 80 %, $p = 0,700$). Der Vergleich von *First-line* transplantierten Patienten mit Patienten, die durch ein Vortherapie keine CR vor Transplantation

erreichten (Non-CR), demonstriert einen klaren Vorteil der *First-line* Transplantation: Die Rezidivrate war signifikant niedriger und das Gesamtüberleben signifikant verbessert (4-J-RR: 48 % für *First-line* vs. 66 % für Non-CR, $p = 0,022$; 4-J-DFS: 41 % vs. 29 %, $p = 0,139$; 4-J-OS: 75 % vs. 43 %, $p = 0,030$). Pfeiffer et al. beschrieben in ihrer *Single-Center* Studie einen Nutzen der *First-line* Transplantation nach sequentieller Konditionierung mit FLAMSA-RIC für Patienten mit einem MDS, nicht aber für Patienten mit einer sekundären AML (4-J-OS: 80 % für MDS vs. 28 % für sAML, $p = 0,018$). (369)

In unserer Studie hingegen hatten auch Patienten mit einer sAML ein sehr gutes Transplantationsergebnis nach einer frühen *First-line* BSZT. Die 4-Jahres-Gesamtüberlebensrate betrug 89 % für sAML-Patienten mit einer *First-line* Transplantation ($n = 9$) im Vergleich zu 100 % für vortherapierte sAML-Patienten mit einer CR ($n = 5$) und 49 % für vortherapierte sAML-Patienten ohne Erreichen einer CR vor der BSZT ($n = 12$) ($p = 0,093$ für *First-line* vs. Non-CR; $p = 0,456$ für *First-line* vs. CR). Patienten mit einer sAML, die *First-line* transplantiert wurden, zeigten sogar das beste Transplantationsergebnis unter den drei Diagnose-Subgruppen (4-J-OS: 89 % für *First-line* bei sAML vs. 69 % für *First-line* bei MDS vs. 67 % für *First-line* für MPE, $p = 0,496$). Das bessere Gesamtüberleben in der sAML Diagnose-Subgruppe, konnten wir auf eine vergleichsweise niedrige Rate therapieassoziiertes Todesfälle nach der *First-line* BSZT zurückführen (4-J-TRM: 11 % für *First-line* bei sAML vs. 25 % für *First-line* bei MDS vs. 33 % für *First-line* für MPE, $p = 0,564$).

Obwohl unsere Daten aufgrund des retrospektiven Studiendesigns mit Vorsicht zu interpretieren sind, legen unsere Ergebnisse nahe, dass bei Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Neoplasien, deren Ansprechen auf eine Vortherapie ungewiss ist, eine *First-line* Transplantation favorisiert werden sollte. Bei Patienten mit myeloischen Blutstammzellerkrankungen und guter Prognose könnte die Geschichte eine andere sein. Auch die Intensität der Konditionierung scheint für den Nutzen bzw. Misserfolg einer frühen *First-line* Transplantation von Bedeutung zu sein. In einer *Single-Center* Studie aus dem Jahr 2009, fanden Warlick et al. (370), dass sich das krankheitsfreie Überleben von Patienten mit einer Vortherapie gegenüber Patienten mit einer *First-line* Transplantation verbesserte, wenn sie mit einer nicht-myeloablativen Konditionierung im Rahmen der BSZT therapiert worden waren (DFS: 54 % für Vortherapierte vs. 10 % für *First-line* Transplantierte, $p = 0,06$). Für Patienten, die eine myeloablativ Konditionierung erhielten, ergaben die Analysen wiederum einen Trend in Richtung eines besseren krankheitsfreien Überlebens im Falle einer *First-line* Transplantation (DFS: 33 % für Vortherapierte vs. 65 % für *First-line* Transplantierte, $p = 0,14$). (370)

In unserer Studie gingen wir zudem der Frage nach, in wie fern sich der Blastenanteil im Knochenmark zum Zeitpunkt der Transplantation auf das Überleben von *First-line* Transplantierten auswirkte. Die Rezidivrate von Patienten mit ≥ 6 % Blasten im Knochenmark zum Zeitpunkt der *First-line* Transplantation war nach 4 Jahren deutlich erhöht und das krankheitsfreie Überleben

dementsprechend vermindert (4-J-RR: 0 % vs. 59 %, $p = 0,085$; 4-J-DFS: 80 % vs. 32 %, $p = 0,158$ für < 6 % Blasten vs. ≥ 6 % Blasten). Bemerkenswerterweise hatte der Blastenanteil im Knochenmark bei *First-line* transplantierten Patienten letzten Endes keinen Einfluss auf das Gesamtüberleben (4-J-OS: 80 % vs. 74 %, $p = 0,841$ für < 6 % Blasten vs. ≥ 6 % Blasten). Diese Ergebnisse bestätigen zum einen, dass durch eine *First-line* Transplantation nach FLAMSA-Mel selbst bei Patienten mit einer aktiven Erkrankung zum Zeitpunkt der Transplantation ein sehr gutes Langzeitüberleben erzielt werden kann. Jedoch ist der Erfolg im Gesamtüberleben bei den meisten Patienten mit einer erneuten erfolgreichen Rezidivtherapie im Verlauf nach der Transplantation verbunden gewesen. Die relativ hohen Raten an Rezidiven innerhalb der ersten 3 Jahre nach BSZT bei Hochrisiko-Patienten mit aktiven Erkrankungen zum Zeitpunkt der *First-line* Transplantation argumentieren für eine Transplantation in einem sehr frühen Krankheitsstadium, indem noch weniger als 5 % Blasten im Knochenmark zu finden sind. Patienten mit einer *First-line* Transplantation, die weniger als 5 % Blasten im Knochenmark zum Zeitpunkt der Transplantation zeigten, erzielten nämlich ein nahezu identisches Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben wie Patienten mit einer Transplantation in CR.

Des Weiteren deuten unsere Analysen zu dem Einfluss der Zytogenetik an, dass ungünstige, zytogenetische Merkmale nur bei Patienten mit einer *First-line* Transplantation einen Risikofaktor darstellen. Während *First-line* transplantierte Patienten mit einem normalen Karyotyp ein exzellentes Transplantationsergebnis erzielten, zeigten *First-line* transplantierte Patienten mit einem komplexen, monosomalen oder *unfavorable* Karyotyp ein sehr schlechtes Transplantationsergebnis. Bei vortherapierten Patienten konnten wir hingegen keinen Einfluss der zytogenetischen Merkmale feststellen. Diese Beobachtung spricht dafür, dass bei Patienten, die eine Chemotherapie vor der BSZT erhalten, das Erreichen einer CR ein weitaus entscheidender Prognosefaktor für das weitere Überleben ist als der Karyotyp zum Zeitpunkt der Transplantation. Bei Patientin mit einer *First-Line* Transplantation, bei denen der Selektionsmechanismus einer Chemotherapie nicht stattgefunden hat, ist die prognostische Bedeutung des Karyotyps daher noch ersichtlich.

Die Wahl des besten Zeitpunktes für eine allogene BSZT im Verlauf einer myeloischen Stammzellerkrankung ist bis heute strittig. Auch nach FLAMSA-Mel wurde das beste Transplantationsergebnis durch eine Transplantation in kompletter Remission erzielt (4-DFS: 50 % und 4-J-OS: 80 %). Patienten mit einer *First-line* Transplantation, insbesondere Patienten mit weniger als 6 % Blasten im Knochenmark zum Zeitpunkt der Transplantation, erreichten jedoch ein ähnlich gutes Ergebnis. Bislang ist es nicht möglich, das Ansprechen auf eine Vortherapie vorauszusagen. Da intensive und repetitive Chemotherapien prinzipiell das Risiko bergen, chemoresistente Zellklone zu selektionieren, sollte insbesondere bei einer Hochrisiko-Erkrankung eine allogene BSZT so früh wie

möglich im Krankheitsverlauf durchgeführt werden. In der Zusammenschau mit vorangehenden Studien unterstützen unsere Ergebnisse diese These.

5.3 Diskussion der Prognosefaktoren im Rahmen einer allogenen Blutstammzelltransplantation

Im Folgenden werden ausgewählte Prognosefaktoren, die wir in unserem Hochrisiko-Kollektiv identifiziert haben, im Licht der aktuellen Literatur diskutiert. Hierbei nehmen wir Bezug sowohl auf die Ergebnisse der univariaten Analyse als auch auf die Ergebnisse der multivariaten Analyse. Potentielle Zusammenhänge zwischen einzelnen Prognosefaktoren des Prä- und Posttransplantationsverlaufes werden erläutert. Eine besondere prognostische Bedeutung hatte in unserem FLAMSA-Mel therapierten Hochrisiko-Kollektiv die in vivo T-Zell Depletion mit Anti-T-Lymphozyten Globulin (ATG-Fresenius®/Grafalon®, ATG), auf die wir als letzten Punkt eingehen werden.

5.3.1 Das Alter und die Komorbidität des Patienten

In dieser Arbeit fanden wir typische Prognosefaktoren, die einen signifikanten Einfluss auf das Transplantationsergebnis zeigten. An erster Stelle sind die patientenabhängigen Prognosefaktoren „Patientenalter“ und „Komorbidität des Patienten“ zu nennen. Das Patientenalter war in unserem mit FLAMSA-Mel konditioniertem Hochrisiko-Kollektiv ein unabhängiger Risikofaktor für einen therapieassoziierten Tod, nicht aber für das Gesamtüberleben nach allogener BSZT. Ein BSZT-spezifischer Komorbiditätsindex (HCT-CI) von ≥ 3 Punkten, als Indikator für schwerwiegende Begleiterkrankungen, wiederum, erwies sich als ein unabhängiger Risikofaktor für ein vermindertes Gesamtüberleben. Des Weiteren können wir festhalten, dass in unserem Hochrisiko-Kollektiv ein hoher Grad an Komorbidität nicht nur die therapieassoziierte Mortalität, sondern auch das Rezidivrisiko erhöhte.

Zwei große retrospektive Studien identifizierten das Alter zum Zeitpunkt der Transplantation als einen entscheidenden Risikofaktor für einen therapieassoziierten Tod. (371,372) In der *Multi-Center* Studie des *International Bone Marrow Transplant Registry* (IBMTR) (Sierra et al., 2002) (372) ergab die multivariate Analyse, dass das Risiko eines therapieassoziierten Todes für MDS-Patienten in der Altersgruppe 31-45 Jahre um den Faktor 4,1 und in der Altersgruppe > 45 Jahre um den Faktor 4,4 erhöht war (p jeweils $< 0,0001$). Auch für das krankheitsfreie Überleben und das Gesamtüberleben war das Patientenalter ein unabhängiger Prädiktor (Altersgruppe > 45 Jahre: HR = 2,5, $p < 0,001$ für DFS und HR = 2,8, $p < 0,0001$ für OS). (372) Diese Resultate stehen im Einklang mit einer großen Studie der *European Society for Blood and Marrow Transplantation* (EBMT) (De Witte et al., 2000)

(371). In einer Kohorte von 1378 MDS-Patienten war das Alter zum Zeitpunkt der BSZT von über 40 Jahren ein unabhängiger Risikofaktor für einen therapieassoziierten Tod, ein vermindertes krankheitsfreies wie auch Gesamtüberleben (HR = 2,47 für TRM, HR = 1,76 für DFS, HR = 2,07 für OS, p jeweils < 0,001). (371)

In unserem mit FLAMSA-Mel behandelten Hochrisiko-Kollektiv war das Patientenalter zum Zeitpunkt der BSZT der stärkste unabhängige Risikofaktor für einen therapieassoziierten Tod. Patienten, die zum Zeitpunkt der Transplantation 50 Jahre oder älter waren, hatten ein 5,74-fach erhöhtes Risiko im Verlauf nach Transplantation an therapieassoziierten Komplikationen zu versterben (p = 0,021). Im Hinblick auf das Gesamtüberleben, hatten Patienten im Alter von 50 Jahren oder älter ein 1,87-fach erhöhtes Risiko nach BSZT zu versterben. Das Signifikanzniveau wurde hier jedoch mit einem p-Wert von 0,094 verfehlt. Auch in zwei großen retrospektiven Studien der EBMT (373) und des CIBMTR (*The Center for International Blood and Marrow Transplantation*) (224), mit dem Fokus auf MDS/AML-Patienten im Alter über 50 bzw. 40 Jahre, zeigten die multivariaten Analysen, dass das Patientenalter letzten Endes kein unabhängiger Einflussfaktor auf das Gesamtüberleben nach Transplantation war. (224,373) Den Analysen des CIBMTR zu Folge schien das Alter des Spenders einen Einfluss auf das krankheitsfreie Überleben zu haben (p = 0,02). Der *Performance-Status* des Patienten, gemessen an dem Karnofsky-Index (< 80 Punkte), war für das Gesamtüberleben von Bedeutung (p = 0,001). (224)

Studien an kleineren Patientenkollektiven führten im Hinblick auf die prognostische Bedeutung des Patientenalters zu widersprüchlichen Ergebnissen: Bei den Einen war das Patientenalter ein signifikanter Prognosefaktor für das Gesamtüberleben (374–376), bei den Anderen erzielte der Einflussfaktor Patientenalter keine statistische Signifikanz (255,295,298,357,359,360,377–380).

In einer ergänzenden Subgruppenanalyse von drei verschiedenen Altersgruppen (≤ 50 Jahre, 50-60 Jahre und ≥ 60 Jahre) fiel uns auf, dass insbesondere die Patienten der Altersgruppe zwischen 50 und 60 Jahren häufig an therapieassoziierten Komplikationen verstarben. Das Gesamtüberleben der Patientengruppe mit einem Alter von 50-60 Jahren wurde hierdurch deutlich vermindert und glich nach 4 Jahren dem Gesamtüberleben der über 60-Jährigen. Ein genauer Blick in unsere Daten zeigte, dass 39 % der Patienten in der Altersgruppe 50-60 Jahre (n = 31) einen HCT-CI im Hochrisikobereich (≥ 3 Punkte) zum Zeitpunkt der BSZT aufwiesen. Anders als ursprünglich im Therapieprotokoll vorgesehen, wurden 7 Patienten (23 %) der Altersgruppe 50-60 Jahre aufgrund ungünstiger krankheitsspezifischer Prognosefaktoren mit einer hohen Melphalan-Dosierung von 175-200 mg/m² KO konditioniert. Unter diesen 7 Patientien (Alter 50-60 Jahre und 175-200 mg/m² KO Melphalan) waren 3 Patienten mit einem HCT-CI im mittleren (1-2 Punkte) und 3 Patienten mit einem HCT-CI im hohen Risikobereich (≥ 3 Punkte). Jeweils 2 Patienten der Altersgruppe 50-60 Jahre mit einem HCT-CI

von 1-2 Punkten und 2 Patienten mit einem HCT-CI von ≥ 3 Punkten, die mit 175-200 mg/m² KO Melphalan konditioniert wurden, verstarben im Verlauf nach BSZT therapieassoziiert.

Die Ursache, für die deutlich erhöhte therapieassoziierte Mortalität in der Altersgruppe ≥ 50 Jahre und insbesondere in der Altersgruppe zwischen 50 und 60 Jahren, liegt demnach höchstwahrscheinlich in dem Zusammenspiel der Kovariaten Intensität der Konditionierung einerseits und Grad der Komorbidität andererseits begründet.

In einer kleinen Studie aus dem Jahr 2012 über den Einfluss der Komorbidität auf den Erfolg bzw. Misserfolg einer konventionellen Chemotherapie konnte gezeigt werden, dass der Erfolg der applizierten Chemotherapeutika mit dem Grad der Komorbidität der Patienten (HCT-CI: < 3 vs. ≥ 3) variierte. Djunic et al. schlussfolgerten, dass ein HCT-CI Wert von 3 Punkten oder mehr ein hilfreiches Entscheidungskriterium bei der Wahl der Chemotherapie und deren Intensität sein kann. (94) Auch unsere Untersuchung einzelner Alters-Subgruppen, im Kontext der allogenen BSZT, deuten an, dass die Komorbidität des Patienten bei der Wahl der Konditionierungsintensität besondere Aufmerksamkeit verdient.

Die Komorbidität als Prognosefaktor vor einer BSZT bewertet wird anhand des Stammzelltransplantation-spezifischen Komorbiditätsindex (*Hematopoietic Cell Transplantation-specific Comorbidity Index*, HCT-CI) nach Sorror et al.. (381–383) Bereits Sorror et al. erkannten 2007 die besondere prognostische Bedeutung der Komorbidität bei MDS/AML-Patienten mit Hochrisiko-Erkrankungen. Unabhängig von der Intensität der Konditionierung war das Transplantationsergebnis von AML/MDS-Patienten mit einer fortgeschrittenen Erkrankung und einem hohen HCT-CI (≥ 3) am schlechtesten (2-J-OS bei hohem Risiko: 24 % für MAC, 29 % für NMC vs. 2-J-OS bei niedrigem Risiko: 45 % für MAC und 41 % für NMC). (382) Unsere univariaten Analyse-Ergebnisse zeigen, dass das Gesamtüberleben wie auch das krankheitsfreie Überleben durch einen hohen Komorbiditätsindex von ≥ 3 Punkten signifikant vermindert wurden ($p = 0,003$ für OS und $p = 0,037$ für DFS). Hierbei fiel auf, dass der Einfluss der Komorbidität zum Zeitpunkt der Transplantation im Hinblick auf das Gesamtüberleben ausgeprägter war im Vergleich zum krankheitsfreien Überleben. Diese Beobachtung lässt darauf schließen, dass Patienten ohne Komorbiditäten oder mit einem niedrigen Komorbiditätsindex < 3 Punkten im Falle eines Rezidivs erfolgreicher therapiert werden konnten als vergleichsweise Patienten mit relevanten Begleiterkrankungen. Ein HCT-CI von 3 Punkten oder mehr in unseren FLAMSA-Mel behandeltem Hochrisiko-Kollektiv war also gerade dann von Bedeutung, wenn ein Patient nach der Transplantation rezidierte und es einer erneuten Therapie bedurfte. Dieses Ergebnis, wird durch eine kürzlich veröffentlichten Studie untermauert. Thanarajasingam et al. (384) untersuchten Prognosefaktoren für das Transplantationsergebnis von Patienten, die nach einer allogenen BSZT ein Rezidiv erlitten. Neben anderen Einflussfaktoren („Kurzer Zeitraum bis zum Rezidiv“, „Myeloablative Konditionierung“ und „Entwicklung einer GVHD“) war ein HCT-CI ≥ 3

Punkten in der univariaten, wie auch in der multivariaten Analyse prädiktiv für einen Tod in Folge des Rezidivs. (384) Gleichermaßen machten Bokhari et al. (385) die Beobachtung, dass Patienten, die nach einer allogenen BSZT in Folge eines Rezidivs verstorben waren, häufiger einen hohen HCT-CI ≥ 3 zum Zeitpunkt der BSZT aufwiesen (Patienten mit dem Tod in Folge eines Rezidivs: 69 % mit HCT-CI ≥ 3 vs. 31 % mit HCT-CI 0-2). (385) Der HCT-CI spiegelt demnach auch die Fähigkeit des Patienten wider, im Falle eines Rezidivs weitere Therapien zu tolerieren.

Des Weiteren fiel in unserer univariaten Analyse auf, dass der Faktor Komorbidität nicht nur die therapieassoziierte Mortalität, sondern auch die Rezidivrate beeinflusste ($p = 0,132$ für TRM und $p = 0,146$ für RR). Das Zusammenspiel von beidem, Erhöhung der TRM und Erhöhung der RR, führte bei den Patienten mit einem HCT-CI von ≥ 3 Punkten letzten Endes zu der signifikanten Reduktion im Gesamtüberleben. Eine Erklärung für die erhöhte Rezidivrate bei unseren Hochrisiko-Patienten mit einem HCT-CI ≥ 3 könnte darin liegen, dass bei Patienten mit schweren Begleiterkrankungen das Immunsystem in seiner Funktion und somit die immunvermittelte Leukämie-/Tumor-Abwehr beeinträchtigt ist. Beispielsweise werden im Rahmen chronischer Erkrankungen wie Diabetes mellitus, Gefäßerkrankungen, Autoimmunerkrankungen oder im Rahmen von chronischen Infektionen Botenstoffe freigesetzt (Zytokine, Wachstumsfaktoren u.a. regulatorischen Molekülen), die das Wachstum residueller Tumorzellen begünstigen können. (386–390)

In einer kleinen retrospektiven Singelcenter-Studie beobachteten Etienne et al. (391), dass ein hoher Komorbiditätsindex, insbesondere bei älteren AML-Patienten, mit schlechten Remissionsraten und einem erhöhten Rezidivrisiko nach konventioneller Chemotherapie einherging. In Studien, die das Transplantationsergebnis nach einer allogenen BSZT untersuchten, wurde bislang kein eindeutiger Zusammenhang zwischen dem Grad der Komorbidität und dem Rezidivrisiko beschrieben.

In der Zusammenschau mit vorangehenden und aktuellen Studienergebnissen, können wir schlussfolgern, dass nicht allein das Alter, sondern auch die Begleiterkrankungen und die individuelle Widerstandskraft des Patienten letztlich den Erfolg einer allogenen BSZT limitieren. Bei der Frage, ob eine allogene BSZT möglich ist und welches Konditionierungs-Regime die beste Erfolgschancen verspricht, sollte nicht nur das Rezidivrisiko und das Patientenalter, sondern auch die Komorbiditäten, die individuelle Fitness, die Intensität und Anzahl bereits erfolgter Therapien, wie auch die Verfügbarkeit eines in Kompatibilität und Alter geeigneten Spenders mitberücksichtigt werden. Wir sollten in Erwägung ziehen, vor einer geplanten allogenen BSZT bei älteren und/ oder komorbiden Patienten ergänzend eine multidimensionale geriatrische Beurteilung (*Multidimensional Geriatric Assessment*, MGA) durchzuführen. Dabei handelt es sich um ein klinisches Werkzeug zur Prognoseeinschätzung, dass neben relevanten Begleiterkrankungen und dem Alter auch die mentale und körperliche Fitness des Patienten in einem mehrschichtigen Bewertungsprozess mitberücksichtigt. Ein MGA vor BSZT könnte das Einschätzen der Prognose und die Wahl der

Konditionierungsintensität erleichtern. Auf dem Boden eines MGA entwickelten beispielsweise Stauder et al. 2012 einen therapeutischen Algorithmus für ältere Patienten mit Hochrisiko-MDS. (225,392). Der diagnostische Nutzen und die prognostische Kapazität eines MGA sollte in Zukunft im Rahmen der allogenen BSZT bei myeloischen Hochrisiko-Leukämien überprüft werden. Darüber hinaus versprechen neue *Scoring-Systeme*, die unter anderem sowohl das Alter als auch die Komorbidität des Patienten miteinbeziehen, das individuelle Risiko vor- und im Verlauf nach der BSZT noch besser abschätzen zu können. (385,393,394) Beispielweise definierten Michelis et al. 2013 auf dem Boden von drei signifikant getesteten Prognosefaktoren (HCT-CI, Alter und Dauer der ersten Remission), drei Risikogruppen, die Ihnen eine genauere Prädiktion des Gesamtüberlebens ermöglichten (5-J-OS: 53 % für A, 31 % für B und 6 % für C, $p = 0,0001$). (393) Im Jahr 2015 stellte die Arbeitsgruppe um Michelis et al. ein weiteres *Scoring-System* vor, das ermöglichen soll das Risiko eines therapieassoziierten Todes bei AML-Patienten in CR1 und CR2 vor einer allogenen BSZT abzuschätzen. (394)

5.3.2 Die Verwandtschaft und HLA-Kompatibilität zwischen Patient und Spender

Die Verwandtschaft zwischen Patient und Spender, sowie die HLA-Kompatibilität, sind zwei wichtige Faktoren, die bei der Spenderwahl vor einer allogenen BSZT sorgfältig bedacht werden müssen, da sie potentielle Prognosefaktoren für das Transplantationsergebnis sind.

In unserer Untersuchung deutet die univariate Analyse an, dass Patienten, die mit Zellen eines Fremdspenders transplantiert wurden, ein deutlich höheres Risiko hatten im Verlauf nach der Transplantation ein Rezidiv ihrer Erkrankung zu erleiden (4-J-RR: 65 % vs. 34 %, $p = 0,032$ für Fremd- vs. Familienspender). Auch das krankheitsfreie Überleben war signifikant vermindert, wenn Patienten eine Fremdspender-Transplantation erhielten. Dieses Ergebnis steht jedoch im Widerspruch zu der aktuellen Studienlage. In zahlreichen Studien, die unter anderen Prognosefaktoren auch den Verwandtschaftsgrad zwischen Spender und Patient untersuchten, hatten Patienten mit einem Fremdspender einerseits und Patienten mit einem Familienspender andererseits ein vergleichbares Transplantationsergebnis. (236,360,362,364,395–401) In einigen Studien zeigten Patienten, die mit Zellen eines Fremdspenders transplantiert wurden, ein vermindertes Rezidivrisiko. (255,258,396,398–403) In der retrospektiven *Multi-Center* Studie von Hegenbart et al., die das Transplantationsergebnis von AML-Patienten nach minimal-intensiver Konditionierung untersuchte, hatten Patienten mit einer Fremdspender-Transplantation in erster Remission beispielsweise eine 2-Jahres-Rezidivrate von 16 % im Vergleich zu 50 % für Patienten mit einer Familienspender-Transplantation ($p = 0,005$). (397) Als ursächlich für die relativ niedrigere Rezidivrate bei unverwandten BSZT wird eine verstärkte *Graft-versus-Leukemia* Aktivität

angenommen. Auf der anderen Seite kann die gesteigerte *Graft-versus-Host* Aktivität nach Fremdspender-Transplantationen zu einer Erhöhung der therapieassoziierten Mortalität führen. Eine erhöhte therapieassoziierte Mortalität nach Fremdspender-Transplantationen fanden beispielsweise Tauro et al. (357) 2005 bei der Untersuchung eines kleinen MDS/AML-Kollektivs (N = 76) und Lim et al. (373) 2010 in ihrer großen retrospektiven *Multi-Center* Studie an älteren Patienten mit MDS oder sAML (N = 1333, Alter \geq 50 Jahre). (357,373) Eine Erhöhung der Rezidivrate bei Patienten mit einer Fremdspender-Transplantation, wurde bislang jedoch nicht beobachtet. In unserer multivariaten Analyse war der Einfluss der Fremdspender-Transplantation auf die Rezidivrate letztlich auch nicht signifikant. Da fast alle Patienten (99 %), die in unserer Studie mit einem Fremdspender transplantiert wurden, Anti-T-Lymphozyten Globulin (ATG) im Rahmen der Konditionierung erhielten, ist es sehr wahrscheinlich, dass die Erhöhung der Rezidivrate auf diese additive Medikation zurückzuführen ist. Auf die Bedeutung der in-vivo T-Zell Depletion mit ATG in unserem Hochrisiko-Kollektiv gehen wir im weiteren Verlauf der Diskussion detailliert ein.

Im Unterschied zu der Verwandtschaft zwischen Patient und Spender, erwies sich die HLA-Kompatibilität zwischen Patient und Spender sowohl in der univariaten als auch in der multivariaten Analyse als ein signifikanter Einflussfaktor auf die Rezidivrate. Unseren univariaten Analysen zu Folge hatten Patienten, die mit einem HLA-*mismatched* Spender transplantiert wurden, ein deutlich erhöhtes Risiko im Verlauf nach der BSZT ein Rezidiv zu erleiden (4-J-RR: 93 % für HLA-*mismatched* vs. 46 % für HLA-identisch, $p = 0,0001$). Die erhöhte Rezidivrate bei Patienten mit einer *mismatched*-Transplantation resultierte in einem signifikant verminderten krankheitsfreien wie auch Gesamtüberleben (4-J-DFS: 7 % für HLA-*mismatched* vs. 43 % für HLA-identisch, $p = 0,006$; 4-J-OS: 32 % für HLA-*mismatched* vs. 64 % für HLA-identisch, $p = 0,025$). Unsere multivariaten Analysen konnten bestätigen, dass das Merkmal einer HLA-*mismatched* Transplantation ein signifikanter Risikofaktor für ein Rezidiv nach der Behandlung mit FLAMSA-Melphalan und der anschließenden allogenen BSZT war. Die Transplantation mit einem *mismatched* Spender erwies sich sogar als bedeutendster Risikofaktor für ein Rezidiv (HR = 2,66, 95%-KI: 1,33 - 5,32, $p = 0,006$).

Dieses Ergebnis war zunächst sehr überraschend, da bei einer *mismatched* Transplantation aufgrund eines gesteigerten GVL-Effektes eher ein niedrigeres Rezidivrisiko zu Lasten einer gesteigerten therapieassoziierten Mortalität nach BSZT erwartet wird. Aus genau diesem Grund werden *mismatch* Situationen bei Fremdspender-Transplantationen häufiger bei jüngeren Patienten und bei Patienten mit fortgeschrittenen Erkrankungen toleriert. (404) In der Münchener *Single-Center* Studie, die 2005 das Transplantationsergebnis nach sequenzieller Konditionierung mit FLAMSA-RIC untersuchte, fanden Schmidt et al. (298) beispielsweise eine signifikant niedrigere Rate an Leukämie-assoziierten Todesfällen, wenn die Patienten mit einem *mismatched* Fremd- oder Familienspender transplantiert wurden ($p = 0,014$ in der univariaten Analyse und $p = 0,017$ in der multivariaten Analyse). Das Risiko

eines therapieassoziierten Todes war für Patienten mit einer *mismatched* Fremd- oder Familienspender-Transplantation wiederum erhöht im Vergleich zu Patienten, die mit einem HLA-identischen Familienspender transplantiert wurden ($p = 0,014$ in der univariaten Analyse und $p = 0,028$ in der multivariaten Analyse). Daher zeigten Patienten des Münchener Kollektivs, die einerseits mit einem HLA-identischen Spender und andererseits mit einem *mismatched* Spender transplantiert wurden, letztlich keinen signifikanten Unterschied im Gesamtüberleben. (298) Auch in der *Single-Center* Studie von Schneidawind et al., die 2013 ebenfalls das Transplantationsergebnis nach FLAMSA-RIC beleuchtete, ergab der Vergleich von HLA-*matched* und HLA-*mismatched* Spendern keinen signifikanten Unterschied im Gesamtüberleben ($p = 0,980$). (380) Ein vergleichbares Ergebnis im Hinblick auf den Einflussfaktor HLA-Kompatibilität lieferten die retrospektiven Studien von Martino et al. (236), Lima et al. (378) und Bokhari et al. (385). In der retrospektiven *Single-Center* Studie von Pfeiffer et al., die nach dem Vorbild von Schmid et al. (298) ebenfalls das Transplantationsergebnis nach FLAMSA-RIC betrachtete, führte die multivariate Analyse wiederum zu dem Ergebnis, dass die Transplantation mit einem 8/8 oder 10/10 HLA-*matched* Familien- oder Fremdspender ein unabhängiger Protektivfaktor im Sinne eines signifikant verbesserten Gesamtüberlebens war ($p = 0,05$). (369) In der Studie von Hegenbart et al. mit dem Fokus auf MDS-Patienten nach minimal-intensiver Konditionierung, war die Transplantation mit einem HLA-*mismatched* Spender mit einem verminderten Gesamtüberleben assoziiert (HR: 0,5, 95%-KI: 0,2 - 1,0, $p = 0,05$ in der multivariaten Analyse). (397) Gupta et al. verglichen 2010 in ihrer retrospektiven Studie das Transplantationsergebnis von AML-Patienten mit zytogenetischen Abnormalitäten in CR1, die mit HLA-*matched* Fremdspendern, HLA-*partially-matched* Fremdspendern oder *matched* Familienspendern transplantiert wurden. Das krankheitsfreie wie auch das Gesamtüberleben von Patienten mit einem HLA-*partially-matched* Fremdspender waren signifikant vermindert. (401) Leider wird in keiner der drei zuletzt genannten Studien deutlich, ob das Gesamtüberleben von Patienten mit einer *mismatched*-Transplantation durch einen Anstieg der Rezidivrate, der therapieassoziierten Mortalität oder durch eine Erhöhung von beidem verursacht wurde. (369,397,401)

Aus frühen Studien ist bekannt, dass Unterschiede in den HLA-Merkmalen zwischen Patienten und Spender mit einem erhöhten Risiko für ein Transplantat-Versagen verbunden sind. (258,405) Im Jahr 2001 zeigten Petersdorf et al. zudem, dass bereits Unterschiede auf der Allel-Ebene der HLA-Klasse I Merkmale die Abstoßung des Transplantates begünstigen könnten. (406) In einer weiteren Studie der Arbeitsgruppe um Petersdorf et al. (407), diesmal mit dem Fokus auf die HLA-Klasse II Merkmale, wurde die Bedeutung des HLA-DRB1 Merkmals für den Erfolg von Fremdspender-Transplantationen herausgestellt. Hier konnte gezeigt werden, dass ein *mismatch* in dem HLA-Klasse II Merkmal DRB1 mit einer signifikanten Verschlechterung des rezidivfreien Überlebens einherging (*mismatched* vs. *matched*: 35 % vs. 24 %, $p < 0,001$). (407)

Auf der Suche nach einer Erklärung für die erhöhte Rezidivrate unter den *mismatch*-Transplantationen in dem Düsseldorfer Studienkollektiv, betrachtete Dr. Fischer (Institut für Transplantationsdiagnostik und Zelltherapeutik) ergänzend die *Killer Cell Immunoglobulin-like Receptor* (KIR)-Konstellationen in den betroffenen Patienten. Er fand, dass bei denjenigen Patienten mit einem Rezidiv nach einer *mismatched* Transplantation, eine ungünstige KIR-Konstellation zwischen Spender und Patient vorlag (bislang unveröffentlichte Ergebnisse). Bereits 2012 deuteten die Ergebnisse der Arbeitsgruppe um Dr. Fischer an, dass die HLA-C-kodierten KIR-Epitope C1 und C2 bei HLA-*matched* und *mismatched* Transplantationen einen unterschiedlichen prognostischen Stellenwert haben könnten. Für Patienten mit MDS, CML und AML, die mit einem HLA-C *mismatched* Spender transplantiert wurden, waren Unterschiede im KIR-C2 Epitop ein signifikanter Überlebensvorteil ($p < 0,01$). Im Vergleich zu Patienten mit *matched* C2 KIR-Epitopen, hatten solche mit C2-Differenzen eine deutlich niedrigere Rezidivrate, wie auch eine niedrigere therapieassoziierte Mortalität ($p < 0,1$ für RR, $p < 0,009$ für TRM). (408) Die Nachuntersuchung in unserem speziellen Patientenkollektiv bestätigt den prognostischen Einfluss der C1 und C2 KIR-Epitope in HLA-C-*mismatched* Transplantationen. In Zukunft könnte die Differenzierung zwischen dem C1- und C2-Status in Abhängigkeit von dem HLA-C-Allel-*Matching* die Suche nach einem geeigneten Spender ergänzen und somit die Prognose des Patienten womöglich nachhaltig verbessern.

Abschließend kann zusammenfassend festgehalten werden, dass in unserem Hochrisiko-Kollektiv die Transplantation mit einem *mismatched* Spender, nicht aber die Transplantation mit einem Fremdspender, ein unabhängiger Risikofaktor für ein Rezidiv nach der allogenen BSZT war. Um die Rezidivrate nach einer FLAMSA-Mel Konditionierung und der anschließenden allogenen BSZT in Zukunft noch weiter zu senken, bedarf es eines besseren Verständnisses der polymorphen *Killer Cell Immunoglobulin-like Receptors* von Patient und Spender und deren Interaktionen in dem Spender-generierten Immunsystem nach BSZT. Dieses Wissen könnte die Auswahl eines geeigneten Spenders vor der Transplantation erleichtern und eine Grundlage für die Entwicklung gezielter Therapien bei *mismatched*-Transplantationen schaffen.

5.3.3 Die Geschlechterkonstellation zwischen Patient und Spender und das Spenderalter

Über den Einflussfaktor Geschlecht von Patient und Spender ist sich die Studienlage bis heute uneinig. Unsere Analysen konnten weder für das Geschlecht des Patienten, noch für das Geschlecht des Spenders einen signifikanten Einfluss auf das Transplantationsergebnis nach der FLAMSA-Mel Konditionierung und der anschließenden allogenen BSZT nachweisen. Betrachten wir jedoch unterschiedliche Geschlechterkonstellationen, so war das Gesamtüberleben für männliche Patienten, die mit einem weiblichen Spender transplantiert wurden, signifikant erhöht (4-J-OS: 79 % für Spender

weiblich/ Patient männlich vs. 53 % für andere Konstellationen, $p = 0,044$). Unserer multivariaten Analyse zu Folge hatten andere Geschlechterkonstellationen im Vergleich zu der Konstellation männlicher Patient und weiblicher Spender ein 2,53-fach erhöhtes Risiko im Verlauf nach der Transplantation zu versterben (HR: 2,53, 95%-KI: 0,99 - 6,47). Das Signifikanzniveau wurde jedoch knapp verfehlt ($p = 0,053$).

Marks et al. (360) beobachteten in ihrer prospektiven, nicht-randomisierten 2-Center Studie, dass das krankheitsfreie Überleben für Patienten mit einem weiblichen Spender signifikant besser war im Vergleich zu Patienten mit einem männlichen Spender (5-J-DFS: 52 % vs. 35 %, $p = 0,02$). Der Unterschied im krankheitsfreien Überleben zwischen Patienten mit einem weiblichen und einem männlichen Spender konnte in der multivariaten Analyse bestätigt werden ($p = 0,04$). Marks et al. führten das Ergebnis auf einen gesteigerten GVL-Effekt, bzw. eine gesteigerte Alloreaktivität in Transplantationen mit einem weiblichen Spender zurück, der/die sich auch in einer signifikanten Erhöhung der cGVHD widerspiegelte ($p = 0,002$). (360) In unserer Studie unterschied sich die Inzidenz der GVHD nicht in Abhängigkeit von dem Geschlecht oder den Geschlechterkonstellationen zwischen Patient und Spender. Anders verhielt es sich in einer großen retrospektiven *Multi-Center* Studie des *National Marrow Donor Program* (NMDP) aus dem Jahr 2001 ($N = 6978$), die sich zum Ziel setzte, den Einfluss von Spender-Charakteristika auf das Transplantationsergebnis nach Knochenmark-Transplantationen von HLA-*matched* Fremd Spendern zu untersuchen (Kollman et al.) (409). Hier hatten Patienten mit einer Frau als Spender, die eine oder mehrere Schwangerschaften erlebt hat, ein höheres Risiko eine chronische GVHD zu entwickeln als vergleichsweise Patienten mit einem männlichen Spender (54 % vs. 44 %; $p < 0,001$). Letztlich wirkten sich weder das weibliche Spendergeschlecht noch die verschiedenen Geschlechterkonstellationen signifikant auf das krankheitsfreie und das Gesamtüberleben aus. (409)

Wir vermuten, dass die beobachteten Unterschiede in der therapieassoziierten Mortalität, der Rezidivrate und im Gesamtüberleben von männlichen Patienten mit einem weiblichen Spender in unserer Studie durch konkurrierende Einflussfaktoren entstanden sein könnten. Beispielsweise kann auch das Alter des Spenders einen erheblichen Einfluss auf das Transplantationsergebnis nach allogener BSZT haben. Ursächlich für diesen Einfluss werden Immunmechanismen im alternden Spenderorganismus angenommen. So war ein älterer Spender im Laufe seines Lebens mehr Fremdartigen ausgesetzt als vergleichsweise ein junger Spender, ein Aspekt, der sich auch in der abnehmenden Zahl an naiven T-Zellen und der Zunahme an Memory T-Zellen im Laufe des Lebens widerspiegelt. (410) Die Toleranz gegenüber Fremdartigen und somit auch die Toleranz gegenüber dem Empfängerorganismus nach einer allogenen BSZT könnte daher bei jungen Spendern höher sein als bei älteren. Der Einflussfaktor Spenderalter wurde bei Marks et al. (360), wie auch in unserer Studie nicht untersucht. In der oben erwähnten Studie des NMDP von Kollman et al. (409)

war das Alter des Spenders ein starker und auch der einzige signifikante Spender-abhängige Einflussfaktor für das Gesamt- und krankheitsfreie Überleben. Die geschätzte 5-Jahres-Überlebensrate von Patienten mit einem Spender im Alter zwischen 18 und 30 Jahren betrug 33 % und von Patienten mit einem Spender im Alter zwischen 31 und 45 Jahren 29 %. Für Patienten, deren Spender ≥ 45 Jahre alt war, lag das 5-J-OS nur bei nur 25 % ($p = 0,002$). Des Weiteren zeigte sich in dieser Studie, dass Patienten mit einem alten Spender (≥ 45 Jahre) signifikant häufiger eine akute und chronische GVHD nach der allogenen Knochenmark-Transplantation entwickelten ($p = 0,005$ für aGVHD III-IV, $p = 0,02$ für cGVHD). (409) Einige Studien konnten in den darauffolgenden Jahren die Bedeutung des Spenderalters für das Transplantationsergebnis nach allogener peripherer Blutstammzelltransplantation an Kollektiven mit CML-Patienten (411), MDS-Patienten (234) oder gemischten Patientenkollektiven (412) bestätigen. Eine randomisierte *Multi-Center* Studie an einem gemischten Patientenkollektiv mit myeloischen und lymphatischen Neoplasien beispielsweise, demonstrierte eindrücklich, dass nicht das Spendergeschlecht, sondern das Spenderalter das Transplantationsergebnis nach allogener BSZT beeinflusste (Finke et al., 2012) (233) . Ein hohes Spenderalter von ≥ 40 Jahren erwies sich hier als ein signifikanter Risikofaktor für eine schwere GVHD, eine erhöhte therapieassoziierte Mortalität und ein vermindertes Gesamtüberleben ($p = 0,009$ für aGVHD Grad III-IV, $p = 0,021$ für extensive cGVHD, $p = 0,016$ für TRM, $p = 0,016$ für OS). (233) In einer großen retrospektiven Analyse des MDS-Subkomitees der EBMT gingen Kröger et al. (234) der Frage nach, ob ein junger HLA-*matched* Fremdspender einem HLA-identischen Familienspender bei der allogenen BSZT von älteren MDS-Patienten (≥ 50 Jahre) vorgezogen werden sollte (N = 719; *Matched* Fremdspender: n = 164, medianes Alter 34 Jahre; *Matched* Familienspender: n = 555, medianes Alter 56 Jahre). Die univariaten wie auch die multivariaten Analysen ergaben, dass MDS-Patienten, die mit einem jungen (< 30 Jahre) HLA-*matched* Fremdspender transplantiert wurden, ein signifikant besseres Gesamtüberleben hatten im Vergleich zu MDS-Patienten mit einem älteren Fremdspender (≥ 30 Jahre) oder im Vergleich zu Patienten mit einem Familienspender (5-J-OS: 40 % für MUD < 30 Jahre vs. 33 % für MUD ≥ 30 Jahre vs. 24 % für MRD, $p = 0,04$; MUD < 30 Jahre vs. MRD: HR: 0,65, $p = 0,03$). Interessanterweise konnte die Studie nur für Patienten mit einer Fremdspender-Transplantation, nicht aber für Patienten mit einer Familienspender-Transplantation einen unabhängigen Einfluss des Spenderalters nachweisen ($p = 0,2$ für Familienspender-Transplantationen und $p = 0,02$ für Fremdspender-Transplantationen). Kröger et al. vermuteten, dass der Einfluss des Spenderalters bei Familienspender-Transplantation durch das oftmals ähnliche Alter von Patient und Spender maskiert wurde (z.B. bei Geschwister-Spendern). Kröger et al. schlussfolgerten aus ihren Ergebnissen, dass bei der Transplantation von MDS-Patienten im Alter von 50 Jahren oder mehr ein junger (< 30 Jahre) HLA-*matched* Fremdspender einem HLA-*matched* Familienspender vorzuziehen ist. (234) Einer ähnlichen Frage wie Kröger et al. (234) gingen

auch Alousi et al. (413) nach. Das *Center for International Blood and Marrow Transplant Research* (CIBMTR) untersuchte insgesamt 2172 Patienten im Alter von ≥ 50 Jahren, die ihr Transplantat entweder von einem älteren Familienspender (≥ 50 Jahre, Medianes Alter: 58 Jahre, $n = 1415$) oder einem jungen HLA-*matched* Fremdspender (< 50 Jahre, medianes Alter: 34 Jahre, 9 % 8/8 HLA-*match*, 91 % 10/10 HLA-*match*, $n = 757$) erhielten. Obwohl das Spenderalter mit dem Patientenalter korrelierte, deuten die Analysen des CIBMTR an, dass Patienten mit einem *matched* Familienspender ab einer Spender-Altersschwelle von 67 Jahren ein schlechteres Ergebnis nach allogener BSZT erfuhren (*Matched* Familienspender ≥ 67 Jahre vs. 50-66 Jahre: HR: 1,47, $p < 0,001$ für Gesamtüberleben; HR: 1,55, $p = 0,002$ für Rezidivrate). Das Spenderalter bei Fremdspender-Transplantationen hatte hingegen keinen signifikanten Einfluss auf das Transplantationsergebnis (Vergleichsgruppen: 19-29 vs. 30-39 vs. 40-49 Jahre; $p = 0,550$). Auf dem Boden dieser Ergebnisse favorisierten Alousi et al. einen Familienspender an Stelle eines jüngeren Fremdspenders für eine allogene BSZT bei älteren Patienten ≥ 50 Jahren. Bei der Interpretation dieser Ergebnisse muss jedoch bedacht werden, dass die CIBMTR-Studie anders als die EBMT-Studie (Kröger et al.) (234) nicht nur MDS Patienten untersuchte, sondern auch lymphatische Leukämien und Lymphome (6-8 % ALL, 8 % CLL, 14-17 % NHL). Zudem wiesen die Vergleichsgruppen MUD einerseits und MRD andererseits signifikante Unterschiede im Hinblick auf die Diagnose und den Remissionsstatus auf. (413) In Anbetracht unserer Ergebnisse ist es wichtig anzumerken, dass für die Geschlechterkonstellationen zwischen Spender und Patient, weder in der CIBMTR-Studie noch in der EBMT-Studie, ein signifikanter Einfluss auf das Transplantationsergebnis verzeichnet wurde. (In der CIBMTR-Studie: weiblicher Spender/männlicher Patient vs. andere; In der EBMT-Studie: gleichgeschlechtliche- vs. nicht gleichgeschlechtliche-Konstellation). (234,413) Die Frage nach der Bedeutung des Spenderalters für die verschiedenen myeloischen und lymphatischen Erkrankungen im Rahmen der allogenen BSZT bleibt auch weiterhin spannend. Beispielsweise konnte eine kleine retrospektiven Studie von AML-Patienten, die in zweiter Remission transplantiert wurden, keine prognostische Bedeutung des Spenderalters nachweisen (Michelis et al., 2013) (393). Abschließend können wir festhalten, dass in unserem Hochrisiko-Kollektiv die Transplantation mit einem weiblichen Spender bei männlichen Patienten womöglich ein Protektivfaktor im Sinne eines verbesserten Gesamtüberlebens gewesen sein könnte. Aktuelle Studien legen jedoch nahe, dass das Alter des Spenders einen größeren Einfluss auf das Überleben nach einer allogenen BSZT hat als das Geschlecht.

5.3.4 Die Anzahl der Chemotherapiezyklen im Rahmen der Vortherapie

Die Anzahl der Chemotherapiezyklen vor einer allogenen BSZT, als ein quantitativer Marker für die kumulative Zytotoxizität der Vortherapie oder für die Chemoresistenz einer Erkrankung, wurde bislang nicht regelhaft in allen Studien zum Thema BSZT untersucht. In der vorliegenden Arbeit hatte die Anzahl der im Rahmen einer vorangegangenen Therapie applizierten Chemotherapiezyklen, einen signifikanten Einfluss auf die Rezidivrate, das krankheitsfreie und das Gesamtüberleben (< 5 vs. ≥ 5 Chemotherapiezyklen: 4-J-RR: 50 % vs. 70 %, p = 0,026; 4-J-DFS: 43 % vs. 0 %, p = 0,011; 4-J-OS: 66 % vs. 27 %, p = 0,018). In der multivariaten Analyse erwies sich die „Anzahl der Chemotherapiezyklen im Rahmen der Vortherapie“ als ein unabhängiger Prognosefaktor für das krankheitsfreie Überleben (HR: 1,84, 95%-KI: 1,04 - 3,28, p = 0,037). Überraschenderweise hatte die Anzahl der applizierten Chemotherapiezyklen im Rahmen der Vortherapie keinen Einfluss auf die therapieassoziierte Mortalität. Dabei hätten wir erwartet, dass Patienten mit einer intensiven Vortherapie, die mit der allogenen BSZT einhergehenden Komplikationen, in Folge der kumulativen Organotoxizität schlechter tolerieren würden als vergleichsweise Patienten ohne eine intensive Vortherapie. Die signifikante Erhöhung der Rezidivrate und der rezidivassoziierten Mortalität bei Patienten mit 5 oder mehr Chemotherapiezyklen in der Vorgeschichte deutet auf einen Selektionsmechanismus bei mehreren Chemotherapie-Folgen hin. Durch die repetitive Therapie mit verschiedenen Chemotherapeutika könnten chemoresistente Leukämiezellen selektioniert werden, die schließlich auf die Konditionierung vor allogener BSZT nicht mehr ansprechen und durch die immunvermittelte Leukämieabwehr nach einer allogenen BSZT nicht vollständig eliminiert werden. Ein Rezidiv nach der BSZT wäre die Folge. Diese Vermutung wird durch die Ergebnisse der Münchener Studiengruppe aus dem Jahr 2006 gestützt. Schmidt et al. (322) untersuchten in ihrer retrospektiven Studie ebenfalls den Einfluss der Vortherapie auf das Transplantatiosergebnis nach sequentieller Konditionierung und allogener BSZT. In der Analyse von 103 Patienten mit refraktärer AML (76 De Novo AML, 27 sekundäre AML) nach FLAMSA-RIC, erwies sich die Anzahl an Chemotherapiezyklen im Rahmen der Vortherapie als ein signifikanter Einflussfaktor für die Rezidivrate, nicht aber für die therapieassoziierte Mortalität. Sowohl in der univariaten als auch in der multivariaten Analyse, zeigten Patienten, die in der Vorgeschichte mit drei oder mehr Chemotherapiezyklen behandelt wurden, ein signifikant vermindertes krankheitsfreies und Gesamtüberleben (≤ 2 vs. > 2 Chemotherapiezyklen vor BSZT: p = 0,008 für DFS und OS in der univariaten Analyse; p = 0,002 für DFS und p = 0,007 für OS in der multivariaten Analyse). (322) Auch in einer retrospektiven Studie des EBMT aus dem Jahr 2011, die ihren Fokus auf Patienten mit refraktärer AML nach Fremdspender-Transplantation legte (N = 168), war eine intensive Vortherapie ein unabhängiger Risikofaktor für

einen Tod nach allogener BSZT (2 vs. > 2 Chemotherapiezyklen vor BSZT: HR: 1,63, 95%-KI: 1,09 - 2,41, p = 0,016 für DFS und HR: 1,66, 95%-KI: 1,11 - 2,51, p = 0,014 für OS). Der Einfluss der Vortherapie auf die Rezidivrate und die therapieassoziierte Mortalität wurde jedoch nicht näher beschrieben. (281) Letztlich können wir davon ausgehen, dass beide Mechanismen, kumulative Organotoxizität und Selektion resistenter Leukämiezellen, das Transplantationsergebnis von Patienten mit einer intensiven Chemotherapie vor der allogenen BSZT beeinträchtigen. Welcher der beiden Mechanismen am Ende stärker zu tragen kommt, hängt womöglich von koexistenten Einflussfaktoren, wie beispielsweise dem Alter und der Komorbidität des Patienten, dem Vorliegen zytogenetischer und/oder molekulargenetischer Veränderungen in den Zellklonen, sowie der Art und Intensität der Vortherapie ab. Zudem muss bedacht werden, dass der Einflussfaktor „Anzahl der Chemotherapiezyklen im Rahmen der Vortherapie“ allein die Quantität der Vortherapie abbildet und nichts über die Qualität bzw. die genaue Intensität der Vortherapie aussagt. In der Zusammenschau mit anderen retrospektiven Studien, deuten unsere Ergebnisse an, dass sich eine intensive Vortherapie nachteilig auf das Transplantationsergebnis auswirken könnte. Die allogene BSZT als eine potentiell kurative Therapieoption, sollte daher, insbesondere bei Patienten mit den Merkmalen einer Hochrisikoerkrankung, frühzeitig in Erwägung gezogen werden.

5.3.5 Die Zytogenetik

Der Karyotyp, der zum Zeitpunkt der allogenen BSZT bekannt ist, zählt zu den einflussreichsten, der bislang bekannten Prognosefaktoren. Ein abnormaler oder ungünstiger Karyotyp ist mit einem erhöhten Rezidivrisiko, einem verminderten krankheitsfreien Überleben und/oder einem verminderten Gesamtüberleben nach einer allogenen BSZT assoziiert, sowohl in Patienten mit MDS (234,414–421) als auch in Patienten mit AML (327,400,416,422–424). Zahlreiche Studien, die den Erfolg unterschiedlicher Konditionierungsintensitäten beleuchteten, konnten diesen Zusammenhang bestätigen. (236,356,362,380,397,425)

In unserer Studie haben wir den Einfluss verschiedener zytogenetischer Merkmale geprüft: Angefangen mit dem einfachen Vergleich abnormaler Karyotyp vs. normaler Karyotyp bis hin zu der Analyse des monosomalen Karyotyps. Die vor Transplantation bekannten Karyotypen wurden nach den MRC-Kriterien (*Medical Research Council, United Kingdom, MRC*) (6) und den SWOG-Kriterien (*Southwest Oncology Group, United States of America, SWOG*) (328) klassifiziert. Ein ungünstiger Karyotyp klassifiziert nach den MRC-Kriterien war ein Risikofaktor für ein Rezidiv und einen therapieassoziierten Tod nach der allogenen BSZT und resultierte in einem signifikant verminderten krankheitsfreien und Gesamtüberleben (4-J-OS: 50 % für *Unfavorable* vs. 94 % für Andere, p = 0,005; 4-J-DFS: 15 % für *Unfavorable* vs. 59 % für Andere, p = 0,006). Unsere multivariate Analyse führte zu dem Ergebnis, dass ein ungünstiger Karyotyp (*unfavorable*), klassifiziert nach den MRC-Kriterien, ein

unabhängiger Prädiktor für ein vermindertes krankheitsfreies Überleben nach BSZT war (HR: 1,85, 95%-KI: 1,08 - 3,19, $p = 0,026$). Darüber hinaus konnten wir auch eine Korrelation mit der therapieassoziierten Mortalität nachweisen. Neben dem Patientenalter, war der Karyotyp *unfavorable* gemäß MRC-Kriterien, der einzige unabhängige Risikofaktor für einen therapieassoziierten Tod nach BSZT (HR: 3,09, 95%-KI: 1,15 - 8,24, $p = 0,025$). Dieses Ergebnis unserer Studie stellt sich widersprüchlich zu den aktuellen Forschungsergebnissen dar. In zahlreichen Publikationen wurde eine Assoziation zwischen einem ungünstigen Karyotyp und einer erhöhten Rezidivrate, und in Folge dessen einem verminderten Gesamtüberleben, beobachtet. Eine Erhöhung der therapieassoziierten Mortalität in Abhängigkeit von der Zytogenetik wurde bislang noch nicht beschrieben.

Die Analysen des Gesamtkollektivs zum Einfluss des Karyotyps, klassifiziert nach den SWOG-Kriterien, erzielten keine signifikanten Ergebnisse. Auch in den beiden Studien der Münchener Arbeitsgruppe um Schmid et al., die 2005 und 2006 die Effektivität der sequentiellen Konditionierung mit FLAMSA-RIC untersuchten, hatte der Karyotyp klassifiziert nach den SWOG-Kriterien keinen Einfluss auf das Transplantationsergebnis. (295,298) Wie die Münchener Arbeitsgruppe betrachteten wir in unserer Studie ein Hochrisiko-Kollektiv. Im Hinblick auf das Merkmal Zytogenetik können wir in unserer Studie von einer nicht zu vernachlässigenden Stichprobenverzerrung (*Selection-Bias*) ausgehen. Beispielsweise hatte nur ein einziger Patient in unserem Kollektiv einen günstigen Karyotyp (*favorable*: $n = 1$). In dem Kollektiv, in dem die SWOG-Kriterien entwickelt wurden, waren die Patienten hingegen gleichmäßiger auf die vier Prognosegruppen verteilt ($n = 121/20\%$ in *favorable*, $n = 278/46\%$ in *intermediate*, $n = 184/30\%$ in *unfavorable*, $n = 26/4\%$ in *unknown*). (328) Im Vergleich zu der SWOG-Klassifikation hatte die MRC-Klassifikation in unserem Hochrisiko-Kollektiv eine größere Trennschärfe. Das mag daran liegen, dass die MRC-Kategorie *unfavorable* insgesamt weniger Abnormalitäten einschließt, einen komplexen Karyotyp über das Vorliegen von mindestens 5 Abnormalitäten definiert und die Abnormalität 11q23, die Deletionen del(9q) und del(7q) als *intermediate* wertet.

Tabelle 55 Unterschiede und Gemeinsamkeiten zwischen MRC- und SWOG-Klassifikation (6,328)

Prognosegruppen	MRC-Kriterien (6)	SWOG-Kriterien (328)	Gemeinsamkeit in der jeweiligen Kategorie
Favorable	inv16/t(16;16)/del(16q), t(15;17), t(8;21); Alle mit/ohne weitere Abn.	inv16/t(16;16)/del(16q), t(15;17), mit/ohne weitere Abn.; t(8;21) nur ohne del(9q) und ohne komplexen Karyotyp	inv16/t(16;16)/del(16q), t(15;17)
Intermediate	Normaler Karyotyp, 11q23 Abnormalität, + 8, del(9q), del(7q), +21, +22,	Normaler Karyotyp, +8, +6, -Y, del(12p)	Normaler Karyotyp, + 8
Unfavorable	del(5q)/-5, -7, abn(3q), t(6;9), t(9;22), komplexer Karyotyp (≥ 5 Abnormalitäten)	del(5q)/-5, -7/del(7q), abn 3q, 9q, 11q, 20q, 21q, 17p, t(6;9), t(9;22), komplexer Karyotyp (≥ 3 Abnormalitäten)	del(5q)/-5, -7, abn(3q), t(6;9), t(9;22)
Unknown	-Y, +6 del(12p) (nach SWOG <i>intermediate</i>), abn(20q), abn (21q), abn(17p) (nach SWOG <i>unfavorable</i>), alle Anderen	+21, +22 (nach MRC <i>intermediate</i>), alle Anderen	Alle Anderen

Armand et al. (327) veröffentlichten 2012 die Ergebnisse einer großen, retrospektiven Studie des CIBMTR (*Center for International Blood and Marrow Transplant Research*), die das prognostische Potential von sechs vorbestehenden Karyotyp-Klassifikationen vor dem Hintergrund der allogenen BSZT bei AML-Patienten in erster oder zweiter Remission untersuchte. Unter anderem wurde in dieser Studie auch die Aussagekraft der MRC- und SWOG-Kriterien überprüft. Wie in unserer Untersuchung, erzielte die MRC-Klassifikation, nicht aber die SWOG-Klassifikation, ein signifikantes Ergebnis in der multivariaten Analyse. Bei dem Vergleich zwischen *unfavorable* und *intermediate* Karyotyp gemäß den MRC-Kriterien hatten Patienten mit *unfavorable* Karyotyp ein 1,8-fach erhöhtes Risiko nach Transplantation zu versterben ($p = 0,0001$). Bei dem Vergleich aller sechs Klassifikationssysteme mittels Modell-Analysen, erzielte jedoch die im Jahr 2007 von der Bostoner Arbeitsgruppe entwickelte DFCI-Klassifikation (*Dana-Farber Cancer Institute/Brigham and Women's Hospital*) (416) die besten Vorhersagewerte, wenngleich die Unterschiede zwischen den einzelnen Klassifikationen sehr gering ausfielen (z.B. Model-Fit Score: 60 für DFCI, 56,3 für MRC und 49 für SWOG). Der Einfluss der Zytogenetik, klassifiziert anhand der sechs vorbestehenden Systeme, auf die rezidivassoziierte und therapieassoziierte Mortalität als potentielle Todesursachen und Zielvariablen wurde leider nicht näher untersucht. Auf dem Boden der Ergebnisse der *Multi-Center* Studie schlugen Armand et al. ein neues Stammzelltransplantations-spezifisches Karyotyp-Klassifikationssystem mit

drei Prognosegruppen vor (*favorable, intermediate, adverse*). In die Kategorie *favorable* wurden nur Patienten mit einer inv(16) aufgenommen. Die Kategorie *unfavorable* umfasste alle Patienten mit einem komplexen Karyotyp, definiert über das Vorliegen von ≥ 4 Abnormalitäten. Alle anderen Abnormalitäten fielen in die Kategorie *intermediate*. AML-Patienten, die anhand dieser drei Kategorien klassifiziert wurden, unterschieden sich signifikant im Hinblick auf die Rezidivrate, das krankheitsfreie Überleben und das Gesamtüberleben (5-J-OS: 64 % für *favorable*, 50 % für *intermediate*, 18 % für *adverse*, $p = 0,0001$). Die therapieassoziierte Mortalität hingegen war in den drei Risikokategorien ähnlich. (327) Da Armand et al. in ihrer Studie nur Patienten in CR1 und CR2 betrachteten, ist es fraglich ob das entwickelte SZT-spezifische Klassifikationssystem auch in Hochrisiko-Kollektiven seine prognostische Aussagekraft behält. Bislang konnte das prognostische Potential des CIBMTR-Klassifikationssystem noch nicht validiert werden. In einer retrospektiven *Single-Center* Studie aus dem Jahr 2015, die ihren Fokus ebenfalls auf die Transplantation von AML-Patienten in CR1 und CR2 richtete, hatte das CIBMTR- Klassifikationssystem keine Bedeutung für das *Outcome* nach allogener BSZT. (394) Im Unterschied zu den MRC-(6), SWOG-(328) und CIBMTR-(327) *Multi-Center* Studien betrachteten wir in unserer Studie nicht ausschließlich AML-Patienten. Wir führten daher ergänzende Subgruppen-Analysen anhand der Diagnosen De Novo AML einerseits und MDS/sAML andererseits durch. Hierbei fiel uns auf, dass sich das Transplantationsergebnis der einzelnen Karyotyp-Risikokategorien in Abhängigkeit von der Diagnose unterschied. In der De Novo AML-Subgruppe hatten Patienten mit einem unbekanntem Karyotyp (*unknown*) das beste krankheitsfreie und Gesamtüberleben. In unserem Patientenkollektiv könnte der unbekannt Karyotyp bei De Novo AML-Patienten ein Protektivfaktor gewesen sein. De Novo AML-Patienten mit einem normalen Karyotyp hatten wiederum ein ähnlich schlechtes Transplantationsergebnis wie Patienten mit einem ungünstigen Karyotyp (*unfavorable*). Dieses Ergebnis können wir darauf zurückführen, dass AML-Patienten trotz eines normalen Karyotyps oftmals Veränderungen auf der molekulargenetischen Ebene aufweisen, die mit einer schlechten Prognose assoziiert sein können. (416,426) Zudem sind in unserem Patientenkollektiv AML-Patienten mit Hochrisiko-Charakteristika und somit einer ohnehin sehr schlechten Prognose selektioniert worden. In der MDS/sAML-Subgruppe zeigten alle Patienten mit einem abnormalen Karyotyp eine auffällig hohe Rezidivrate. Patienten der Kategorie *intermediate/others* erreichten letztlich ein ähnliches krankheitsfreies und Gesamtüberleben, wie Patienten mit einem normalen Karyotyp. In der MDS/sAML-Subgruppe könnte ein *intermediate/others* Karyotyp somit ein Protektivfaktor gewesen sein.

Das zytogenetische Merkmal „komplexer Karyotyp“ war sowohl bei MDS/sAML Patienten als auch bei De Novo AML-Patienten mit einem verminderten Gesamtüberleben assoziiert, wenngleich die Ergebnisse das Signifikanzniveau nicht erreichten. Neben dem komplexen Karyotyp verspricht das zytogenetische Merkmal „monosomaler Karyotyp“ (MK) eine noch bessere Einschätzung der

Prognose vor einer allogenen BSZT. Gemäß der 2008 veröffentlichten Studie von Breems et al. (329) definiert sich ein monosomaler Karyotyp über das Vorliegen von zwei oder mehr autosomalen Monosomien oder durch eine Monosomie in Kombination mit mindestens einer strukturellen Abnormalität. (329,330) In unserem Hochrisiko-Kollektiv hatte das zytogenetische Merkmal „monosomaler Karyotyp“ einen signifikanten Einfluss auf das Transplantationsergebnis von Patienten mit einem MDS oder einer sekundären AML, nicht aber für Patienten mit einer De Novo AML. MDS/sAML-Patienten mit einem monosomalen Karyotyp rezidierten häufiger nach Transplantation und verstarben auch häufiger in Folge eines Rezidives im Vergleich zu MDS/sAML-Patienten, bei denen kein monosomaler Karyotyp nachgewiesen werden konnte (4-J-RR: 79 % vs. 60 %, $p = 0,035$; 4-J-DFS: 17 % vs. 36 %, $p = 0,029$; 4-J-OS: 33 % vs. 74 %, $p = 0,057$).

Mittlerweile existieren eine Vielzahl an Studien, die die prognostische Bedeutung des monosomalen Karyotyps sowohl für Patienten mit einer AML (329,330,427–432) als auch für Patienten mit einem MDS (433–435) bestätigen. Das *Center for International Blood and Marrow Transplant Research* (CIBMTR) veröffentlichte 2015 eine große retrospektive *Multi-Center* Studie (436), die den Einfluss des monosomalen Karyotyps vergleichend einerseits bei MDS-Patienten und andererseits bei AML-Patienten nach BSZT untersuchte (AML: $n = 240$ mit MK+ vs. $n = 3360$ mit MK-; MDS: $n = 221$ mit MK+ vs. $n = 1373$ mit MK-). Unabhängig von dem Alter der Patienten und der Konditionierungsintensität, zeigten sowohl MDS als auch AML Patienten ein signifikant schlechteres *Outcome*, wenn in der zytogenetischen Untersuchung vor allogener BSZT ein monosomaler Karyotyp nachgewiesen wurde. Für MDS-Patienten mit einem monosomalen Karyotyp waren das Rezidivrisiko und die therapieassoziierte Mortalität signifikant erhöht, das Gesamtüberleben signifikant vermindert (Multivariate Analyse: RR: 2,39 für RR, RR: 1,80 für TRM, RR: 2,02 für OS; p jeweils $< 0,01$). Für AML-Patienten mit einem monosomalen Karyotyp war das Rezidivrisiko signifikant erhöht und das Gesamtüberleben signifikant vermindert (RR: 1,98, $p < 0,01$ für RR; RR: 1,67; $p < 0,01$ für OS). Die therapieassoziierte Mortalität unterschied sich hingegen nicht zwischen MK+ und MK- AML-Patienten (RR: 1,01, $p = 0,90$). (436) Im Unterschied zu den Diagnose-Subgruppen in der CIBMTR-Studie von Pasquini et al., verglichen wir in unserer Studie MDS- und sAML-Patienten einerseits und De Novo AML-Patienten andererseits. Pasquini et al., hingegen, betrachteten in ihrer AML-Gruppe De Novo AML-Patienten ($n = 168$ MK+) und Patienten mit einer sekundären AML ($n = 71$ MK+) gemeinsam. (436) Dieser Unterschied in den Vergleichsgruppen könnte erklären, warum in unserer Studie ein signifikanter Einfluss des monosomalen Karyotyps in der Subgruppe MDS/sAML, nicht aber in der Subgruppe De Novo AML, gefunden wurde. Auch andere Studien, die den Einfluss des monosomalen Karyotyps auf das *Outcome* von AML-Patienten nach BSZT untersuchten, betrachten Patienten mit einer De Novo AML und einer sekundären AML gemeinsam. Andererseits muss auch in Betracht gezogen werden, dass die Vergleichsgruppe von De Novo AML-Patienten mit monosomalem

Karyotyp in unserer Studie sehr klein war (n = 6 für De Novo AML mit monosomalem Karyotyp vs. n = 46 für De Novo AML mit anderem Karyotyp).

Abschließend können wir festhalten, dass die Ergebnisse der allogenen BSZT nach FLAMSA-Mel für Patienten mit einem günstigen oder normalen Karyotyp ermutigend sind. Leider ist ein Hochrisiko-Profil häufig mit ungünstigen zytogenetischen und molekulargenetischen Merkmalen assoziiert. Ein ungünstiger Karyotyp, klassifiziert nach den MRC-Kriterien, war in unserem Hochrisiko-Kollektiv ein unabhängiger Risikofaktor für ein Rezidiv oder einen therapieassoziierten Tod nach der allogenen BSZT. Das zytogenetische Merkmal „monosomaler Karyotyp“ wurde als ein Risikofaktor für Patienten mit einem MDS oder einer sekundären AML identifiziert. Der monosomale Karyotyp war bei MDS/sAML-Patienten ein stärkerer Indikator für ein schlechtes Transplantationsergebnis als vergleichsweise ein komplexer Karyotyp. Im Kontext der aktuellen Studienlage, verdeutlichen unsere Ergebnisse auch, dass die prognostische Bedeutung des Karyotyps in Abhängigkeit von dem jeweiligen Klassifikationssystem, erheblich variieren kann. Anders als die MRC-Klassifikation, war die SWOG-Klassifikation in unserem Kollektiv ungeeignet, das Risiko durch einen ungünstigen Karyotyp eindeutig abbilden und abschätzen zu können. Unsere Studie unterstreicht daher die Notwendigkeit eines einheitlichen Klassifikationssystems der Zyto- und Molekulargenetik für Patienten, die allogene Stammzelltransplantiert werden sollen. Eine solche Klassifikation könnte die Prognoseeinschätzung verbessern, therapeutische Entscheidungen vor und im Verlauf nach der Transplantation erleichtern, und die Vergleichbarkeit einzelner Studienergebnisse im Hinblick auf die Zytogenetik deutlich vereinfachen. Die Suche nach einer BSZT-spezifischen Klassifikation der Zytogenetik hat bereits begonnen. (327,416)

5.3.6 Der Remissionsstatus und der Blastenanteil im Knochenmark zum Zeitpunkt der Transplantation

In unserer Analyse war die allogene BSZT ohne zuvor eine komplette Remission (Non-CR) erreicht zu haben, ein signifikanter Risikofaktor für ein Rezidiv nach der BSZT (4-J-RR: 34 % für BSZT in CR vs. 66 % für BSZT in Non-CR, p = 0,009). Die Erhöhung der Rezidivrate bei Patienten, die nach einer Vortherapie keine komplette Remission erreichten, spiegelte sich in einer signifikanten Reduktion des Gesamtüberlebens wider (4-J-OS: 75 % für BSZT in CR vs. 43 % für BSZT in Non-CR, p = 0,011). Bei unserem Vergleich von Patienten mit und ohne Erreichen einer CR wurden lediglich Patienten mit einer Vortherapie berücksichtigt (n = 77). In unserem Patientenkollektiv wurde ein erheblicher Anteil an Patienten ohne eine Vortherapie, *First-line* transplantiert. Um dennoch eine Aussage über den Einfluss der Krankheitslast vor Transplantation auf das *Outcome* für das Gesamtkollektiv treffen zu können, untersuchten wir ergänzend den Einflussfaktor „Blastenanteil im Knochenmark“. Unsere multivariaten Analysen verdeutlichen, dass ein Blastenanteil im Knochenmark von $\geq 6\%$ zum

Zeitpunkt der BSZT der bedeutendste Risikofaktor im Hinblick auf das Gesamtüberleben war (HR: 2,64, 95%-KI: 1,17 - 5,99, $p = 0,020$). Ein Blastenanteil von $\geq 20\%$ erwies sich als ein unabhängiger Prädiktor für ein Rezidiv nach der allogenen BSZT (HR: 2,01, 95%-KI: 1,04 - 3,88, $p = 0,038$). Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit der aktuellen Studienlage. Der Remissionsstatus und der Blastenanteil im Knochenmark zum Zeitpunkt der allogenen BSZT zählen zu den bekanntesten und am besten untersuchten Prognosefaktoren. Zahlreiche Studien, an reinen MDS-Patientenkollektiven (370,372,437), gemischten AML- und MDS-Kollektiven (244,438,439) (236,239), und reinen AML-Patientenkollektiven (382,394,422,440–443) belegen die starke prognostische Bedeutung des Remissionsstatus zum Zeitpunkt der allogenen BSZT. Für Patienten mit einem fortgeschrittenen MDS oder einer sekundären AML, die sich zum Zeitpunkt der Transplantation nicht in kompletter Remission befinden, beträgt das geschätzte krankheitsfreie Überleben 18 %-23 % und das geschätzte Gesamtüberleben 22 - 25 % nach 5 Jahren, im Vergleich zu 37 -38 % und 41 - 44 % für Patienten mit einer kompletten Remission ($p < 0,001$ jeweils für DFS und OS). (239,437) Für MDS-Patienten, bei denen vor der Transplantation die höchste IPSS Risiko-Gruppe festgestellt wird (IPSS-R *very-high-risk*), beträgt das geschätzte Gesamtüberleben nach 5 Jahren sogar nur 16 %. (444) De Novo AML Patienten, die nicht in kompletter Remission transplantiert werden, erreichen nach RIC und allogener BSZT ein geschätztes krankheitsfreies Überleben von 34 % und ein Gesamtüberleben von 45 % nach 2 Jahren (2-J-DFS und 2-J-OS für Patienten mit BSZT in CR: 46 - 54 % und 60 - 65 %). (445)

Abschließend können wir zusammenfassen, dass Patienten mit einer hohen Krankheitslast zum Zeitpunkt der Transplantation auch nach der sequentiellen Therapie mit FLAMSA-Mel und der anschließenden frühen allogenen BSZT ein sehr hohes Rezidivrisiko hatten. Das insgesamt gute Langzeitüberleben, auch von Patienten mit einem hohen Blastenanteil im Knochenmark oder ohne Erreichen einer CR vor Transplantation, spricht für einen Fortschritt in der Rezidivtherapie im Verlauf nach der allogenen BSZT. Damit ein Rezidiv bei Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Neoplasien nach Transplantation erst gar nicht auftritt, bedarf es jedoch noch weiterer Arbeit.

5.3.7 Die Immunrekonstitution

Die Immunrekonstitution im Verlauf nach der allogenen BSZT unterschied sich in unserem FLAMSA-Mel behandelten Studienkollektiv in Abhängigkeit von den einzelnen Lymphozyten-Subpopulationen (CD4+ T-Helferzellen, CD8+ zytotoxische T-Zellen, CD56+ Natürliche Killerzellen, CD19+ B-Zellen). Die absoluten Zahlen der Lymphozyten lagen an Tag +28 bei 92 % der Patienten unter dem Normbereich, an Tag +100 waren es noch 72 % mit absoluten Lymphozytenzahlen unter der Norm. Die natürlichen Killerzellen regenerierten sich am schnellsten nach BSZT. Bereits in den ersten 50 Tagen nach BSZT normalisierten sich die NK-Zellzahlen (im Median). Die zytotoxischen T-Zellen lagen im Median

erstmals in dem Zeitraum Tag 50-100 in der Norm. Die Rekonstitution der B-Zellen war leicht verzögert. Die mediane B-Zellzahl erreichte erst in dem Zeitraum Tag 100-150 den Normbereich. Die Rekonstitution der T-Helferzellen war in unserem Studienkollektiv erheblich verzögert. Auch ein Jahr nach der allogenen BSZT erreichte die mediane T-Helferzellzahl nicht den Normbereich. Dieses Muster der Immunrekonstitution nach einer allogenen BSZT wird auch in aktuellen Studien beschrieben (446–448), wobei die verzögerte B-Zell-Rekonstitution und insbesondere die langanhaltend unterdrückte T-Helferzell-Rekonstitution im Verlauf nach BSZT auf die Wirkung der in-vivo T-Zell Depletion mit ATG hindeuten (449,450).

Betrachteten wir den Einfluss der frühen Lymphozyten-Rekonstitution auf das Transplantationsergebnis, so fiel auf, dass eine Lymphozytenzahl von 591/ μ l oder weniger an Tag +28 mit einer erhöhten Rezidivrate und therapieassoziiierter Mortalität einherging, während die kumulative Inzidenz der chronischen GVHD verringert war. Dem zu Folge zeigten Patienten mit \leq 591 Lymphozyten/ μ l an Tag +28 ein signifikant vermindertes krankheitsfreies Überleben (28 % vs. 46 %, $p = 0,031$ für DFS; 57 % vs. 66 %, $p = 0,124$ für OS). Ähnliche Ergebnisse fanden wir in der Stichpunkt-Analyse an Tag +100, jedoch erreichten die Ergebnisse hier keine statistische Signifikanz.

Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den bislang veröffentlichten Studien, die den Einfluss der frühen Lymphozyten-Rekonstitution auf das *Outcome* nach allogener BSZT untersuchten. (451–456) Beispielsweise zeigte die Arbeitsgruppe des Universitäts-Institutes für Hämatologie in Peking 2009 an einem allgemeinen Kollektiv mit 206 Patienten und 2011 an einem spezifischeren Kollektiv, bestehend aus 60 pädiatrischen Patienten mit verwandten haploidentischen Spendern, dass eine verzögerte Lymphozyten-Rekonstitution an Tag +30 ein unabhängiger Risikofaktor war. Lymphozytenzahlen unter dem Grenzwert von 300 Lymphozyten/ μ l an Tag +30 nach Transplantation waren signifikant mit einem verminderten krankheitsfreien Überleben und Gesamtüberleben, sowie einer erhöhten Rezidivrate und therapieassoziierten Mortalität assoziiert. (455) In dem pädiatrischen Patientenkollektiv wurde zudem betont, dass bei Patienten mit \geq 300 Lymphozyten/ μ l an Tag + 30 Infektions-assoziierte Todesfälle vergleichsweise seltener auftraten (26 % vs. 3 %, $p = 0,015$). (456) Auch Kumar et al. wiesen mit ihrer Studie darauf hin, dass geringe absolute Lymphozytenzahlen im Verlauf nach der allogenen BSZT ein wichtiger Prognosefaktor für ein Rezidiv nach Transplantation sein kann. In dieser Studie bestand das Studienkollektiv aus ALL-Patienten. Für die Stichpunkt-Analyse wurde der Tag +21 nach BSZT und ein Grenzwert von 175 Lymphozyten/ μ l ausgewählt. (457) Im Jahr 2012 fanden Han et al. in einem Kollektiv aus 69 Kindern, dass niedrige Lymphozytenzahlen unter 500/ μ l an Tag +30 nach BSZT mit einer signifikanten Verschlechterung des krankheitsfreien und des Gesamtüberlebens nach 5 Jahren einhergingen. Im Unterschied zu den zuvor genannten Studien, konnte hier jedoch kein eindeutiger Zusammenhang zwischen der frühen Lymphozyten-

Rekonstitution und der Rezidivrate nach BSZT beobachtet werden. Die therapieassoziierte Mortalität war hingegen signifikant mit dem Ausmaß der frühen Lymphozyten-Rekonstitution assoziiert. (458)

In unserer Studie mit dem Fokus auf Patienten mit Hochrisiko-Konstellationen, spielte die Geschwindigkeit und das Ausmaß der T-Helferzell-Rekonstitution eine bedeutende Rolle für die Prävention eines Rezidivs im Verlauf nach der allogenen BSZT. Patienten mit CD4+ T-Helferzellzahlen über dem Median zeigten eine signifikant verringerte Rezidivrate und ein signifikant verbessertes krankheitsfreies Überleben, insbesondere wenn die T-Helferzellzahlen nach Tag +100 oberhalb des Median lagen.

Die Forschung auf dem Gebiet der Immunrekonstitution nach BSZT enthüllte in dem vergangenen Jahrzehnt, dass die Regeneration der naiven T-Zellen (CD45RA+), der sogenannte Thymus-abhängige Weg, bis zu einem Jahr nach der Transplantation verzögert sein kann. (459,460) In den frühen Phasen nach einer allogenen BSZT regenerieren sich die T-Zellen durch die Proliferation von Spender-Gedächtnis-T-Zellen, die mit dem Transplantat übertragen werden. (461–463) Die T-Lymphozyten Rekonstitution, die wir in unserer Studie untersuchten (Tag 0 bis Tag +400 nach BSZT) bildet somit hauptsächlich den sogenannten Thymus-unabhängigen Weg der Rekonstitution ab. (464,465)

Bereits in früheren Studien, die HLA-*matched* Fremdspender-Transplantationen untersuchten, beobachteten Weiden et al., dass das Auftreten einer chronischen GVHD nach allogener BSZT von einem signifikanten *Graft-versus-Leukemia* Effekt begleitet wurde, der einem Rezidiv vorbeugend entgegenwirkte. (220,221) In unserer Studie, hatten Patienten mit niedrigen T-Helferzellzahlen im Verlauf nach BSZT ein verringertes Risiko eine chronische GVHD zu entwickeln, während das Rezidivrisiko deutlich erhöht war. Wir gehen davon aus, dass in unserem Hochrisiko-Kollektiv ein erheblicher Anteil des anti-leukämischen Effektes (*Graft-versus-Leukemia*-, GVL-Effekt) über die T-Helferzellen vermittelt wurde. Es ist bekannt, dass die Spender-T-Lymphozyten, auf dem Boden von Unterschieden in den Major- und Minor- Histokompatibilitäts-Antigenen zwischen Spender und Empfänger, die treibende Kraft der Immun-Antwort und des GVL-Effektes nach einer allogenen BSZT sind. (466–471)

Auch für die CD8+ zytotoxischen T-Zellen war in unseren Analysen ein Zusammenhang zwischen niedrigen Zellzahlen im Verlauf nach BSZT und einem erhöhten Rezidivrisiko angedeutet. Diese Beobachtung könnte dadurch erklärt werden, dass die T-Helferzellen und zytotoxischen T-Zellen intensiv miteinander interagieren und gemeinsam sowohl die humorale als auch die zellvermittelte Immunität initiieren, regulieren und erhalten. (472–474)

Mehrere Studien unterstützen unsere Beobachtungen. Sowohl für T-Helferzellen (CD4+ T-Lymphozyten) als auch für zytotoxische T-Zellen (CD8+ T-Lymphozyten) wurde eine anti-leukämische Wirksamkeit nach allogener BSZT beschrieben.

Eine Tier-Studie von Bonnet et al. verdeutlichte das anti-leukämische Potential der CD8+ T-Zellpopulation. (475) Im klinischen Rahmen zeigten Novitzky et al. 2002, dass ein Therapieversagen (*Graft Failure*, Rezidiv, andere Todesursache), signifikant mit einer niedrigen absoluten CD8+ T-Zellzahl zusammenhing, die 6 Monate nach BSZT erhoben wurde. (461) Auch Koehl et al. zeigten in einer kleinen prospektiven Studie an einem pädiatrischen Patientenkollektiv, dass das Überleben nach BSZT signifikant schlechter ausfiel, wenn die CD8+ T-Zellzahlen im ersten Jahr nach BSZT unter der fünften Perzentile der T-Lymphozyten-Normwerte von gleichaltrigen Kindern verblieben. (476)

Im Hinblick auf die prognostische Bedeutung der CD4+ T-Zell-Rekonstitution, konnten zahlreiche Studien zur Bedeutung der Immunrekonstitution nach allogener BSZT nachweisen, dass T-Helferzellen sowohl für die Infekt-Abwehr als auch für die Bekämpfung residueller Tumorzellen wichtig sind. (477–483)

Trotz großer Fortschritte, sind der genaue Mechanismus der Tumorzell-Abwehr durch das Immunsystem des Spenders sowie die komplexen Interaktionen zwischen Spender- und Empfänger-Zellen nicht vollständig geklärt. Im Jahr 2003 zeigten Parkman et al. anhand von unverwandten Nabelschnurblut-Transplantationen, dass insbesondere Antigen-spezifische T-Lymphozyten (mit proliferativer Antwort gegenüber einer oder mehrerer Herpes Virus Varianten) vermochten, die Rezidivrate nach BSZT zu verringern und das Gesamtüberleben zu verbessern. (484) Andere Studien identifizierten T-Lymphozyten mit Spezifität für Antigene, die nur auf Leukämie-Zellen exprimiert oder überexprimiert wurden (*bcr/abl*, *proteinase-3*), als Mediatoren der Tumorzell-Abwehr. (469,485) Da eine frühe T-Lymphozyten-Rekonstitution Rezidiven wie auch Infekt-assoziierten Todesfällen womöglich vorbeugen kann, verfolgen neue therapeutische Strategien das Ziel, die T-Zell-Rekonstitution nach allogener BSZT zu beschleunigen. Erst kürzlich zeigten Tierexperimente zu dem immunmodulierenden Effekt der Interleukine 15 und 7 vielversprechende Ergebnisse: Die T- und NK-Zell-Rekonstitution wurde durch die Interleukin-Applikation beschleunigt, mit der Folge eines gesteigerten GVL-Effektes (486–489).

Neben den T-Lymphozyten sind auch die CD56+ natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) als Mediatoren des antileukämischen Effektes (GVL-Effekt) bekannt. Die Forschung entdeckte Killerzell Immunoglobulin-ähnliche Rezeptoren (*Killer Cell Immunoglobulin-like Receptors, KIRs*) auf der Oberfläche von NK-Zellen und bestimmten T-Zell-Untergruppen. Durch die Interaktion der Killerzell Immunoglobulin-ähnlichen Rezeptoren mit den Membran-gebundenen MHC-Molekülen der Klasse I der Zielzellen wird die NK-Zellfunktion moduliert und reguliert. (490–493) Vor dem Hintergrund der allogenen BSZT, könnte eine Inkompatibilität der KIR-Epitope von Spender-NK-Zellen und Empfänger-Gewebe-Zellen sowie residuellen Leukämie-Zellen, *Graft-versus-Host*-(GVH-) und *Graft-versus-Leukemia*-(GVL-) Reaktionen hervorrufen. Einige Studien, die KIR-HLA *mismatched* Transplantationen untersuchten, deuten an, dass durch die Aktivität alloreaktiver Spender-NK-Zellen das Rezidivrisiko

nach BSZT verringert und das Gesamtüberleben verbessert werden kann. (494–498). Insbesondere bei Patienten mit einer AML oder einem MDS wurde ein verbessertes Überleben beobachtet, wenn auf den Empfänger-Zellen der HLA-Ligand für das die Spender-NK-Zell hemmende KIR fehlte. (499) Verschiedenen Arbeitsgruppen gelang es, den NK-Zell vermittelten GVL-Effekt für die selektive Elimination residueller Leukämie-Zellen zu nutzen, ohne gleichzeitig eine GVHD zu initiieren. (500–503) In der vorliegenden Arbeit hatte das Ausmaß der NK-Zell-Rekonstitution nach allogener BSZT keinen eindeutigen Einfluss auf die Rezidivrate, die therapieassoziierte Mortalität, das krankheitsfreie Überleben oder das Gesamtüberleben. Wir konnten lediglich einen Trend beobachten, dass NK-Zellzahlen über dem Median im Verlauf nach BSZT mit einem erhöhten Risiko, eine chronische GVHD zu entwickeln, einhergingen. Das erhöhte cGVHD-Risiko bei erfolgreicher NK-Zell-Rekonstitution könnte durch die Interaktion zwischen NK-Zellen und dendritischen Zellen erklärt werden. Über die dendritischen Zellen als Mediator können NK-Zellen Einfluss auf die T-Zell-Funktionen nehmen und auf diesem Wege GVL- wie auch GVH-Reaktionen auslösen. (504)

Auch im Hinblick auf die B-Lymphozyten-Rekonstitution nach allogener BSZT konnten wir in unserer Studie lediglich einen Trend erkennen: Geringe B-Lymphozyten-Zellzahlen im Verlauf nach BSZT waren tendenziell mit einem erhöhten Risiko eines therapieassoziierten Todes und einem verschlechterten Gesamtüberleben verbunden. Diese Beobachtung ist schlüssig, wenn man sich die herausragende Bedeutung der B-Lymphozyten und der humoralen Immunität im Allgemeinen für die Infekt-Abwehr vor Augen führt. (505)

Natürlich ist die Aussagekraft der Analysen zu dem Einfluss der Immunrekonstitution durch die geringe Größe der Vergleichsgruppen eingeschränkt. Nicht für alle Patienten unseres Hochrisiko-Kollektivs standen Informationen zu Immunstaten für die sechs betrachteten Zeiträume zur Verfügung. Zudem liefert der Immunstatus, der zu einem bestimmten Zeitpunkt im Verlauf nach der Transplantation angefertigt wird, immer nur eine Momentaufnahme des Immunsystems. Diese Momentaufnahme kann durch stattgefundenere oder akute klinische Ereignisse (Infektionen, GVHD, Eskalation der Immunsuppression, spezifische Medikamentennebenwirkungen u.a.) beeinflusst werden.

Dennoch liefern unsere Untersuchungen einen prägnanten Hinweis darauf, dass niedrige T-Helferzellzahlen (CD4+) im Verlauf nach der Transplantation den *Graft-versus-Leukemia* Effekt beeinträchtigen und somit ein Rezidiv begünstigen könnten. Ein Medikament, das in unserem Hochrisiko-Kollektiv mit der verzögerten Rekonstitution der Lymphozyten, insbesondere der CD4+ T-Lymphozyten, in Zusammenhang steht, ist das Anti-Human-T-Lymphozyten Immunglobulin (ATG).

5.3.8 Die in vivo T-Zell Depletion mit Anti-T-Lymphozyten Immunglobulin

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit legen nahe, dass die Anwendung von Anti-T-Lymphozyten Globulin (ATG-Fresenius®/Grafalon®, ATG) bei Patienten mit myeloischen Hochrisiko-Neoplasien ein Rezidiv nach allogener BSZT begünstigt. Insbesondere Patienten, die eine hohe Melphalan-Dosis von 175-200 mg/m² KO in Kombination mit 60 mg/kg KG ATG erhielten, entwickelten signifikant häufiger ein Rezidiv nach der Transplantation im Vergleich zu Patienten, die mit einer hohen Melphalan-Dosis von 175-200 mg/m² KO und ohne ATG behandelt wurden (4-J-RR: 65 % vs. 12 %, p = 0,011 und 4-J-DFS: 29 % vs. 83 %, p = 0,006). Des Weiteren weisen unsere Ergebnisse darauf hin, dass die Anwendung von ATG die T-Helferzell-Rekonstitution im Verlauf nach der allogenen BSZT signifikant verzögert. Geringe T-Helferzellzahlen im Verlauf nach Transplantation wiederum waren in unserem Hochrisiko-Kollektiv mit einem erhöhten Rezidivrisiko verbunden. Diese Beobachtung lässt darauf schließen, dass eine hohe ATG-Dosis die anti-leukämische Aktivität des Transplantats behindern könnte. Auf der anderen Seite konnte durch die Gabe von ATG die Inzidenz der chronischen *Graft-versus-Host Disease* (cGVHD) hoch effektiv vermindert werden.

Mit unseren univariaten und multivariaten Analyse-Ergebnissen konnten wir bestätigen, dass die Gabe von ATG eine effektive Methode zur Vermeidung einer chronischen GVHD im Verlauf nach allogener BSZT ist (4-J-I der *limited* cGVHD: 35 % für ATG vs. 65 % für kein ATG, p = 0,012; 4-J-I der *extensive* cGVHD: 2 % für ATG vs. 22 % für kein ATG, p = 0,006). Der Einfluss von ATG auf die Inzidenz der akuten *Graft-versus-Host Disease* (aGVHD) fiel weniger deutlich aus. Dennoch lassen unsere Ergebnisse darauf schließen, dass durch die Gabe von ATG schwerwiegende Formen der akuten GVHD seltener nach einer allogenen BSZT auftreten (4-J-I der aGVHD Grad III-IV: 7 % für ATG vs. 16 % für kein ATG, p = 0,178). Unsere Beobachtungen stehen diesbezüglich im Einklang mit aktuellen Studien, die die Rolle von ATG im Rahmen der allogenen BSZT untersuchten. Unabhängig vom Verwandtschaftsgrad zwischen Spender und Patient (12,29,30) und der HLA-Kompatibilität zwischen Spender und Patient (289,506,507), konnte durch den Einsatz polyklonaler Anti-T-Zell Seren die Inzidenz der GVHD nachweislich reduziert werden. In den soeben zitierten Studien, war die Stammzellquelle oftmals Knochenmark oder beides, Knochenmark und periphere Blutstammzellen. Kürzlich zeigten Wolschke et al., dass ATG auch sicher und effektiv ist, wenn periphere Blutstammzellen als alleinige Stammzellquelle eingesetzt werden. (508)

Jedoch fanden Wolschke et al. (508) und auch viele Andere bislang keinen Einfluss von ATG auf das krankheitsfreie und das Gesamtüberleben. Einzig frühere Studien von Kröger et al. (509) aus dem Jahr 2002 und von Zander et al. (287) aus dem Jahr 2003, lassen vermuten, dass der Einsatz von hoch dosiertem ATG bei CML-Patienten das Gesamtüberleben verbessern könnte. Kröger et al. zeigten in

einer kleinen retrospektiven Studie an Patienten mit niedrigrisiko myeloischen Leukämien und mit HLA-*matched* verwandten Spendern, dass die Gabe von ATG sowohl die Inzidenz der schwerwiegenden akuten GVHD-Formen als auch die Inzidenz der chronischen GVHD vermindert (n = 102, 44 % ATG, 56 % kein ATG; 25 % 30 mg/kg KG, 2 % 60 mg/kg KG, 16 % 90 mg/kg KG; Diagnosen: 55 CML erster chronischer Phase, 47 AML in erster CR). Die geschätzte Rezidivrate, das krankheitsfreie und Gesamtüberleben unterschieden sich nicht signifikant in Patienten mit oder ohne ATG-Gabe, wenn alle Patienten in die Analysen miteinbezogen wurden (5-J-OS: 66 % vs. 59 %; 5-J-DFS: 64 % vs. 55 %; 3-J-RR: 5 % vs. 15 %). Wurden einzelne Diagnose-Subgruppen getrennt voneinander betrachtet, zeigte sich in der CML-Patientengruppe ein verbessertes Gesamtüberleben im Falle einer ATG-Gabe (5 J-OS: 63 % vs. 48 % für CML und 68 % vs. 72 % für AML). Zu beachten ist jedoch, dass die Aussagekraft dieser Studie durch das retrospektive Studiendesign, sowie das Fehlen einer multivariaten Analyse begrenzt ist. Alle AML-Patienten und sechs der CML-Patienten, innerhalb der ATG-Gruppe, erhielten Etoposid (30-45 mg/kg KG) ergänzend zu der Standard-Konditionierung mit Busulfan (14-16 mg/kg KG) und Cyclophosphamid (120 mg/kg KG). Das verbesserte Gesamtüberleben von CML-Patienten, die mit ATG behandelt wurden, sowie die niedrige Rezidivrate in der gesamten ATG-Gruppe könnte somit auf die intensivere Konditionierung mit Busulfan, Cyclophosphamid und Etoposid zurück zu führen sein. (34)

Im September 2009 publizierten Finke et al. im Lancet die Ergebnisse der ersten internationalen, randomisierten und prospektiven Studie, die die Rolle von ATG im Rahmen der allogenen BSZT untersuchte. Bei HLA-*matched* Fremdspender-Transplantationen mit vorwiegend peripheren Blutstammzellen als Stammzellquelle (82 %), wurde eine Patientengruppe mit hochdosierter ATG-Gabe (n = 103, 60 mg/kg KG) und eine Kontrollgruppe ohne ATG-Gabe (n = 89) miteinander verglichen. Dieser kontrollierte Vergleich zeigte, dass Patienten, die zusätzlich zu einer normalen GVHD-Prophylaxe (Methotrexat + Cyclosporin) ATG erhielten, signifikant seltener eine schwere akute oder chronische GVHD entwickelten. Doch selbst in diesem prospektiven Studienansatz wurde kein Einfluss von ATG auf die Rezidivrate, das krankheitsfreie Überleben und das Gesamtüberleben beobachtet. Die Autoren zogen die Schlussfolgerung, dass eine ATG-Behandlung im Rahmen der peripheren hämatopoietischen Stammzelltransplantation von HLA-*matched* Fremd Spendern sicher sei und vor allem die Morbidität durch eine cGVHD reduzieren könne. (272)

In dem in unserer Studie betrachteten Hochrisiko-Kollektiv machten wir jedoch die Beobachtung, dass Patienten, die ATG als Teil des Konditionierungs-Regimes erhielten, einen signifikanten Anstieg der Rezidivrate und ein signifikant vermindertes krankheitsfreies Überleben hatten. Mit der multivariaten Analyse konnten wir nachweisen, dass der Einfluss von ATG unter anderen potentiellen Einflussfaktoren, wie Diagnose, Alter, Verwandtschaft zwischen Patient und Spender, Intensität der Vorbehandlung und Höhe der applizierten Melphalan-Dosis unabhängig war. Selbst das

Gesamtüberleben von Patienten mit einer ATG-Gabe war im Vergleich zu Patienten ohne eine ATG-Gabe tendenziell vermindert. Dies ist ein offensichtlicher Widerspruch zu den soeben dargestellten Ergebnissen der *Multi-Center* Studie. (272) Zu bedenken ist jedoch, dass wir ein reines Hochrisiko-Kollektiv untersuchten, wohingegen die *Multi-Center* Studie aus dem Jahr 2009 Patienten mit einem heterogenen Risikoprofil betrachtete. Das mediane Alter zum Zeitpunkt der Transplantation lag in unserem Hochrisiko-Kollektiv bei 52 Jahren (Spanne: 20-68). In der *Multi-Center* Studie hingegen, betrug das mediane Alter 35 Jahre (Spanne 20-58) in der ATG-Gruppe und 37 Jahre (18-56) in der Kontroll-Gruppe. Die unterschiedlichen Ausgangs-Bedingungen in unserer Studie, vor allem das höhere Rezidivrisiko unserer Patienten könnte erklären, warum ATG in unserem Studienkollektiv die Rezidivrate erhöhte, während in anderen Studien kein Einfluss ersichtlich war. Des Weiteren war unser Studienkollektiv homogener im Hinblick auf das Konditionierungs-Regime, da alle Patienten vor Transplantation nach dem FLAMSA-Melphalan Protokoll behandelt wurden. Die *Multi-Center* Studie (272) schloss einen beachtlichen Anteil von Patienten mit der Diagnose akute lymphatische Leukämie (ALL, n = 70) ein, bei denen polyklonale Anti-T-Zell Antikörper sogar einen direkten Anti-Tumor Effekt haben könnten (510–512). In unserer Studie fokussierten wir hingegen auf Patienten mit myeloischen Stammzellneoplasien. Alle genannten Faktoren, könnten in der Multicenterstudie von Finke et al. (272) letztlich den potentiellen Einfluss einer hochdosierten ATG-Gabe auf das Rezidivrisiko nach allogener BSZT maskiert haben.

Mittlerweile ist bekannt, dass eine ex vivo T-Zell Depletion, die Entfernung der T-Lymphozyten aus dem Stammzelltransplantat vor dessen Infusion in den Empfängerorganismus, zu einem signifikanten Anstieg der Rezidivrate nach BSZT führt und das Risiko eines Transplantatversagens (*Graft Failure*) erhöht. (513) Auch die in vivo T-Zell Depletion mit hochdosiertem Thymoglobulin® (ATG-T), einem breitspektrum Anti-Lymphozyten Immunglobulin-Serum aus dem Kaninchen, wurde verdächtigt ein Rezidiv nach einer allogenen BSZT zu begünstigen. In dem Jahr 1999 untersuchten Remberger et al. in einer nicht-randomisierten Studie den Einfluss von drei verschiedenen Medikamenten, die allesamt eine in vivo T-Zell Depletion im Spenderorganismus vermitteln: Das Anti-Human-T-Lymphozyten Antikörper Serum (ATG-Fresenius®/Grafalon®, ATG), das Anti-Thymozyten Antikörper Serum (Thymoglobulin®) und den Anti-CD3 Antikörper (OKT3®). In dieser Studie zeigten Patienten, die mit Thymoglobulin behandelt und anschließend mit einem Fremdspender transplantiert wurden, ein signifikant vermindertes krankheitsfreies Überleben, wobei dieses Ergebnis hauptsächlich durch eine sehr hohe Rezidivrate in Patienten mit der Diagnose CML zu Stande kam (DFS in der gesamten Studienkohorte: 40 % für Thymoglobulin vs. 61 % für ATG; RR in der CML Diagnose-Subgruppe: 61 % für Thymoglobulin vs. 10 % für ATG). (514)

Dass eine Behandlung mit Anti-Human-T-Lymphozyten Immunglobulin (ATG-Fresenius®/Grafalon®, ATG) das Rezidivrisiko nach einer allogenen BSZT ebenso erhöhen könnte, ist bislang nur in sehr

wenigen Studien angedeutet. In einer retrospektiven, nicht-randomisierten Studie von Zander et al. zeigten CML-Patienten (n = 188) eine 3-Jahres-Rezidivrate von 12 %, wenn sie mit ATG behandelt wurden im Vergleich zu 5 %, wenn sie nicht mit ATG behandelt wurden (p = 0,09). (287) Auch Marks et al. beobachteten im Rahmen ihrer bi-zentrischen, prospektiven, nicht-randomisierten Phase-2-Studie eine erhöhte Rezidivrate und ein vermindertes krankheitsfreies Überleben bei Patienten, die ATG im Rahmen der Konditionierung erhielten (ATG vs. kein ATG: 24 % vs. 16 %, p = 0,130 für RR; 38 % vs. 47 %, p = 0,140 für DFS). In der Studie von Marks et al. setzte sich die ATG-Gruppe jedoch ausschließlich aus Patienten zusammen, die mit einem Fremdspender transplantiert wurden. Die Patientengruppe ohne eine ATG-Gabe wurde mit Familienspendern transplantiert. Da das Ergebnis nicht signifikant war und die Vergleichsgruppen ATG vs. kein ATG nicht randomisiert waren, sahen Marks et al. keinen eindeutigen Zusammenhang zwischen der Anwendung von ATG und dem erhöhten Rezidivrisiko. (360) In einer kürzlich veröffentlichten Studie über den Einfluss von ATG auf das Transplantationsergebnis von AML/ALL-Patienten, die mit HLA-*matched* Familienspendern transplantiert wurden, wurde ein nicht-signifikanter Trend beobachtet: Die kumulative Rezidivrate nach 2 Jahren betrug 32,2 % in der ATG-Gruppe und 25,5 % in der Kein-ATG-Gruppe, p = 0,17 (Kröger et al., 2016; Prospektiv-randomisierte, multizentrische Phase-3-Studie; N = 168 , analysiert n = 155). (515) In dieser Studie wurden alle Patienten in kompletter Remission transplantiert und ATG wurde in der niedrigen Dosierung von 30 mg/kg KG verabreicht (Zu dieser Zeit empfohlene Dosierung 60 mg/kg KG). Das mediane Patientenalter war signifikant höher in der Kein-ATG-Gruppe (44 Jahre für kein ATG vs. 39 Jahre für ATG, p = 0,04). Zudem schloss die Studie neben Patienten mit einer AML auch Patienten mit einer ALL ein. Vierunddreißig Prozent der Patienten in der ATG-Gruppe und 24 % der Patienten in der Kein-ATG-Gruppe hatten die Diagnose akute lymphatische Leukämie (ALL). In der multivariaten Analyse war die Diagnose zum Zeitpunkt der BSZT der einzige signifikant getestete Einflussfaktor auf das krankheitsfreie und das Gesamtüberleben (ALL vs. AML: HR: 2,64, 95%-KI: 1,18 - 5,89, p = 0,02 für OS). Die Diagnose zum Zeitpunkt der Transplantation könnte demnach den Einfluss von ATG in der multivariaten Analyse verschleiern (ATG vs. kein ATG: HR: 1,03, 95%-KI: 0,57 - 1,88, p = 0,91 für DFS, HR: 0,74, 95%-KI: 0,34 - 1,65, p = 0,47 für OS). Das Ergebnis einer Subgruppenanalyse anhand der Diagnosen AML einerseits und ALL andererseits wäre interessant gewesen. Eine multivariate Analyse der Einflussfaktoren auf die Rezidivrate wurde leider nicht durchgeführt. (515)

In unserer Studie unterschieden sich die Vergleichsgruppen, ATG vs. kein ATG, im Hinblick auf die Häufigkeitsverteilung von Fremd- und Familienspendern signifikant. Neunundneunzig Prozent der Patienten, die mit einem Fremdspender transplantiert wurden, erhielten ATG im Rahmen der Konditionierung, während 80 % der Patienten mit einer Familienspender-Transplantation kein ATG erhielten. Fremdspender-Transplantationen gehen in der Regel mit einem gesteigerten GVL-Effekt zu

Gunsten eines niedrigeren Rezidivrisikos nach BSZT einher. Andererseits ist die therapieassoziierte Mortalität oftmals in Folge einer gesteigerten GVHD-Rate nach Fremdspender-Transplantationen erhöht. (197,198,218,254–259) Der signifikante Anstieg der Rezidivrate, den wir in unserer Studie bei Patienten mit einer ATG-Gabe beobachteten, ist demnach höchstwahrscheinlich eine Folge der zu hochdosierten ATG-Applikation im Rahmen der Konditionierung. Darüber hinaus wurde die Transplantation mit einem Fremdspender als eine potentielle Störvariable in unserer multivariaten Analyse ausgeschlossen. Um den Einfluss möglicher intervenierender Faktoren noch weiter zu minimieren, wiederholten wir unsere univariaten und multivariaten Analysen in einem bereinigten Patientenkollektiv, indem die Vergleichsgruppe „ATG“ ausschließlich Patienten mit einem HLA-kompatiblen Fremdspender und die Vergleichsgruppe „Kein ATG“ nur Patienten mit einem HLA-identischen Familienspender enthielten. Selbst bei den Analysen in diesem Patientenkollektiv blieb der Einfluss von ATG auf die Inzidenz der GVHD, die Rezidivrate, das krankheitsfreie Überleben und die Immunrekonstitution bestehen (Ergebnisse sind in dieser Arbeit nicht im Detail dargestellt).

In einem weiteren Analyse-Schritt untersuchten wir die Dosis-Wirkung von ATG. Unsere Ergebnisse deuten an, dass die Rezidivrate, die therapieassoziierte Mortalität und das krankheitsfreie Überleben von der Höhe der applizierten ATG-Dosis abhängig waren. Vermutlich aufgrund der geringen Größe der Vergleichsgruppen waren die Ergebnisse jedoch nicht signifikant (30 mg/kg KG ATG vs. 60 mg/kg KG ATG: 54 % vs. 70 %, $p = 0,351$ für RR; 8 % vs. 19 %, $p = 0,384$ für TRM; 42% vs. 24%, $p = 0,203$ für DFS). Eine frühe Studie der Münchener Arbeitsgruppe um Holler et al., die ebenfalls Patienten mit einem Hochrisiko-Profil betrachtete, bekräftigt unsere Beobachtungen zum Einfluss der Dosis-Wirkung von ATG. Auch hier zeigte sich bei Hochrisiko-Patienten eine signifikante Erhöhung der Rezidivrate, wenn 80 mg/kg KG ATG oder mehr im Rahmen der Konditionierung appliziert wurden. (516) Des Weiteren weist unsere Analyse zur ATG-Dosis-Wirkung darauf hin, dass die Applikation einer 30 mg/kg ATG-Dosis das Auftreten einer *extensive* chronischen GVHD genauso effektiv vermindert wie vergleichsweise die Applikation einer hohen 60 mg/kg ATG-Dosis (30 mg/kg ATG vs. 60 mg/kg ATG: 0 % vs. 2 %, $p = 0,631$ für *extensive* cGVHD). Die Inzidenz der *limited* Form der chronischen GVHD, wiederum, war bei der Applikation von nur 30 mg/kg ATG nahezu unverändert im Vergleich zu Patienten, die kein ATG im Rahmen der Konditionierung erhielten. Bei der Anwendung einer hohen 60 mg/kg ATG-Dosis waren sowohl die Inzidenzen der *limited* als auch der *extensive* Form der chronischen GVHD reduziert. Für Patienten, die unter einer Hochrisiko-Neoplasie leiden, könnte eine leichte *limited* chronische GVHD im Verlauf nach der Transplantation notwendig sein, um die im Körper verbleibenden Leukämiezellen zu kontrollieren und somit ein Rezidiv zu verhindern. Die hohe 60 mg/kg ATG-Dosierung könnte demnach in unserem Hochrisiko-Kollektiv neben der Infekt-Abwehr auch die Transplantat- bzw. Immunvermittelte Leukämie-Abwehr (GVL-Effekt), einhergehend mit einer leichten chronischen GVHD, beeinträchtigt haben.

Des Weiteren fanden wir heraus, dass bei Patienten mit einer ATG-Applikation die mediane Zeit bis zur Thrombozyten-Rekonstitution ($> 50 \times 10^9/l$) und bis zur Leukozyten-Rekonstitution ($> 1 \times 10^9/l$) signifikant verlängert waren (17 Tage vs. 11 Tage, $p = 0.0001$ für die mediane Zeit bis zur Leukozyten-Rekonstitution; 32 Tage vs. 16 Tage, $p = 0,0001$ für die mediane Zeit bis zur Thrombozyten-Rekonstitution). Auch in einer neueren Studie aus dem Jahr 2013, beobachteten Wolschke et al. eine Verzögerung der Leukozyten- und Thrombozyten-Rekonstitution, wenn Patienten ATG im Rahmen der Konditionierung erhielten (ATG vs. kein ATG: 15 Tage vs. 13 Tage, $p = 0,001$ für die Leukozyten-Rekonstitution; 17 Tage vs. 13 Tage, $p = 0,001$ für die Thrombozyten-Rekonstitution). (508) In einer früheren Studie aus dem Jahr 2002, fanden Kröger et al., dass die mediane Zeit bis zur Thrombozyten-Rekonstitution ($> 20 \times 10^9/l$) in der ATG-Patientengruppe signifikant verlängert war, während sich die mediane Zeit bis zur Leukozyten-Rekonstitution ($> 1 \times 10^9/l$) nicht signifikant zwischen der ATG- und kein ATG-Patientengruppe unterschied (ATG vs. kein ATG: 24 Tage vs. 19 Tage, $p = 0,002$ für die mediane Zeit bis zur Thrombozyten-Rekonstitution; 16 Tage vs. 17 Tage, nicht signifikant für die mediane Zeit bis zur Leukozyten-Rekonstitution). (509) Der Frage nachgehend, welche Auswirkungen ein verzögertes *Engraftment* nach BSZT auf das Transplantationsergebnis haben könnte, fanden wir, dass eine mittlere Zeit bis zur Thrombozyten-Rekonstitution von 21 Tagen oder mehr mit einem erhöhten Risiko eines therapieassoziierten Todes und einem verringerten Gesamtüberleben einhergingen (21 % vs. 4 %, $p = 0,047$ für TRM; 52 % vs. 74 %, $p = 0,019$ für OS). Auch die Studienergebnisse von Ramírez et al. aus dem Jahr 2011 zeigen, dass Patienten mit niedrigen Thrombozytenzahlen im Verlauf nach der allogenen BSZT, ein deutlich höheres Risiko hatten an therapieassoziierten Komplikationen zu versterben. (517)

Da Beides, die ATG-Applikation vor BSZT einerseits und die verzögerte Rekonstitution der T-Lymphozyten nach BSZT andererseits in unserer Studie ein erhöhtes Rezidivrisiko und ein vermindertes krankheitsfreies Überleben mit sich führten, gingen wir ergänzend der Frage nach, welchen Einfluss ATG auf die Immunrekonstitution nach der allogenen BSZT hatte. Für die frühen Lymphozyten- und Leukozytenzahlen an Tag +28 und +100, sowie für die CD4+ T-Lymphozytenzahlen im Rahmen der Immunrekonstitution beobachteten wir einen signifikanten Einfluss der ATG-Gabe. Patienten, die im Rahmen der Konditionierung mit ATG behandelt wurden, zeigten in sechs aufeinanderfolgenden Zeiträumen nach der BSZT (Tag 0-50, Tag 50-100, Tag 100-150, Tag 150-200, Tag 200-300, Tag 300-400) im Median signifikant niedrigere CD4+ T-Lymphozytenzahlen.

Kürzlich veröffentlichte Studienergebnisse von Den Barber et al. weisen darauf hin, dass bei erwachsenen und älteren Menschen die Bereitstellung naiver T-Zellen aus dem Thymus vollständig fehlen könnte. Demnach würde beim Erwachsenen der Großteil naiver T-Zellen durch die reine Proliferation peripherer T-Zellen aufrechterhalten. (518) Vor diesem Hintergrund wird verständlich, warum eine ex vivo oder in vivo T-Zell Depletion im Rahmen einer allogenen BSZT beim erwachsenen

Individuum das Anwachsen und die Rekonstitution der T-Zellen nachhaltig beeinträchtigen kann. Darüber hinaus zeigten Studien, dass durch die T-Zell Depletion des Transplantates die Vielfalt der Gedächtnis-T-Zell-Rezeptoren deutlich eingeschränkt wird (519,520), mit der Folge, dass die Fähigkeit zur Infekt- und Leukämie-Abwehr insbesondere bei älteren Patienten abnimmt. (521)

Bosch et al. untersuchten 2011 an 125 Patienten den Einfluss von 4,5 mg/kg KG Thymoglobulin® (ATG-T) auf die Immunrekonstitution nach BSZT. An Tag +28 nach BSZT zeigten die Patienten mit einer ATG-T Behandlung deutlich niedrigere CD4+ und CD8+ T-Lymphozytenzahlen, sowie niedrigere B-Lymphozytenzahlen, im Vergleich zu Patienten ohne eine Thymoglobulin-Behandlung. Auch Bosch et al. beobachteten somit in aufeinanderfolgenden Zeiträumen eine signifikante Verzögerung der CD4+ T-Zell-Rekonstitution, um genau zu sein beider CD4+ Subpopulationen (naive und Gedächtnis-/Effektor-CD4+ Zellen). (522) Bereits in mehreren Studien mit dem Fokus auf Nabelschnurblut-Transplantationen zeigte sich ein ähnliches Muster einer verzögerten Immunrekonstitution, wenn Thymoglobulin® (ATG-T) vor der BSZT eingesetzt wurde. (523–526) Kürzlich erbrachte eine Zusammenarbeit zweier Arbeitsgruppen aus Utrecht und London, dass die Anwendung von 10 mg/kg KG ATG-T im Rahmen der allogenen BSZT eindeutig mit einer verzögerten T-Zell-Rekonstitution und dem zu Folge einem Anstieg der viralen Infektionsrate und der Infekt-assoziierten Mortalität assoziiert war. Jedoch zeigte die Studie keine signifikanten Unterschiede zwischen den Vergleichsgruppen ATG-T vs. kein ATG-T im Hinblick auf die Rezidivrate, die therapieassoziierte Mortalität, das krankheitsfreie und Gesamtüberleben 3 Jahre nach der BSZT. (527) Die Ergebnisse der zuletzt genannten Studien, die den Einfluss von Thymoglobulin® (ATG-T) auf die Immunrekonstitution untersuchten, sind nicht uneingeschränkt mit unseren Studienergebnissen zu vergleichen. Thymoglobulin® ist nämlich ein Anti-Lymphozyten Serum, das durch die Immunisation von Kaninchen mit menschlichen Thymozyten gewonnen wird. Das Antikörperprofil und die Wirkmechanismen von Thymoglobulin® sind daher vielfältiger als die von ATG-Fresenius®/Grafalon® (ATG), bei dessen Herstellung Kaninchen mit einer menschlichen Jurkat T-lymhoblastischen Zelllinie immunisiert werden. Daher ist auch die Dosierung von ATG-T (4,5 bis 8 mg/kg KG) eine andere als die von ATG (30-60 mg/kg KG).

Im Hinblick auf die Natürliche Killerzell- und die B-Zell-Rekonstitution, zeigten Patienten des Düsseldorfer Kollektivs, die mit ATG behandelt wurden, nur in der späten Posttransplantationsphase, zwischen Tag 300 und 400, im Durchschnitt weniger Zellen im Vergleich zu Patienten, die nicht mit ATG behandelt wurden ($p = 0,052$ für NK-Zellen und $p = 0,049$ für B-Zellen). Eine prospektive *Single-Center* Studie der Uniklinik Würzburg (449), zeigte im Jahr 2010, dass der Einsatz von ATG im Rahmen der Konditionierung die Regeneration der CD19+ B-Zellen bis zu einem halben Jahr nach der allogenen BSZT verzögern kann. In dieser Studie erreichten die Patienten mit einer ATG-Behandlung normale B-Zellzahlen 1 Jahr nach der BSZT. Auffälligerweise wurde in dieser Studie eine niedrige 30

mg/kg ATG-Dosierung verwendet, während in der Düsseldorfer Studie 84 % der mit ATG-behandelten Patienten eine 60 mg/kg-Dosierung erhielt. (449)

In der Zusammenschau mit der aktuellen Studienlage führen unsere Ergebnisse vor Augen, dass eine *in vivo* T-Zell Depletion mit Anti-Lymphozyten Seren vor einer allogenen BSZT die Immunrekonstitution, insbesondere die CD4+ T-Zell-Rekonstitution nachhaltig beeinträchtigen kann. Des Weiteren verdeutlichen unsere Ergebnisse, dass der Einfluss von ATG auf die frühe Lymphozyten Rekonstitution und die T-Lymphozyten Rekonstitution im weiteren Verlauf nach BSZT von der applizierten Dosierung abhängig ist. Bemerkenswerterweise hatten die Hochrisiko-Patienten in unserem Kollektiv im Falle einer ATG-Gabe vor BSZT nicht nur eine beeinträchtigte Immunrekonstitution, sondern auch ein erhöhtes Rezidivrisiko und ein vermindertes krankheitsfreies Überleben nach der allogenen BSZT. Andererseits reduzierte die Gabe von ATG im Rahmen der Konditionierung effektiv die Schwere und Inzidenz der chronischen GVHD. Eine Reduktion der GVHD-Inzidenz bzw. die Begrenzung der GVHD auf milde Ausprägungen kann die Lebensqualität nach einer BSZT erheblich verbessern. (213,528,529) Das Auftreten einer GVHD wiederum hängt bislang unzertrennlich mit dem *Graft-versus-Leukemia* Effekt (GVL-Effekt) zusammen, da beide, GVHD und GVL, über vergleichbare immunvermittelte Mechanismen wirken. (220–222,467,530–533) Im Einklang mit dieser Theorie, hatten unsere Hochrisiko-Patienten, die bis Tag +200 keine chronische GVHD entwickelten, ein signifikant erhöhtes Risiko im weiteren Posttransplantationsverlauf ein Rezidiv zu erleiden. Abschließend können wir aus unseren Ergebnissen schlussfolgern, dass eine zu hohe Dosierung von ATG, insbesondere in Kombination mit einer Hochdosis-Konditionierung, die antileukämische Wirksamkeit des Transplantates dauerhaft einschränken und auf diesem Wege ein Rezidiv nach der Transplantation begünstigen kann. Um die Balance zwischen dem anti-leukämischen Effekt einerseits und der therapieassoziierten Toxizität andererseits in Patienten mit Hochrisiko-Neoplasien aufrechterhalten zu können, muss die Dosierung von ATG in Zukunft optimiert und klarer definiert werden. Die ATG-Dosis sollte bei jedem Patienten individuell, zum einen an das Rezidivrisiko und zum anderen an das GVHD-Risiko, angepasst werden. Hierzu bedarf es weiterer, randomisierter Studien, speziell in Hochrisiko-Kollektiven. Weitere Forschungsbestrebungen sollten auch auf neue Strategien abzielen, die die GVHD nach einer allogenen BSZT limitieren ohne gleichzeitig den GVL-Effekt einzuschränken. (534–536)

6 Anhang

Anhang 1 Klinische Kriterien für die Diagnose einer chronischen GVHD gemäß dem *NIH-Consensus*

	Diagnostische Kriterien der cGVHD (diagnoseführend)	Typische Symptome der cGVHD (spezifisch, jedoch nicht diagnoseführend)	Weitere Symptome der cGVHD (nicht spezifisch und nicht diagnoseführend)	Gemeinsame Symptome von aGVHD und cGVHD (nicht diagnoseführend)
Haut	<ul style="list-style-type: none"> - Poikiloderma - Lichen planus-Symptome - Scleroderma-Symptome - Morphea-Symptome - Lichen sclerosus Symptome 	<ul style="list-style-type: none"> - Depigmentation 	<ul style="list-style-type: none"> - Schweißdrüsenverlust - Ichthyosis - Keratosis pilaris - Hypopigmentation - Hyperpigmentation 	<ul style="list-style-type: none"> - Erythem - Makulo-papulöses Exanthem - Pruritus
Nägel		<ul style="list-style-type: none"> - Dystrophie - Longitudinale Riefen, - Einreißen und übereinander Schieben der Nägel - Onycholysis - Pterygium unguis - Nagelverlust ** (häufig symmetrisch) 		
Haare		<ul style="list-style-type: none"> - narbenbildende oder nicht narbenbildende Alopezie - schuppige, papulosquamöse Läsionen 	<ul style="list-style-type: none"> - Ausdünnung der Kopfhauthaare, typischerweise zunächst fleckhaft - brüchiges, stumpfes oder verdünntes Haar (ohne endokrine oder andere Ursache) - frühzeitiges Ergrauen der Haare 	
Leber				<ul style="list-style-type: none"> - Gesamt-Bilirubin oder AP > 2x des oberen Normwertes† - ALAT oder ASAT > 2x des oberen Normwertes†
Gastro-intestinal-trakt	<ul style="list-style-type: none"> - ösophageales Netz - Strikturen oder Stenose im oberen oder mittleren Drittel des Ösophagus** 		<ul style="list-style-type: none"> - exokrine pankreatische Insuffizienz 	<ul style="list-style-type: none"> - Anorexie - Übelkeit - Erbrechen - Diarrhö - Gewichtsverlust - Wachstums-Störungen bei Kindern
Augen		<ul style="list-style-type: none"> - neues Trockenheits-Gefühl, „Sand in den Augen“, Augenschmerzen† - symmetrische Konjunktivitis - Keratoconjunctivitis sicca† - konfluierende Areale einer punktförmigen Keratopathie 	<ul style="list-style-type: none"> - Photophobie - Periorbitale Hyperpigmentation - Blepharitis (Erythem der Augenlider mit Ödem) 	

Fortsetzung von Anhang 2 Klinische Kriterien für die Diagnose einer chronischen GVHD gemäß dem NIH-Consensus

	Diagnostische Kriterien der cGVHD (diagnoseführend)	Typische Symptome der cGVHD (spezifisch, jedoch nicht diagnoseführend)	Weitere Symptome der cGVHD (nicht spezifisch und nicht diagnoseführend)	Gemeinsame Symptome von aGVHD und cGVHD (nicht diagnoseführend)
Mund	<ul style="list-style-type: none"> - Lichenoides Symptome - Hyperkeratoische Plaques - Einschränkung der Mundöffnung durch Sklerose 	<ul style="list-style-type: none"> - Xerostomie - Mukozelen - Mukosale Atrophie - Pseudo-membranen** - Ulzerationen** 		<ul style="list-style-type: none"> - Gingivitis - Mukositis - Erythem - Schmerzen
Genitalien	<ul style="list-style-type: none"> - Lichen planus-Symptome - vaginale Vernarbung oder Stenosen 	<ul style="list-style-type: none"> - Erosionen** - Fissuren** - Ulzerationen** 		
Muskulo-skelettales System	<ul style="list-style-type: none"> - Fasziiitis - Gelenksversteifungen oder Kontrakturen durch Sklerose 	<ul style="list-style-type: none"> Myositis oder Polymyositis † 	<ul style="list-style-type: none"> - Ödeme - Muskel Krämpfe - Arthralgien oder Arthritis 	
Hämatopoetisches und Immunsystem			<ul style="list-style-type: none"> - Thrombozytopenie - Eosinophilie - Lymphopenie - Hypo- oder Hypergamma-globulinämie - Autoantikörper (AIHA, ITP) 	
Lunge	<ul style="list-style-type: none"> - Bronchiolitis obliterans diagnostiziert in der Lungenbiopsie 	<ul style="list-style-type: none"> - Bronchiolitis obliterans diagnostiziert mit PFTs und HR-CT** 		BOOP
Andere			<ul style="list-style-type: none"> - Perikard- oder Pleura-Erguss - Aszites - Periphere Neuropathie - Myasthenia gravis - Nephrotisches Syndrom - Kardiale Reizleitungsstörungen - Kardiomyopathie 	

*kann als Symptom der cGVHD gewertet werden, wenn die Diagnose einer cGVHD bestätigt wurde

**erfordert den Ausschluss einer Infektion, von Medikamenten-Nebenwirkungen, eines Malignoms u.a. Differentialdiagnosen

†die Diagnose der cGVHD erfolgt radiologisch oder durch eine Biopsie bzw. durch einen Schirmer-Test bei Augenbeteiligung
 GVHD = *Graft-versus-Host Disease* (Transplantat-gegen-Wirt Erkrankung), ALAT = Alanin-Aminotransferase, ASAT = Aspartat-Aminotransferase, BOOP = *Bronchiolitis Obliterans Organizing Pneumonia*, PFTs = *Pulmonary Function Tests* (Lungenfunktionstests), AIHA = Autoimmun hämolytische Anämie, ITP = Idiopathische thrombozytopenische Purpura

Anhang 3 Schweregrade der chronischen GVHD für die einzelnen Organbeteiligungen gemäß dem NIH-Consensus

	0	I	II	III
Allgemeinzustand	- ECOG-Score 0 oder KPS-/Lansky-Score 100% - asymptomatisch und vollständige Aktivität	- ECOG-Score 1 oder KPS-/Lansky-Score 80-90% - symptomatisch, aber keine Einschränkung der ALT - körperliche Einschränkung bei Anstrengung	- ECOG-Score 2 oder KPS-/Lansky-Score 60-70% - symptomatisch mit moderater Einschränkung der ALT, Patient kann sich jedoch noch selbst versorgen - wache Stunden außerhalb des Bettes > 50%	- ECOG-Score 3-4 oder KPS-/Lansky-Score < 60% - symptomatisch mit starker Einschränkung der ALT, Patient kann sich nur eingeschränkt selbst versorgen - wache Stunden außerhalb des Bettes < 50%
Haut, Haare, Nägel	- Haut, Haare und Nägel unauffällig - asymptomatisch	- betroffene KO < 18% - lichenoid oder Ichthyosis-artigen Veränderungen - keine sklerodermiformen Veränderungen	- betroffene KO 18-50% - lichenoid oder sklerodermiformen oder Ichthyosis-artige Veränderungen - keine „gefesselte Haut“ (Falten können noch erzeugt werden)	- betroffene KO > 50% - lichenoid oder sklerodermiforme oder Ichthyosis-artige Veränderungen - „gefesselte Haut“ (keine Faltenbildung möglich) oder - Einschränkung der ATL durch eingeschränkte Beweglichkeit der Gelenke, Ulzerationen oder Pruritus
Leber	- normale Leberfunktion	- Bilirubin < 3 mg/dl oder - ALAT, ASAT, AP < 2x des oberen Normwertes	- Bilirubin > 3mg/dl oder - ALAT, ASAT, AP 2-5x des oberen Normwertes	- Bilirubin > 5,5mg/dl oder - ALAT, ASAT, AP > 5x des oberen Normwertes
Gastrointestinaltrakt	- normales Körpergewicht - asymptomatisch	- Gewichtsverlust < 5% des KG - Anorexie, Schluckbeschwerden, Übelkeit, Erbrechen, abdominelle Schmerzen, Durchfall	- Gewichtsverlust 5-15% des KG - Anorexie, Schluckbeschwerden, Übelkeit, Erbrechen, abdominelle Schmerzen, Durchfall	- Gewichtsverlust > 15% des KG - parenterale Zusatzernährung oder Dilatation des Ösophagus erforderlich - Anorexie, Schluckbeschwerden, Übelkeit, Erbrechen, abdominelle Schmerzen, Durchfall
Augen	- Schirmer-Test > 10 s - asymptomatisch	- Schirmer-Test 6-10 s - Augentropfen < 3x pro Tag - milde Augentrockenheit ohne Beeinträchtigung des Sehvermögens - asymptomatische Keratokonjunktivitis sicca	- Schirmer-Test < 5 s - Augentropfen > 3x pro Tag oder - Verschluss des Tränenkanals oder - Beeinträchtigung des Sehvermögens - moderate symptomatische Keratokonjunktivitis sicca	- Schirmer-Test < 5 s - Bedarf spezieller Brillengläser - schwere Beeinträchtigung des Sehvermögens durch Pseudomembranen und Cornealulcera - schwere schmerzhafte Keratokonjunktivitis sicca

Fortsetzung von Anhang 4 Schweregrade der chronischen GVHD für die einzelnen Organbeteiligungen gemäß dem NIH-Consensus

Mund	- keine Veränderungen oder minimale unspezifische Veränderungen - asymptomatisch	- uneingeschränkte orale Ernährung - typische Veränderungen - milde Symptome	- partielle Einschränkung der oralen Einfuhr - typische Veränderungen - moderate Symptome	- erhebliche Einschränkung der oralen Einfuhr - typische Veränderungen - schwere Symptome
Genitaltrakt	- keine Veränderungen oder minimale unspezifische Veränderungen - asymptomatisch	- milde typische Veränderungen - kein Effekt auf den Koitus und minimale Beschwerden bei der gynäkologischen Untersuchung	- moderate typische Veränderungen - Schmerzen bei dem Koitus oder der gynäkologischen Untersuchung	- schweren typische Veränderungen (Strikturen, Verwachsungen der Labien, schwere Ulzerationen, Einführen des Spekulum nicht möglich) - Schmerzen bei dem Koitus oder der gynäkologischen Untersuchung
Muskeln, Faszien, Gelenke	- keine Kontrakturen - asymptomatisch	- keine Beeinträchtigung der ATL - leichte Steifheit der Arme und Beine	- milde Beeinträchtigung der ALT - Steifheit der Arme und Beine oder Gelenkkontrakturen oder Erythem durch Fasziiitis	- schwere Beeinträchtigung der ATL (z.B. Unfähigkeit sich die Schuhe zuzubinden, Knöpfe aufzuknöpfen oder sich anzuziehen) - schwere Gelenkkontrakturen
Lunge	- FEV1 < 80% oder LFS = 2 - asymptomatisch	- FEV1 60-79% oder LFS = 3-5 - milde Symptome (z.B. Luftnot bei Treppensteigen)	- FEV1 40-59% oder LFS = 6-9 - moderate Symptome (z.B. Luftnot bei Gehen auf ebener Fläche)	- FEV1 < 39% oder LFS = 10-12 - Ruhedyspnoe - Sauerstoffgabe erforderlich

ECOG-Score = Eastern Cooperative Oncology Group, KPS-Score = Karnofsky Performance Status Scale/ Karnofsky-Index, Lansky-Score: Zur Einschätzung der Lebensqualität bei Kindern, ATL = Aktivitäten des täglichen Lebens, KO = Körperoberfläche, ALAT = Alanin-Aminotransferase, ASAT = Aspartat-Aminotransferase, AP = Alkalische Phosphatase, KG = Körpergewicht, FEV1 = Forciertes expiratorisches Volumen in einer Sekunde, DLCO = Diffusing Capacity of the Lung for Carbon Monoxide (Kohlenstoffmonoxid-Diffusionskapazität der Lunge), LFS = Lung Function Score (globaler Lungenfunktionswert bei Diagnose der Bronchiolitis obliterans; Summe aus FEV1-Wert und DLCO-Wert mit dem Bereich 2-12); Anmerkung: Im Falle einer Diskrepanz von klinischen Symptomen und der Funktionsdiagnostik sollte der höhere von beiden Werten benutzt werden.

Anhang 5 Charakteristika des Düsseldorfer Patientenkollektivs im Vergleich zu anderen Studienkollektiven

Studie	N	Diagnose	MPA	Therapie/ In vivo T-Zell Depletion	MND
FLAMSA-Mel Uniklinik Düsseldorf	105	AML MDS MPN MDS/MPN	52 J (20-68)	FLAMSA-Mel DLI bei Rezidiv, ggf. im Verlauf bei ausbleibender GVHD <u>ATG bei URD und mismatched-BSZT</u>	1340 T (187-3564) 44,4 M (6,2-118,8) 3,7 J (0,5-9,8)
Retrospektive Single-Center Studien					
FM-RIC vs. FAI-NMC De Lima et al. 2004 (356)	94	MDS (26) AML (68)	FM: na FAI: na	FM (n = 62): Flu 100-150 mg/m ² , Mel 140 oder 180 mg/m ² FAI (n = 32): Flu 120 mg/m ² , Ara-C 4 g/m ² , Ida 36 mg/m ² <u>Keine in vivo T-Zell Depletion</u>	40 M (10-64)
FLAMSA-Bu- RIC vs. FBM-RIC Engel et al. 2014 (361)	114	AML (99) MDS (15)	66 FBM: 68 FLAMSA- Bu: 64	FLAMSA-Bu (n = 66): Flu 30 mg/m ² , Ara-C 2g/m ² , Amsa 100 mg/m ² , Bu 8 mg/kg FBM (n = 48): Flu 150 mg/m ² , BCNU 300 mg/m ² , Mel 110 mg/m ² <u>ATG bei allen BSZT</u>	31.4 M (4,4-97,5)
Retrospektive Multi-Center Studien					
FM/AL-RIC Tauro et al. 2005 (357)	76	AML MDS	52 (18-71)	FM/AL: Flu 150 mg/m ² , Mel 140 mg/m ² , Al 50-100 mg <u>Alemtuzumab bei allen BSZT</u>	36 M (13-70)
MAC vs. RIC Aoudjhane et al. EBMT 2005 (235)	722	De Novo AML	≥ 50 Jahre MAC: 54 (50-64) RIC: 57 (50-73)	Fludarabin-basierte Regime mit Bu (53%) oder Niedrigdosis TBI (24%) MAC (n = 407): Hochdosis TBI (> 10 Gy) oder Busulphan (> 8 mg/kg) oder andere MA Agentien RIC (n = 315): Niedrigdosis TBI (< 3 Gy) oder Bu (≤ 8 mg/kg) oder andere nicht-MA Agentien	MAC: 13 M (1-84) RIC: 14 M (1-67)
MAC vs. RIC Martino et al. EBMT 2006 (355)	836	MDS, sAML, tAML	MAC: 45 RIC: 56	MAC (n = 621): Cyclo & hochdosierte TBI (≥ 8 Gy) oder Cyclo & hochdosiertes Bu (16 mg/kg), mit/ohne weitere Zytostatika RIC (n = 215): Flu & 1 oder 2 Alkylantien (Bu 8-10 mg/kg, Mel 80-140 mg/m ² , Cyclo 600- 120 mg/m ² , Thio 5-10 mg/kg) oder Flu & Niedrigdosis TBI (2-4 Gy) <u>In beiden Gruppen: ATG oder Alemtuzumab (Anzahl unbekannt)</u>	MAC: 50 M RIC: 38 M

Fortsetzung von Anhang 6 Charakteristika des Düsseldorfer Patientenkollektivs im Vergleich zu anderen Studienkollektiven

Retrospektive Multi-Center Studien					
TBI-MIC Hegenbart et al. 2006 (255)	122	AML	58 (17-74)	RD-BSZT (n = 58) und URD-BSZT (n = 64): RD-BSZT: Low-dose TBI (2 Gy), zuvor ggf. Flu 90 58 (18-74) mg/m ² (bei 64 URD-BSZT & 39 RD-BSZT) URD-BSZT: 57 (17-69)	44 M (26-79)
FM/AL-RIC vs. FM-RIC Van Besien et al. 2009 (358)	154	AML MDS	FM/AL: 54 (11-77) FM: 55 (22-74)	FM/AL (n = 95): Flu 150 mg/m ² , Mel 140 mg/m ² , Al 100 mg FM (n = 59): Flu 100-150 mg/m ² , Mel 100 mg/m ² für CR1/ Mel 140 mg/m ² für NonCR oder > CR1 <u>FM/AL: Alemtuzumab bei allen BSZT;</u> <u>FM: Gemtuzumab Ozogamicin bei 15 BSZT, ATG bei 20 URD-BSZT</u>	-
Prospektive nicht-randomisierte 2-Center Studie					
FBM-RIC Marks et al. 2008 (360)	133	MN (81): AML (58) MDS (23) MPS (20, CML: 11); LN (32)	56 (23-73)	FBM: Flu 150 mg/m ² , BCNU 400 mg/m ² , Mel 140 mg/m ² (Patienten ≥ 55 J.: 300 mg/m ² & Mel 110 mg/m ²) <u>ATG bei allen URD-BSZT (20-60 mg/kg)</u>	58,5 M

HMC = High-dose Myeloablative Conditioning, MAC = Standard-dose Myeloablative Conditioning, RIC = Reduced-Intensity Conditioning, NMC = Non-Myeloablative Conditioning; MIC = Minimal-Intensity Conditioning; BSZT = Blutstammzelltransplantation, SZT = Allogene Stammzelltransplantation, RD = Verwandter Spender bzw. Familienspender, URD = Nicht-verwandter Spender bzw. Fremdspender, AML = Akute myeloische Leukämie, tAML = therapieassoziierte AML, MDS = Myelodysplastisches Syndrom, MPE = Myeloproliferative Erkrankungen: MPN und MDS/MPN, LN = Lymphatische Neoplasien, F = Fludarabin, M = Melphalan, Ara-C = Cytarabin, Amsa = Amsacrin, Ida = Idarubicin, BCNU = 1,3-Bis(2-Chloroethyl)-1-Nitrosourea/ Carmustin, ATG = Anti-Human-T-Lymphozyten Immunglobulin, AL = Alemtuzumab, na = not available, in der vorliegenden Studie nicht untersucht oder keine Angaben vorhanden

Anhang 7 Risikoprofil des Düsseldorfer Patientenkollektivs im Vergleich zu anderen Studienkollektiven

Studie	Risikoprofil/ Hochrisiko-Definition
FLAMSA-Mel Uniklinik Düsseldorf 2013	<u>Hochrisiko-Kollektiv:</u> - Ungünstige Zytogenetik - Frühes Rezidiv, ≥ 2 . Rezidiv, primäres Induktionsversagen, refraktäre Erkrankung
Retrospektive Single-Center Studien	
FM-RIC vs. FAI-NMC De Lima et al. 2004 (356)	<u>Hochrisiko-Kollektiv:</u> - AML/MDS mit fortgeschrittener Erkrankung und hohem Rezidivrisiko: Nur 16 % in CR, 3 % in ertser CR - (FAI bei älteren, komorbiden Pat., hier nur Familien-Donator)
FLAMSA-Bu-RIC vs. FBM-RIC Engel et al. 2014 (361)	<u>Kein reines Hochrisiko-Kollektiv:</u> - Rezidierte oder refraktäre AML - MDS RAEB-T FBM: 75 % Hochrisiko FLAMSA-Bu 63 % Hochrisiko
Retrospektive Multi-Center Studien	
FM/Al-RIC Tauro et al. 2005 (357)	<u>Hochrisiko-Kollektiv:</u> - Rezidierte oder primär refraktäre Erkrankung - Für Patienten in CR1: Therapieassoziierte oder sekundäre AML, ungünstiger Karyotyp, verlängerte Aplasie nach initialer Chemotherapie
MAC vs. RIC Aoudjhane et al. EBMT 2005 (235)	<u>Kein reines Hochrisiko-Kollektiv:</u> - Fortgeschrittener Krankheitsstatus zum Zeitpunkt der SZT (Non-CR): 27 % bei MAC und 30 % bei RIC - Ungünstige Zytogenetik: 12 % bei MAC und 16 % bei RIC
MAC vs. RIC Martino et al. EBMT 2006 (355)	<u>Kein reines Hochrisiko-Kollektiv:</u> - Ohne Vortherapie (<i>First-line</i>): 38 % in MAC vs. 42 % in RIC - Non-1.CR (Non-CR, 2.CR, refractory, progressive disease): 28 % in RMC vs 27 % in RIC - Hochrisiko-Karyotyp: 59 % in MAC vs. 66 % in RIC
TBI-MIC Hegenbart et al. 2006 (255)	<u>Kein reines Hochrisiko-Kollektiv:</u> - Hohes Alter: > 55 Jahre für RD-SZT, > 50 Jahre für URD-SZT - Jüngere Patienten mit hoher Komorbidität (z.B. Aspergillose) wurden eingeschlossen - Hochrisiko-Zytogenetik bei Diagnose - Persistierender Nachweis zytogen. oder molekulargen. Krankheitsmarker bei CR1 - Sekundäre AML, vorangegangene SZT - Insgesamt: 58 % \geq CR2; 15 % sAML; 17 % ungünstige Zytogenetik
FM/AL-RIC vs. FM-RIC Van Besien et al. 2009 (358)	<u>Kein reines Hochrisiko-Kollektiv:</u> FM/AL: 31 (33 %) Hochrisiko-Zytogenetik; Aktive AML bzw. MDS > RARS: 49 (52 %) FM: 22 (37 %) Hochrisiko-Zytogenetik; Aktive AML bzw. MDS > RARS: 37 (63 %)
Prospektive nicht-randomisierte 2-Center Studie	
FBM-RIC Marks et al. 2008 (360)	<u>Kein reines Hochrisiko-Kollektiv:</u> - 106 Patienten (80 %) mit fortgeschrittener Erkrankung zum Zeitpunkt der SZT: Primär refraktär, Rezidiv, \geq CR2 oder nicht vorbehandelt (<i>First-line</i>); 79 % der MDS/AML-Subgruppe zeigte eine fortgeschrittene Erkrankung

Anhang 8 Transplantationsergebnis nach dem FLAMSA-Mel Protokoll im Vergleich zu anderen Studienprotokollen

Studie	Geschätztes Gesamtüberleben (OS) & MS	Geschätztes krankheitsfreies Überleben (DFS)	Geschätzte Rezidivrate (RR), RRM & MT-R	Geschätzte therapieassoziierte Mortalität (TRM)
FLAMSA-Mel Uniklinik Düsseldorf 2013	66 % nach 1 J 62 % nach 2 J 62 % nach 3 J 59 % nach 4 & 5 J	55 % nach 1 J 47 % nach 2 J 40 % nach 3 J 36 % nach 4 & 5 J	RR 34 % nach 1 J 44 % nach 2 J 53 % nach 3 J 55 % nach 4 & 5 J RRM 22 % nach 1 J 26 % nach 2 J 28 % nach 4 & 5 J	10 % nach 100 T 15 % nach 1 J 15 % nach 2 J 15 % nach 3 J 18 % nach 4 & 5 J
Retrospektive Single-Center Studien				
FM-RIC vs. FAI-NMC De Lima et al. 2004 (356)	FM: 35 % nach 3 J FAI: 30 % nach 3 J	FM: 32 % nach 3 J FAI: 19 % nach 3 J	RR FM: 30 % nach 3 J FAI: 61 % nach 3 J RRM FM: 26 % nach 3 J FAI: 53 % nach 3 J	FM: 26 % nach 100 T 39 % nach 3 J FAI: 13 % nach 100 T FAI: 16 % nach 3 J
FLAMSA-Bu-RIC vs. FBM-RIC Engel et al. 2014 (361)	FLAMSA-Bu: 58 % nach 2 J FBM: 55 % nach 2 J	FLAMSA-Bu: 57 % nach 2 J FBM: 51 % nach 2 J	RR FLAMSA-Bu: 15 % nach 1 J 17 % nach 2 J FBM: 23 % nach 1 J 31 % nach 2 J	FLAMSA-Bu: 25 % nach 1 J FBM: 27 % nach 1 J
Retrospektive Multi-Center Studien				
FM-RIC Tauro et al. 2005 (357)	41 % nach 3 J	37 % nach 3 J	Keine Angaben zur geschätzten Rezidivrate. 27 von 76 Patienten (36 %) rezidierten im Beobachtungszeitraum.	9 % nach 100 T 19 % nach 1 J
MAC vs. RIC Aoudjhane et al. EBMT 2005 (235)	Kumulative Inzidenz (Kaplan-Meier Schätzung) MAC: 46 % nach 2 J RIC: 47 % nach 2 J	Kumulative Inzidenz (Kaplan-Meier Schätzung) MAC: 44 % nach 2 J RIC: 40 % nach 2 J	Kumulative Inzidenz (mit Tod als konkurrierendes Ereignis) MAC: 24 % nach 2 J RIC: 41 % nach 2 J	Kumulative Inzidenz (mit Tod als konkurrierendes Ereignis) MAC: 32% nach 2 J RIC: 18% nach 2 J
MAC vs. RIC Martino et al. EBMT 2006 (355)	MAC: 82 % nach 100 T 58 % nach 1 J 45 % nach 3 J RIC: 84 % nach 100 T 57 % nach 1 J 41 % nach 3 J	MAC: 72 % nach 100 T 50 % nach 1 J 41 % nach 3 J RIC: 76 % nach 100 T 45 % nach 1 J 33 % nach 3 J	MAC: 8 % nach 100 T 22 % nach 1 J 27 % nach 3 J RIC: 14 % nach 100 T 35 % nach 1 J 45 % nach 3 J	MAC: 20 % nach 100 T 28 % nach 1 J 32 % nach 3 J RIC: 15 % nach 100 T 20 % nach 1 J 22 % nach 3 J

Fortsetzung von Anhang 9 Transplantationsergebnis nach dem FLAMSA-Mel Protokoll im Vergleich zu anderen Studienprotokollen

Retrospektive Multicenter-Studien				
TBI-MIC	Gesamtkollektiv:	Gesamtkollektiv:	RR	3 % nach 100 T
Hegenbart et al. 2006 (255)	48 % nach 2 J (Kein signifikanter Unterschied zwischen Familienspender & Fremdspender)	44 % nach 2 J (Kein signifikanter Unterschied zwischen Familienspender & Fremdspender)	Unter Patienten in CR1: Familienspender: 50 % nach 2 J Fremdspender: 16 % nach 2 J (p = 0,005) RRM Familienspender: 47 % nach 2 J Fremdspender: 33 % nach 2 J	16 % nach 2 J Familienspender: 10 % nach 2 J Fremdspender: 22 % nach 2 J
Prospektive, nicht-randomisierte 2-Center Studie				
FBM-RIC	62 % nach 1 J	56 % nach 1 J	12 % nach 1 J	16 % nach 100 T
Marks et al. 2008 (360)	53 % nach 3 J 46 % nach 5 J AML/MDS (n = 81): 54 % nach 1 J 47 % nach 3 J 45 % nach 5 J Fortgeschrittene AML/MDS (n = 64): 55 % nach 1 J 45 % nach 3 J 42 % nach 5 J	46 % nach 5 J 42 % nach 5 J AML/MDS (n = 81): 47 % nach 1 J 41 % nach 3 J 41 % nach 5 J Fortgeschrittene AML/MDS (n = 64): 47 % nach 1 J 39 % nach 3 J 39 % nach 5 J	17 % nach 3 J 20 % nach 5 J RRM 20 % nach 5 J AML/MDS (n = 81): 15 % nach 1 J 20 % nach 3 J 22 % nach 5 J	26 % nach 1 J 34 % nach 5 J AML/MDS (n = 81): 17 % nach 1 J 31 % nach 3 J 34 % nach 5 J

J = Jahre, T = Tage, RR = Rezidivrate, RRM = Rezidivassozierte Mortalität, AML = Akute myeloische Leukämie, MDS = Myelodysplastisches Syndrom, HMC = *High-dose Myeloablative Conditioning*, MAC = *Standard-dose Myeloablative Conditioning*, RIC = *Reduced-Intensity Conditioning*, NMC = *Non-Myeloablative Conditioning*, MIC = *Minimal-Intensity Conditioning*, BSZT = Blutstammzelltransplantation, SZT = Allogene Stammzelltransplantation

Anhang 10 Graft-versus-Host Disease nach FLAMSA-Mel im Vergleich zu anderen Studienprotokollen

Studien	Inzidenz und Schwere der akuten GVHD	Inzidenz und Schwere der chronischen GVHD
FLAMSA-Mel Uniklinik Düsseldorf 2013	Kumulative Inzidenz: 42 % nach 100 Tagen - Grad I-II: 32 % - Grad III-IV: 10 % Inzidenz: 52 (50 %) - Grad I-II: 39 (37 %) - Grad III-IV: 13 (12 %) MT-aGVHD: 47 Tage (5-180 Tage)	Kumulative Inzidenz: 53 % nach 3 Jahren - <i>limited</i> : 44 % - <i>extensive</i> : 8 % Inzidenz: 44 (42 %) - <i>limited</i> : 37 (35 %) - <i>extensive</i> : 7 (7 %) MT-cGVHD: 140 Tage (74-791 Tage)
Retrospektive Single-Center Studien		
FM-RIC vs. FAI-NMC De Lima et al. 2004 (356)	Inzidenz: FM - Grad II-IV: (39 %) - Grad III-IV: (19 %) FAI - Grad II-IV: (25 %) - Grad III-IV: (11 %)	Inzidenz: FM: 39 % FAI: 27 %
FLAMSA-Bu-RIC vs. FBM-RIC Engel et al. 2014 (361)	Inzidenz: FLAMSA-Bu: - Grad III-IV: 18 % FBM: - Grad III-IV: 23 %	Inzidenz: FLAMSA-Bu: - <i>extensive</i> : 20 % FBM: - <i>extensive</i> : 17 %
Retrospektive Multi-Center Studien		
FM-RIC Tauro et al. 2005 (357)	Inzidenz: 21 (28 %) - Grad I-II: 21 (28 %) - Grad III-IV: 0 (0 %)	Inzidenz: 8 (11 %) - <i>limited</i> : 6 (8 %) - <i>extensive</i> : 2 (3 %)
MAC vs. RIC Aoudjhane et al. EBMT 2005 (235)	Kumulative Inzidenz Grad III-IV: MAC: 12 % nach 100 Tagen RIC: 8 % nach 100 Tagen Inzidenz: MAC: Grad II-IV: 114 (28%) - Grad II: 63 (15%) - Grad III-IV: 51 (13%) RIC: Grad II-IV: 64 (20%) - Grad II: 38 (12%) - Grad III-IV: 26 (8%)	Kumulative Inzidenz (mit Tod als konkurrierendes Ereignis): MAC: 56 % nach 2 Jahren RIC: 48 % nach 2 Jahren

Fortsetzung von Anhang 11 *Graft-versus-Host Disease* nach FLAMSA-Mel im Vergleich zu anderen Studienprotokollen

Retrospektive Multi-Center Studien		
MAC vs. RIC	Kumulative Inzidenz:	1-Jahres-Inzidenz:
Martino et al.	MAC: 65 % nach 100 Tagen	MAC: 210 (52 %)
EBMT 2006	RIC: 46 % nach 100 Tagen	- <i>limited</i> : 109 (27 %)
(355)	Inzidenz:	- <i>extensive</i> : 101 (25 %)
	MAC: 362 (58 %)	RIC: 59 (45 %)
	RIC: 92 (43%)	- <i>limited</i> : 31 (24 %)
	MT-aGVHD:	- <i>extensive</i> : 28 (21 %)
	MAC: 15 Tage (1-31 Tage)	MT-cGVHD: -
	RIC: 13 Tage (1-31 Tage)	
TBI-MIC	Inzidenz:	Inzidenz:
Hegenbart et al.	48 (40 %)	- mit Therapiebedarf: 44
2006 (255)	- Grad II: 34	- ohne Therapiebedarf/ <i>limited</i> : 16
	- Grad III-IV: 14	Kumulative Inzidenz:
		- <i>extensive</i> : 36 % nach 2 Jahren
Prospektive, nicht-randomisierte 2-Center Studie		
FBM-RIC	Kumulative Inzidenz (mit Tod als konkurrierendes Ereignis):	Kumulative Inzidenz (mit Tod als konkurrierendes Ereignis):
Marks et al.	- Grad III-IV: 23 %	32 % nach 1 J.
2008 (360)		33 % nach 2 J.

7 Literaturverzeichnis

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC Press Lyon Fr. 2008.
2. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, u. a. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 30. Juli 2009;114(5):937–51.
3. Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med*. Juli 1997;3(7):730–7.
4. Hope KJ, Jin L, Dick JE. Acute myeloid leukemia originates from a hierarchy of leukemic stem cell classes that differ in self-renewal capacity. *Nat Immunol*. Juli 2004;5(7):738–43.
5. Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 17. September 2015;373(12):1136–52.
6. Grimwade D, Walker H, Oliver F, Wheatley K, Harrison C, Harrison G, u. a. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. *Blood*. 1. Oktober 1998;92(7):2322–33.
7. Mardis ER, Ding L, Dooling DJ, Larson DE, McLellan MD, Chen K, u. a. Recurring mutations found by sequencing an acute myeloid leukemia genome. *N Engl J Med*. 10. September 2009;361(11):1058–66.
8. Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, Walker H, Chatters S, Goldstone AH, u. a. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood*. 22. Juli 2010;116(3):354–65.
9. Marcucci G, Haferlach T, Döhner H. Molecular genetics of adult acute myeloid leukemia: prognostic and therapeutic implications. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10. Februar 2011;29(5):475–86.
10. Thiede C, Steudel C, Mohr B, Schaich M, Schäkel U, Platzbecker U, u. a. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. *Blood*. 15. Juni 2002;99(12):4326–35.
11. Krzysztof Mrózek HD. Mrozek K, Dohner H, Bloomfield CD.. Influence of new molecular prognostic markers in patients with karyotypically normal acute myeloid leukemia: recent advances. *Curr Opin Hematol* 14: 106-114. *Curr Opin Hematol*. 2007;14(2):106–14.
12. Scholl S, Theuer C, Scheble V, Kunert C, Heller A, Mügge L-O, u. a. Clinical impact of nucleophosmin mutations and Flt3 internal tandem duplications in patients older than 60 yr with acute myeloid leukaemia. *Eur J Haematol*. März 2008;80(3):208–15.
13. Schlenk RF, Döhner K, Krauter J, Fröhling S, Corbacioglu A, Bullinger L, u. a. Mutations and Treatment Outcome in Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 1. Mai 2008;358(18):1909–18.

14. Port M, Böttcher M, Thol F, Ganser A, Schlenk R, Wasem J, u. a. Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication, nucleophosmin 1, and CEBPA gene mutations for acute myeloid leukemia patients with normal karyotype and younger than 60 years: a systematic review and meta-analysis. *Ann Hematol.* August 2014;93(8):1279–86.
15. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton D a. G, Gralnick HR, u. a. Proposals for the Classification of the Acute Leukaemias French-American-British (FAB) Co-operative Group. *Br J Haematol.* 1. August 1976;33(4):451–8.
16. J M Bennett CBB. Easter Cooperative Oncology Group Study of the Cytochemistry of Adult Acute Myeloid Leukemia by Correlation of Subtypes with Response and Survival. *Cancer Res.* 1981;41(11 Pt 2):4833–7.
17. Heaney ML, Golde DW. Myelodysplasia. *N Engl J Med.* 27. Mai 1999;340(21):1649–60.
18. Valent P, Horny H-P, Bennett JM, Fonatsch C, Germing U, Greenberg P, u. a. Definitions and standards in the diagnosis and treatment of the myelodysplastic syndromes: Consensus statements and report from a working conference. *Leuk Res.* Juni 2007;31(6):727–36.
19. Corey SJ, Minden MD, Barber DL, Kantarjian H, Wang JCY, Schimmer AD. Myelodysplastic syndromes: the complexity of stem-cell diseases. *Nat Rev Cancer.* Februar 2007;7(2):118–29.
20. Germing U, Kobbe G, Haas R, Gattermann N. Myelodysplastic Syndromes: Diagnosis, Prognosis, and Treatment. *Dtsch Ärztebl Int.* November 2013;110(46):783–90.
21. Bejar R, Steensma DP. Recent developments in myelodysplastic syndromes. *Blood.* 30. Oktober 2014;124(18):2793–803.
22. Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, Tauro S, Gundem G, Van Loo P, u. a. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood.* 21. November 2013;122(22):3616–3627; quiz 3699.
23. Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, Galili N, Nilsson B, Garcia-Manero G, u. a. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med.* 30. Juni 2011;364(26):2496–506.
24. Thol F, Kade S, Schlarman C, Löffeld P, Morgan M, Krauter J, u. a. Frequency and prognostic impact of mutations in SRSF2, U2AF1, and ZRSR2 in patients with myelodysplastic syndromes. *Blood.* 12. April 2012;119(15):3578–84.
25. Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, Okuno Y, Bacher U, Nagae G, u. a. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia.* Februar 2014;28(2):241–7.
26. Bejar R. Myelodysplastic Syndromes Diagnosis: What Is the Role of Molecular Testing? *Curr Hematol Malig Rep.* 1. Juli 2015;10(3):282–91.
27. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, u. a. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol.* Juni 1982;51(2):189–99.
28. Gattermann N, Aul C, Schneider W. Two types of acquired idiopathic sideroblastic anaemia (AISA). *Br J Haematol.* Januar 1990;74(1):45–52.
29. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J, u. a. The World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid

- tissues. Report of the Clinical Advisory Committee meeting, Airlie House, Virginia, November, 1997. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO*. Dezember 1999;10(12):1419–32.
30. Giagounidis A a. N, Germing U, Haase S, Hildebrandt B, Schlegelberger B, Schoch C, u. a. Clinical, morphological, cytogenetic, and prognostic features of patients with myelodysplastic syndromes and del(5q) including band q31. *Leukemia*. Januar 2004;18(1):113–9.
 31. Rowley JD. A New Consistent Chromosomal Abnormality in Chronic Myelogenous Leukaemia identified by Quinacrine Fluorescence and Giemsa Staining. *Nature*. 1. Juni 1973;243(5405):290–3.
 32. Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, O'Brien S, Kurzrock R, Kantarjian HM. The biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 15. Juli 1999;341(3):164–72.
 33. James C, Ugo V, Le Couédic J-P, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, u. a. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature*. 28. April 2005;434(7037):1144–8.
 34. Kralovics R. Genetic complexity of myeloproliferative neoplasms. *Leukemia*. 28. August 2008;22(10):1841–8.
 35. Oh ST, Simonds EF, Jones C, Hale MB, Goltsev Y, Gibbs KD, u. a. Novel mutations in the inhibitory adaptor protein LNK drive JAK-STAT signaling in patients with myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 12. August 2010;116(6):988–92.
 36. Vainchenker W, Delhommeau F, Constantinescu SN, Bernard OA. New mutations and pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 18. August 2011;118(7):1723–35.
 37. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, u. a. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med*. 19. Dezember 2013;369(25):2379–90.
 38. Broséus J, Park J-H, Carillo S, Hermouet S, Girodon F. Presence of calreticulin mutations in JAK2-negative polycythemia vera. *Blood*. 18. Dezember 2014;124(26):3964–6.
 39. Wang SA, Hasserjian RP, Fox PS, Rogers HJ, Geyer JT, Chabot-Richards D, u. a. Atypical chronic myeloid leukemia is clinically distinct from unclassifiable myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 24. April 2014;123(17):2645–51.
 40. Janov AJ, Leong T, Nathan DG, Guinan EC. Diamond-Blackfan anemia. Natural history and sequelae of treatment. *Medicine (Baltimore)*. März 1996;75(2):77–8.
 41. Donadieu J, Leblanc T, Bader Meunier B, Barkaoui M, Fenneteau O, Bertrand Y, u. a. Analysis of risk factors for myelodysplasias, leukemias and death from infection among patients with congenital neutropenia. Experience of the French Severe Chronic Neutropenia Study Group. *Haematologica*. Januar 2005;90(1):45–53.
 42. Woods WG, Roloff J., Lukens JN, Krivit W. The occurrence of leukemia in patients with the Shwachman syndrome. *J Pediatr*. 1981;(99):425–8.
 43. Dokal I. Dyskeratosis congenita in all its forms. *Br J Haematol*. 1. September 2000;110(4):768–79.

44. Godley LA. Inherited Predisposition to Acute Myeloid Leukemia. *Semin Hematol.* Oktober 2014;51(4):306–21.
45. Polprasert C, Schulze I, Sekeres MA, Makishima H, Przychodzen B, Hosono N, u. a. Inherited and Somatic Defects in DDX41 in Myeloid Neoplasms. *Cancer Cell.* 11. Mai 2015;27(5):658–70.
46. Zhang MY, Churpek JE, Keel SB, Walsh T, Lee MK, Loeb KR, u. a. Germline ETV6 mutations in familial thrombocytopenia and hematologic malignancy. *Nat Genet.* Februar 2015;47(2):180–5.
47. Churpek JE, Pyrtel K, Kanchi K-L, Shao J, Koboldt D, Miller CA, u. a. Genomic analysis of germ line and somatic variants in familial myelodysplasia/acute myeloid leukemia. *Blood.* 26. November 2015;126(22):2484–90.
48. Strom SS, Gu Y, Gruschus SK, Pierce SA, Estey EH. Risk factors of myelodysplastic syndromes: a case-control study. *Leukemia.* November 2005;19(11):1912–8.
49. Du Y, Fryzek J, Sekeres MA, Taioli E. Smoking and alcohol intake as risk factors for myelodysplastic syndromes (MDS). *Leuk Res.* Januar 2010;34(1):1–5.
50. Irons RD, Kerzic PJ. Cytogenetics in benzene-associated myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia: new insights into a disease continuum. *Ann N Y Acad Sci.* März 2014;1310:84–8.
51. Godley LA, Larson RA. Therapy-related myeloid leukemia. *Semin Oncol.* August 2008;35(4):418–29.
52. Klimek VM. Recent advances in the management of therapy-related myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Curr Opin Hematol.* März 2013;20(2):137–43.
53. Pedersen-Bjergaard J, Philip P, Larsen SO, Andersson M, Daugaard G, Ersbøll J, u. a. Therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. Cytogenetic characteristics of 115 consecutive cases and risk in seven cohorts of patients treated intensively for malignant diseases in the Copenhagen series. *Leukemia.* Dezember 1993;7(12):1975–86.
54. Estey EH. Prognosis and therapy of secondary myelodysplastic syndromes. *Haematologica.* 1. Januar 1998;83(6):543–9.
55. Liang Y, Van Zant G, Szilvassy SJ. Effects of aging on the homing and engraftment of murine hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood.* 15. August 2005;106(4):1479–87.
56. Rossi DJ, Bryder D, Zahn JM, Ahlenius H, Sonu R, Wagers AJ, u. a. Cell intrinsic alterations underlie hematopoietic stem cell aging. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 28. Juni 2005;102(26):9194–9.
57. Kamminga LM, de Haan G. Cellular Memory and Hematopoietic Stem Cell Aging. *Stem Cells.* 1. Mai 2006;24(5):1143–9.
58. Jamieson CHM, Barroga CF, Vainchenker WP. Miscreant myeloproliferative disorder stem cells. *Leukemia.* November 2008;22(11):2011–9.
59. Klepin HD, Rao AV, Pardee TS. Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes in Older Adults. *J Clin Oncol.* 20. August 2014;32(24):2541–52.

60. Robert Koch-Institut, Herausgeber. Krebs in Deutschland 2011/2012 [Internet]. Robert Koch-Institut; 2015. Verfügbar unter: http://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2015/krebs_in_deutschland_2015.pdf;jsessionid=AC130C5B41A767DE6A92D56A03B043C9.2_cid390?__blob=publicationFile
61. Howlader N, Noone A, Krapcho M, Garshell J, Miller D, Altekruse S, u. a. SEER Cancer Statistics Review (CSR), 1975-2012. National Cancer Institute. Bethesda, MD; 2014.
62. Hehn. Häufigkeit von Leukämien in Deutschland. Kompetenznetz akute und chronische Leukämien; Juli 2014. Verfügbar unter: <https://www.kompetenznetz-leukaemie.de/content/aerzte/epidemiologie/>
63. Greenlee RT, Hill-Harmon MB, Murray T, Thun M. Cancer Statistics, 2001. *CA Cancer J Clin.* 1. Januar 2001;51(1):15–36.
64. Estey E, Döhner H. Acute myeloid leukaemia. *The Lancet.* November 2006;368(9550):1894–907.
65. Deschler B, Lübbert M. Acute myeloid leukemia: Epidemiology and etiology. *Cancer.* 1. November 2006;107(9):2099–107.
66. Aul C, Giagounidis A, Germing U. Epidemiological Features of Myelodysplastic Syndromes: Results From Regional Cancer Surveys and Hospital-Based Statistics. *Int J Hematol.* Mai 2001;73(4):405–10.
67. Rollison DE, Howlader N, Smith MT, Strom SS, Merritt WD, Ries LA, u. a. Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001-2004, using data from the NAACCR and SEER programs. *Blood.* 1. Juli 2008;112(1):45–52.
68. Neukirchen J, Schoonen WM, Strupp C, Gattermann N, Aul C, Haas R, u. a. Incidence and prevalence of myelodysplastic syndromes: data from the Düsseldorf MDS-registry. *Leuk Res.* Dezember 2011;35(12):1591–6.
69. Anderson LA, McMullin MF. Epidemiology of MPN: What Do We Know? *Curr Hematol Malig Rep.* 17. August 2014;9(4):340–9.
70. Disperati P, Ichim CV, Tkachuk D, Chun K, Schuh AC, Wells RA. Progression of myelodysplasia to acute lymphoblastic leukaemia: Implications for disease biology. *Leuk Res.* Februar 2006;30(2):233–9.
71. Heaney ML, Soriano G. Acute Myeloid Leukemia Following a Myeloproliferative Neoplasm: Clinical Characteristics, Genetic Features and Effects of Therapy. *Curr Hematol Malig Rep.* 10. April 2013;8(2):116–22.
72. Calabretta B, Perrotti D. The biology of CML blast crisis. *Blood.* 1. Juni 2004;103(11):4010–22.
73. Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2014 update on diagnosis, monitoring, and management. *Am J Hematol.* 1. Mai 2014;89(5):547–56.
74. Apperley JF. Chronic myeloid leukaemia. *The Lancet.* April 2015;385(9976):1447–59.
75. Hiddemann W, Bartram C. (Hrsg.) *Die Onkologie.* Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2010. Verfügbar unter: <http://link.springer.com/book/10.1007%2F978-3-540-79725-8>

76. Geyer HL, Mesa RA. Therapy for myeloproliferative neoplasms: when, which agent, and how? *Blood*. 4. Dezember 2014;124(24):3529–37.
77. Tefferi A, Pardanani A. Myeloproliferative neoplasms: A contemporary review. *JAMA Oncol*. 1. April 2015;1(1):97–105.
78. Tefferi A, Elliott M. Thrombosis in myeloproliferative disorders: prevalence, prognostic factors, and the role of leukocytes and JAK2V617F. *Semin Thromb Hemost*. Juni 2007;33(4):313–20.
79. Mohammed Al AA. MOLECULAR MECHANISMS ASSOCIATED WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA: REVIEW ARTICLE. *Eur Sci J*. 2013;9:1857–7881.
80. Wang ML, Bailey NG. Acute Myeloid Leukemia Genetics: Risk Stratification and Implications for Therapy. *Arch Pathol Lab Med*. Oktober 2015;139(10):1215–23.
81. Cornelissen JJ, Gratwohl A, Schlenk RF, Sierra J, Bornhäuser M, Juliusson G, u. a. The European LeukemiaNet AML Working Party consensus statement on allogeneic HSCT for patients with AML in remission: an integrated-risk adapted approach. *Nat Rev Clin Oncol*. Oktober 2012;9(10):579–90.
82. Döhner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Burnett AK, u. a. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood*. 21. Januar 2010;115(3):453–74.
83. Schiller GJ. When a gold standard is made of tin. *Blood*. 25. November 2010;116(22):4386–7.
84. Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ, Büchner T, Willman CL, Estey EH, u. a. Revised Recommendations of the International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 15. Dezember 2003;21(24):4642–9.
85. Wheatley K, Burnett AK, Goldstone AH, Gray RG, Hann IM, Harrison CJ, u. a. A simple, robust, validated and highly predictive index for the determination of risk-directed therapy in acute myeloid leukaemia derived from the MRC AML 10 trial. United Kingdom Medical Research Council's Adult and Childhood Leukaemia Working Parties. *Br J Haematol*. Oktober 1999;107(1):69–79.
86. Pullarkat V, Aldoss I. Prognostic and therapeutic implications of early treatment response assessment in acute myeloid leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol*. Juli 2015;95(1):38–45.
87. Stone RM. New agents in post-remission therapy. *Best Pract Res Clin Haematol*. Dezember 2010;23(4):475–9.
88. Juliusson G, Antunovic P, Derolf A, Lehmann S, Möllgård L, Stockelberg D, u. a. Age and acute myeloid leukemia: real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry. *Blood*. 30. April 2009;113(18):4179–87.
89. Malcovati L, Hellström-Lindberg E, Bowen D, Adès L, Cermak J, del Cañizo C, u. a. Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European LeukemiaNet. *Blood*. 24. Oktober 2013;122(17):2943–64.
90. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz G, u. a. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 15. März 1997;89(6):2079–88.

91. Malcovati L, Porta MGD, Pascutto C, Invernizzi R, Boni M, Travaglino E, u. a. Prognostic Factors and Life Expectancy in Myelodysplastic Syndromes Classified According to WHO Criteria: A Basis for Clinical Decision Making. *J Clin Oncol*. 20. Oktober 2005;23(30):7594–603.
92. Kantarjian H, O'Brien S, Ravandi F, Cortes J, Shan J, Bennett JM, u. a. Proposal for a new risk model in myelodysplastic syndrome that accounts for events not considered in the original International Prognostic Scoring System. *Cancer*. 15. September 2008;113(6):1351–61.
93. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, Garcia-Manero G, Solé F, u. a. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 20. September 2012;120(12):2454–65.
94. Schanz J, Tüchler H, Solé F, Mallo M, Luño E, Cervera J, u. a. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10. März 2012;30(8):820–9.
95. Bejar R. Prognostic models in myelodysplastic syndromes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 6. Dezember 2013;504–10.
96. Voso MT, Fenu S, Latagliata R, Buccisano F, Piciocchi A, Aloe-Spiriti MA, u. a. Revised International Prognostic Scoring System (IPSS) Predicts Survival and Leukemic Evolution of Myelodysplastic Syndromes Significantly Better Than IPSS and WHO Prognostic Scoring System: Validation by the Gruppo Romano Mielodisplasie Italian Regional Database. *J Clin Oncol*. 20. Juli 2013;31(21):2671–7.
97. Steensma DP, Heptinstall KV, Johnson VM, Novotny PJ, Sloan JA, Camoriano JK, u. a. Common troublesome symptoms and their impact on quality of life in patients with myelodysplastic syndromes (MDS): results of a large internet-based survey. *Leuk Res*. Mai 2008;32(5):691–8.
98. Sekeres MA, Schoonen WM, Kantarjian H, List A, Fryzek J, Paquette R, u. a. Characteristics of US patients with myelodysplastic syndromes: results of six cross-sectional physician surveys. *J Natl Cancer Inst*. 5. November 2008;100(21):1542–51.
99. Fenaux P, Adès L. How we treat lower-risk myelodysplastic syndromes. *Blood*. 23. Mai 2013;121(21):4280–6.
100. Dinmohamed AG, Visser O, Van Norden Y, Huijgens PC, Sonneveld P, Van De Loosdrecht AA, u. a. Trends in incidence, initial treatment and survival of myelodysplastic syndromes: a population-based study of 5144 patients diagnosed in the Netherlands from 2001 to 2010. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. März 2014;50(5):1004–12.
101. Olnes MJ, Sloand EM. Targeting immune dysregulation in myelodysplastic syndromes. *JAMA*. 23. Februar 2011;305(8):814–9.
102. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, Santini V, Finelli C, Giagounidis A, u. a. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol*. März 2009;10(3):223–32.
103. Koreth J, Pidala J, Perez WS, Deeg HJ, Garcia-Manero G, Malcovati L, u. a. Role of reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in older patients with de novo myelodysplastic syndromes: an international collaborative decision analysis. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20. Juli 2013;31(21):2662–70.

104. Sekeres MA, Cutler C. How we treat higher-risk myelodysplastic syndromes. *Blood*. 6. Februar 2014;123(6):829–36.
105. Knipp S, Hildebrand B, Kündgen A, Giagounidis A, Kobbe G, Haas R, u. a. Intensive chemotherapy is not recommended for patients aged >60 years who have myelodysplastic syndromes or acute myeloid leukemia with high-risk karyotypes. *Cancer*. 2007;110(2):345–52.
106. Komrokji RS, Raza A, Lancet JE, Ren C, Taft D, Maniar M, u. a. Phase I clinical trial of oral rigosertib in patients with myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol*. August 2013;162(4):517–24.
107. Bachegowda L, Gligich O, Mantzaris I, Schinke C, Wyville D, Carrillo T, u. a. Signal transduction inhibitors in treatment of myelodysplastic syndromes. *J Hematol Oncol* *J Hematol Oncol*. 2013;6:50.
108. Garcia-Manero G, Fenaux P, Al-Kali A, et al. Paper: Overall Survival and Subgroup Analysis from a Randomized Phase III Study of Intravenous Rigosertib Versus Best Supportive Care (BSC) in Patients (pts) with Higher-Risk Myelodysplastic Syndrome (HR-MDS) after Failure of Hypomethylating Agents (HMAs). *Blood*. 6. December 2014;124(21):163.
109. Garcia-Manero G. Myelodysplastic syndromes: 2015 Update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol*. September 2015;90(9):831–41.
110. List AF, Dewald G, Bennett J, Giagounadis A, Raza A, Feldman E, u. a. Hematologic and cytogenetic (CTG) response to lenalidomide (CC-5013) in patients with transfusion-dependent (TD) myelodysplastic syndrome (MDS) and chromosome 5q31.1 deletion: Results of the multicenter MDS-003 Study. *ASCO Meet Abstr*. 1. Juni 2005;23(16_suppl):5.
111. Fenaux P, Giagounidis A, Selleslag D, Beyne-Rauzy O, Mufti G, Mittelman M, u. a. A randomized phase 3 study of lenalidomide versus placebo in RBC transfusion-dependent patients with Low-/Intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes with del5q. *Blood*. 6. Oktober 2011;118(14):3765–76.
112. Silverman LR, Demakos EP, Peterson BL, Kornblith AB, Holland JC, Odchimar-Reissig R, u. a. Randomized controlled trial of azacitidine in patients with the myelodysplastic syndrome: a study of the cancer and leukemia group B. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 15. Mai 2002;20(10):2429–40.
113. Kantarjian H, Issa J-PJ, Rosenfeld CS, Bennett JM, Albitar M, DiPersio J, u. a. Decitabine improves patient outcomes in myelodysplastic syndromes: results of a phase III randomized study. *Cancer*. 15. April 2006;106(8):1794–803.
114. Prébet T, Gore SD, Esterni B, Gardin C, Itzykson R, Thepot S, u. a. Outcome of high-risk myelodysplastic syndrome after azacitidine treatment failure. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20. August 2011;29(24):3322–7.
115. Baccarani M, Castagnetti F, Gugliotta G, Rosti G. A review of the European LeukemiaNet recommendations for the management of CML. *Ann Hematol*. April 2015;94 Suppl 2:141-147.
116. Talati C, Ontiveros EP, Griffiths EA, Wang ES, Wetzler M. How we will treat chronic myeloid leukemia in 2016. *Blood Rev*. März 2015;29(2):137–42.
117. Druker BJ, Lydon NB. Lessons learned from the development of an Abl tyrosine kinase inhibitor for chronic myelogenous leukemia. *J Clin Invest*. 1. Januar 2000;105(1):3–7.

118. O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, Gathmann I, Baccarani M, Cervantes F, u. a. Imatinib Compared with Interferon and Low-Dose Cytarabine for Newly Diagnosed Chronic-Phase Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 13. März 2003;348(11):994–1004.
119. Tokarski JS, Newitt JA, Chang CYJ, Cheng JD, Wittekind M, Kiefer SE, u. a. The structure of Dasatinib (BMS-354825) bound to activated ABL kinase domain elucidates its inhibitory activity against imatinib-resistant ABL mutants. *Cancer Res.* 1. Juni 2006;66(11):5790–7.
120. Shah NP, Tran C, Lee FY, Chen P, Norris D, Sawyers CL. Overriding imatinib resistance with a novel ABL kinase inhibitor. *Science.* 16. Juli 2004;305(5682):399–401.
121. Kantarjian HM, Shah NP, Cortes JE, Baccarani M, Agarwal MB, Undurraga MS, u. a. Dasatinib or imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: 2-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood.* 2. Februar 2012;119(5):1123–9.
122. Jabbour E, Kantarjian HM, Saglio G, Steegmann JL, Shah NP, Boqué C, u. a. Early response with dasatinib or imatinib in chronic myeloid leukemia: 3-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood.* 23. Januar 2014;123(4):494–500.
123. Weisberg E, Manley PW, Breitenstein W, Brügger J, Cowan-Jacob SW, Ray A, u. a. Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl. *Cancer Cell.* Februar 2005;7(2):129–41.
124. Saglio G, Kim D-W, Issaragrisil S, Le Coutre P, Etienne G, Lobo C, u. a. Nilotinib versus Imatinib for Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 17. Juni 2010;362(24):2251–9.
125. Larson RA, Hochhaus A, Hughes TP, Clark RE, Etienne G, Kim DW, u. a. Nilotinib vs imatinib in patients with newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia in chronic phase: ENESTnd 3-year follow-up. *Leukemia.* Oktober 2012;26(10):2197–203.
126. Hochhaus A, Saglio G, Hughes TP, Larson RA, Kim DW, Issaragrisil S, u. a. Long-term benefits and risks of frontline nilotinib vs imatinib for chronic myeloid leukemia in chronic phase: 5-year update of the randomized ENESTnd trial. *Leukemia.* 3. Februar 2016; 30(5):1044–54.
127. Cortes JE, Kantarjian HM, Brümmendorf TH, Kim DW, Turkina AG, Shen ZX, u. a. Safety and efficacy of bosutinib (SKI-606) in chronic phase Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia patients with resistance or intolerance to imatinib. *Blood.* 27. Oktober 2011;118(17):4567–76.
128. Gambacorti-Passerini C, Kantarjian HM, Kim DW, Khoury HJ, Turkina AG, Brümmendorf TH, u. a. Long-term efficacy and safety of bosutinib in patients with advanced leukemia following resistance/intolerance to imatinib and other tyrosine kinase inhibitors. *Am J Hematol.* September 2015;90(9):755–68.
129. Doan V, Wang A, Prescott H. Bosutinib for the treatment of chronic myeloid leukemia. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm.* 15. März 2015;72(6):439–47.
130. O'Hare T, Shakespeare WC, Zhu X, Eide CA, Rivera VM, Wang F, u. a. AP24534, a pan-BCR-ABL inhibitor for chronic myeloid leukemia, potently inhibits the T315I mutant and overcomes mutation-based resistance. *Cancer Cell.* 6. November 2009;16(5):401–12.
131. Zhou T, Commodore L, Huang WS, Wang Y, Thomas M, Keats J, u. a. Structural mechanism of the Pan-BCR-ABL inhibitor ponatinib (AP24534): lessons for overcoming kinase inhibitor resistance. *Chem Biol Drug Des.* Januar 2011;77(1):1–11.

132. Cortes JE, Kim DW, Pinilla-Ibarz J, le Coutre P, Paquette R, Chuah C, u. a. A phase 2 trial of ponatinib in Philadelphia chromosome-positive leukemias. *N Engl J Med*. 7. November 2013;369(19):1783–96.
133. Jain P, Kantarjian H, Jabbour E, Gonzalez GN, Borthakur G, Pemmaraju N, u. a. Ponatinib as first-line treatment for patients with chronic myeloid leukaemia in chronic phase: a phase 2 study. *Lancet Haematol*. 1. September 2015;2(9):e376–83.
134. Parker WT, Yeung DT, Yeoman AL, Altamura HK, Jamison BA, Field CR, u. a. The impact of multiple low-level BCR-ABL1 mutations on response to ponatinib. *Blood*. 14. Januar 2016;127(15):1870-80.
135. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF, u. a. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood*. 8. August 2013;122(6):872–84.
136. Jabbour E, Cortes J, Santos FPS, Jones D, O'Brien S, Rondon G, u. a. Results of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for chronic myelogenous leukemia patients who failed tyrosine kinase inhibitors after developing BCR-ABL1 kinase domain mutations. *Blood*. 31. März 2011;117(13):3641–7.
137. Jiang H, Xu LP, Liu DH, Liu KY, Chen SS, Jiang B, u. a. Allogeneic hematopoietic SCT in combination with tyrosine kinase inhibitor treatment compared with TKI treatment alone in CML blast crisis. *Bone Marrow Transplant*. September 2014;49(9):1146–54.
138. Saußele S, Silver RT. Management of chronic myeloid leukemia in blast crisis. *Ann Hematol*. April 2015;94 Suppl 2:159-165.
139. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin*. Oktober 2010;60(5):277–300.
140. Deininger M. Paper: International Randomized Study of Interferon Vs STI571 (IRIS) 8-Year Follow up: Sustained Survival and Low Risk for Progression or Events in Patients with Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase (CML-CP) Treated with Imatinib. *Blood*. 20. November 2009;114(22): 1126.
141. Sokal JE. Evaluation of survival data for chronic myelocytic leukemia. *Am J Hematol*. 1976;1(4):493–500.
142. Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, Gathmann I, Kantarjian H, Gattermann N, u. a. Five-Year Follow-up of Patients Receiving Imatinib for Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 7. Dezember 2006;355(23):2408–17.
143. Hehlmann R. How I treat CML blast crisis. *Blood*. 26. Juli 2012;120(4):737–47.
144. Castagnetti F, Gugliotta G, Breccia M, Stagno F, Iurlo A, Albano F, u. a. Long-term outcome of chronic myeloid leukemia patients treated frontline with imatinib. *Leukemia*. 2015;29(9):1823–31.
145. Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA, Harrington DH, Theil KS, Mohamed A, u. a. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group study. *Blood*. 15. Dezember 2000;96(13):4075–83.

146. Grimwade D, Walker H, Harrison G, Oliver F, Chatters S, Harrison CJ, u. a. The predictive value of hierarchical cytogenetic classification in older adults with acute myeloid leukemia (AML): analysis of 1065 patients entered into the United Kingdom Medical Research Council AML11 trial. *Blood*. 1. September 2001;98(5):1312–20.
147. Byrd JC, Mrózek K, Dodge RK, Carroll AJ, Edwards CG, Arthur DC, u. a. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood*. 15. Dezember 2002;100(13):4325–36.
148. Farag SS, Archer KJ, Mrózek K, Ruppert AS, Carroll AJ, Vardiman JW, u. a. Pretreatment cytogenetics add to other prognostic factors predicting complete remission and long-term outcome in patients 60 years of age or older with acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B 8461. *Blood*. 1. Juli 2006;108(1):63–73.
149. Mrózek K, Marcucci G, Paschka P, Whitman SP, Bloomfield CD. Clinical relevance of mutations and gene-expression changes in adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics: are we ready for a prognostically prioritized molecular classification? *Blood*. 15. Januar 2007;109(2):431–48.
150. Vyas P, Appelbaum FR, Craddock C. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for acute myeloid leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. Januar 2015;21(1):8–15.
151. Nicolini FE, Mauro MJ, Martinelli G, Kim D-W, Soverini S, Müller MC, u. a. Epidemiologic study on survival of chronic myeloid leukemia and Ph(+) acute lymphoblastic leukemia patients with BCR-ABL T315I mutation. *Blood*. 17. Dezember 2009;114(26):5271–8.
152. Kantarjian HM, Keating MJ, Walters RS, McCredie KB, Freireich EJ. The characteristics and outcome of patients with late relapse acute myelogenous leukemia. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. Februar 1988;6(2):232–8.
153. Weltermann A, Fonatsch C, Haas OA, Greinix HT, Kahls P, Mitterbauer G, u. a. Impact of cytogenetics on the prognosis of adults with de novo AML in first relapse. *Leukemia*. Februar 2004;18(2):293–302.
154. Orlowski RJ, Mangan JK, Luger SM. Approach to patients with primary refractory acute myeloid leukemia. *Curr Opin Hematol*. März 2015;22(2):97–107.
155. Sasine JP, Schiller GJ. Emerging strategies for high-risk and relapsed/refractory acute myeloid leukemia: novel agents and approaches currently in clinical trials. *Blood Rev*. Januar 2015;29(1):1–9.
156. Kern W, Haferlach T, Schoch C, Löffler H, Gassmann W, Heinecke A, u. a. Early blast clearance by remission induction therapy is a major independent prognostic factor for both achievement of complete remission and long-term outcome in acute myeloid leukemia: data from the German AML Cooperative Group (AMLCG) 1992 Trial. *Blood*. 1. Januar 2003;101(1):64–70.
157. Schlenk RF, Benner A, Hartmann F, del Valle F, Weber C, Pralle H, u. a. Risk-adapted postremission therapy in acute myeloid leukemia: results of the german multicenter AML HD93 treatment trial. *Leukemia*. 2003;17(8):1521–8.

158. Ravandi F. Primary refractory acute myeloid leukaemia – in search of better definitions and therapies. *Br J Haematol.* 1. November 2011;155(4):413–9.
159. Thol F, Schlenk RF, Heuser M, Ganser A. How I treat refractory and early relapsed acute myeloid leukemia. *Blood.* 16. Juli 2015;126(3):319–27.
160. Walter RB, Kantarjian HM, Huang X, Pierce SA, Sun Z, Gundacker HM, u. a. Effect of complete remission and responses less than complete remission on survival in acute myeloid leukemia: a combined Eastern Cooperative Oncology Group, Southwest Oncology Group, and M. D. Anderson Cancer Center Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1. April 2010;28(10):1766–71.
161. De Witte T, Suci S, Verhoef G, Labar B, Archimbaud E, Aul C, u. a. Intensive chemotherapy followed by allogeneic or autologous stem cell transplantation for patients with myelodysplastic syndromes (MDSs) and acute myeloid leukemia following MDS. *Blood.* 15. Oktober 2001;98(8):2326-2331
162. Kantarjian H, O'Brien S, Cortes J, Giles F, Faderl S, Jabbour E, u. a. Results of intensive chemotherapy in 998 patients age 65 years or older with acute myeloid leukemia or high-risk myelodysplastic syndrome: *Cancer.* 1. März 2006;106(5):1090–8.
163. Kantarjian H, Beran M, Cortes J, O'Brien S, Giles F, Pierce S, u. a. Long-term follow-up results of the combination of topotecan and cytarabine and other intensive chemotherapy regimens in myelodysplastic syndrome. *Cancer.* 2006;106(5):1099–109.
164. Adès L, Santini V. Hypomethylating agents and chemotherapy in MDS. *Best Pract Res Clin Haematol.* Dezember 2013;26(4):411–9.
165. Yakoub-Agha I, Deeg J. Are hypomethylating agents replacing induction-type chemotherapy before allogeneic stem cell transplantation in patients with myelodysplastic syndrome? *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant.* Dezember 2014;20(12):1885–90.
166. Beran M. Intensive chemotherapy for patients with high-risk myelodysplastic syndrome. *Int J Hematol.* August 2000;72(2):139–50.
167. Kantarjian H, Oki Y, Garcia-Manero G, Huang X, O'Brien S, Cortes J, u. a. Results of a randomized study of 3 schedules of low-dose decitabine in higher-risk myelodysplastic syndrome and chronic myelomonocytic leukemia. *Blood.* 1. Januar 2007;109(1):52–7.
168. Silverman LR, Fenaux P, Mufti GJ, Santini V, Hellström-Lindberg E, Gattermann N, u. a. Continued Azacitidine Therapy Beyond Time of First Response Improves Quality of Response in Patients With Higher-Risk Myelodysplastic Syndromes. *Cancer.* 15. Juni 2011;117(12):2697–702.
169. Sekeres MA, Steensma DP. Defining prior therapy in myelodysplastic syndromes and criteria for relapsed and refractory disease: implications for clinical trial design and enrollment. *Blood.* 24. September 2009;114(13):2575–80.
170. Sawyers CL, Hochhaus A, Feldman E, Goldman JM, Miller CB, Ottmann OG, u. a. Imatinib induces hematologic and cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in myeloid blast crisis: results of a phase II study. *Blood.* 15. Mai 2002;99(10):3530–9.

171. Lau A, Seiter K. Second-Line Therapy for Patients With Chronic Myeloid Leukemia Resistant to First-Line Imatinib. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. Juni 2014;14(3):186–96.
172. Estey EH. Treatment of relapsed and refractory acute myelogenous leukemia. *Leukemia*. März 2000;14(3):476–9.
173. Leopold LH, Willemze R. The Treatment of Acute Myeloid Leukemia in First Relapse: A Comprehensive Review of the Literature. *Leuk Lymphoma*. 1. Januar 2002;43(9):1715–27.
174. Craddock C, Tauro S, Moss P, Grimwade D. Biology and management of relapsed acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 1. April 2005;129(1):18–34.
175. Breems DA, Putten WLJV, Huijgens PC, Ossenkoppele GJ, Verhoef GEG, Verdonck LF, u. a. Prognostic Index for Adult Patients With Acute Myeloid Leukemia in First Relapse. *J Clin Oncol*. 20. März 2005;23(9):1969–78.
176. Giles F, O'Brien S, Cortes J, Verstovsek S, Bueso-Ramos C, Shan J, u. a. Outcome of patients with acute myelogenous leukemia after second salvage therapy. *Cancer*. 1. August 2005;104(3):547–54.
177. Hiddemann W, Martin WR, Sauerland CM, Heinecke A, Büchner T. Definition of refractoriness against conventional chemotherapy in acute myeloid leukemia: a proposal based on the results of retreatment by thioguanine, cytosine arabinoside, and daunorubicin (TAD 9) in 150 patients with relapse after standardized first line therapy. *Leukemia*. März 1990;4(3):184–8.
178. Kern W, Schoch C, Haferlach T, Braess J, Unterhalt M, Wörmann B, u. a. Multivariate analysis of prognostic factors in patients with refractory and relapsed acute myeloid leukemia undergoing sequential high-dose cytosine arabinoside and mitoxantrone (S-HAM) salvage therapy: relevance of cytogenetic abnormalities. *Leukemia*. Februar 2000;14(2):226–31.
179. Biggs JC, Horowitz MM, Gale RP, Ash RC, Atkinson K, Helbig W, u. a. Bone marrow transplants may cure patients with acute leukemia never achieving remission with chemotherapy. *Blood*. 15. August 1992;80(4):1090–3.
180. Fung HC, Stein A, Slovak M I, O'donnell MR, Snyder DS, Cohen S, u. a. A long-term follow-up report on allogeneic stem cell transplantation for patients with primary refractory acute myelogenous leukemia: impact of cytogenetic characteristics on transplantation outcome. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. Dezember 2003;9(12):766–71.
181. Basara N, Schulze A, Wedding U, Mohren M, Gerhardt A, Junghanss C, u. a. Early related or unrelated haematopoietic cell transplantation results in higher overall survival and leukaemia-free survival compared with conventional chemotherapy in high-risk acute myeloid leukaemia patients in first complete remission. *Leukemia*. 8. Januar 2009;23(4):635–40.
182. Duval M, Klein JP, He W, Cahn J-Y, Cairo M, Camitta BM, u. a. Hematopoietic Stem-Cell Transplantation for Acute Leukemia in Relapse or Primary Induction Failure. *J Clin Oncol*. 10. August 2010;28(23):3730–8.
183. Schlenk RF, Döhner K, Mack S, Stoppel M, Király F, Götze K, u. a. Prospective Evaluation of Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation From Matched Related and Matched Unrelated Donors in Younger Adults With High-Risk Acute Myeloid Leukemia: German-Austrian Trial AMLHD98A. *J Clin Oncol*. 20. Oktober 2010;28(30):4642–8.

184. Hahn T, McCarthy PL, Hassebroek A, Bredeson C, Gajewski JL, Hale GA, u. a. Significant Improvement in Survival After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation During a Period of Significantly Increased Use, Older Recipient Age, and Use of Unrelated Donors. *J Clin Oncol*. 1. Juli 2013;31(19):2437–49.
185. Deeg HJ, Shulman HM, Anderson JE, Bryant EM, Gooley TA, Slattery JT, u. a. Allogeneic and syngeneic marrow transplantation for myelodysplastic syndrome in patients 55 to 66 years of age. *Blood*. 15. Februar 2000;95(4):1188–94.
186. De Witte T, Hagemeyer A, Suci S, Belhabri A, Delforge M, Kobbe G, u. a. Value of allogeneic versus autologous stem cell transplantation and chemotherapy in patients with myelodysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukemia. Final results of a prospective randomized European Intergroup Trial. *Haematologica*. Oktober 2010;95(10):1754–61.
187. Mufti GJ, Potter V. Myelodysplastic syndromes: who and when in the course of disease to transplant. *Hematol Educ Program Am Soc Hematol Am Soc Hematol Educ Program*. 2012;2012:49–55.
188. Deeg HJ, De Lima M. Hematopoietic stem cell transplantation for older patients with myelodysplastic syndromes. *J Natl Compr Canc Netw*. 1. Oktober 2013;11(10):1227-33.
189. Platzbecker U. Who benefits from allogeneic transplantation for myelodysplastic syndromes?: new insights. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2013;2013:522-8.
190. Cutler C. Timing of allogeneic stem cell transplantation for myelodysplastic syndromes and aplastic anemia. *Hematol Educ Program Am Soc Hematol Am Soc Hematol Educ Program*. 5. Dezember 2014;2014(1):77–81.
191. Barbui T, Barosi G, Birgegard G, Cervantes F, Finazzi G, Griesshammer M, u. a. Philadelphia-Negative Classical Myeloproliferative Neoplasms: Critical Concepts and Management Recommendations From European LeukemiaNet. *J Clin Oncol*. 20. Februar 2011;29(6):761–70.
192. Mukherjee S, Boccaccio D, Sekeres MA, Copelan E. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for myelodysplastic syndromes: lingering uncertainties and emerging possibilities. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. März 2015;21(3):412–20.
193. Hilgendorf I, Greinix H, Halter JP, Lawitschka A, Bertz H, Wolff D. Long-term follow-up after allogeneic stem cell transplantation. *Dtsch Ärztebl Int*. 23. Januar 2015;112(4):51–8.
194. Foeken LM, Green A, Hurley CK, Marry E, Wiegand T, Oudshoorn M, u. a. Monitoring the international use of unrelated donors for transplantation: the WMDA annual reports. *Bone Marrow Transplant*. Mai 2010;45(5):811–8.
195. Arnold R, De Witte T, Van Biezen A, Hermans J, Jacobsen N, Runde V, u. a. Unrelated bone marrow transplantation in patients with myelodysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukemia: an EBMT survey. European Blood and Marrow Transplantation Group. *Bone Marrow Transplant*. Juni 1998;21(12):1213–6.
196. Ottinger HD, Ferencik S, Beelen DW, Lindemann M, Peceny R, Elmaagacli AH, u. a. Hematopoietic stem cell transplantation: contrasting the outcome of transplantations from HLA-identical siblings, partially HLA-mismatched related donors, and HLA-matched unrelated donors. *Blood*. 1. August 2003;102(3):1131–7.

197. Yakoub-Agha I, Mesnil F, Kuentz M, Boiron JM, Ifrah N, Milpied N, u. a. Allogeneic Marrow Stem-Cell Transplantation From Human Leukocyte Antigen–Identical Siblings Versus Human Leukocyte Antigen–Allelic–Matched Unrelated Donors (10/10) in Patients With Standard-Risk Hematologic Malignancy: A Prospective Study From the French Society of Bone Marrow Transplantation and Cell Therapy. *J Clin Oncol*. 20. Dezember 2006;24(36):5695–702.
198. Schetelig J, Bornhäuser M, Schmid C, Hertenstein B, Schwerdtfeger R, Martin H, u. a. Matched unrelated or matched sibling donors result in comparable survival after allogeneic stem-cell transplantation in elderly patients with acute myeloid leukemia: a report from the cooperative German Transplant Study Group. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10. November 2008;26(32):5183–91.
199. Gupta V, Tallman MS, He W, Logan BR, Copelan E, Gale RP, u. a. Comparable survival after HLA-well-matched unrelated or matched sibling donor transplantation for acute myeloid leukemia in first remission with unfavorable cytogenetics at diagnosis. *Blood*. 16. September 2010;116(11):1839–48.
200. Woolfrey A, Klein JP, Haagenson M, Spellman S, Petersdorf E, Oudshoorn M, u. a. HLA-C Antigen Mismatch Is Associated with Worse Outcome in Unrelated Donor Peripheral Blood Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. Juni 2011;17(6):885–92.
201. Weiden PL, Flournoy N, Thomas ED, Prentice R, Fefer A, Buckner CD, u. a. Antileukemic effect of graft-versus-host disease in human recipients of allogeneic-marrow grafts. *N Engl J Med*. 10. Mai 1979;300(19):1068-73.
202. Weiden P. Antileukemic effect of chronic graft-versus-host disease: contribution to improved survival after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med*. 18. Juni 1981;304(25):1529-33.
203. Chao NJ, Schriber JR, Grimes K, Long GD, Negrin RS, Raimondi CM, u. a. Granulocyte colony-stimulating factor „mobilized“ peripheral blood progenitor cells accelerate granulocyte and platelet recovery after high-dose chemotherapy. *Blood*. 15. April 1993;81(8):2031–5.
204. Eapen M, Rocha V, Sanz G, Scaradavou A, Zhang M-J, Arcese W, u. a. Effect of graft source on unrelated donor haemopoietic stem-cell transplantation in adults with acute leukaemia: a retrospective analysis. *Lancet Oncol*. Juli 2010;11(7):653–60.
205. Holtick U, Albrecht M, Chemnitz JM, Theurich S, Skoetz N, Scheid C, u. a. Bone marrow versus peripheral blood allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for haematological malignancies in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 20. April 2014;(4):CD010189.
206. Copelan EA. Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *N Engl J Med*. 27. April 2006;354(17):1813–26.
207. Slavin S, Nagler A, Naparstek E, Kapelushnik Y, Aker M, Cividalli G, u. a. Nonmyeloablative Stem Cell Transplantation and Cell Therapy as an Alternative to Conventional Bone Marrow Transplantation With Lethal Cytoreduction for the Treatment of Malignant and Nonmalignant Hematologic Diseases. *Blood*. 1. Februar 1998;91(3):756-63.
208. Tabbara IA, Zimmerman K, Morgan C, Nahleh Z. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Complications and results. *Arch Intern Med*. 22. Juli 2002;162(14):1558–66.
209. Cluzeau T, Lambert J, Raus N, Dessaux K, Absi L, Delbos F, u. a. Risk factors and outcome of graft failure after HLA matched and mismatched unrelated donor hematopoietic stem cell

- transplantation: a study on behalf of SFGM-TC and SFHI. *Bone Marrow Transplant*. 8. Februar 2016; 51(5):687-91.
210. Pasquini M, Zhu X. Current use and outcome of hematopoietic stem cell transplantation: CIBMTR Summary Slides. Center for International Blood & Marrow Transplant Research. 2015. Verfügbar unter: <http://www.cibmtr.org>
 211. Wingard JR, Piantadosi S, Vogelsang GB, Farmer ER, Jabs DA, Levin LS, u. a. Predictors of death from chronic graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *Blood*. September 1989;74(4):1428–35.
 212. Wingard JR, Majhail NS, Brazauskas R, Wang Z, Sobocinski KA, Jacobsohn D, u. a. Long-Term Survival and Late Deaths After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *J Clin Oncol*. 1. Juni 2011;29(16):2230-9.
 213. Pidala J, Kurland B, Chai X, Majhail N, Weisdorf DJ, Pavletic S, u. a. Patient-reported quality of life is associated with severity of chronic graft-versus-host disease as measured by NIH criteria: report on baseline data from the Chronic GVHD Consortium. *Blood*. 28. April 2011;117(17):4651–7.
 214. Ruutu T, Gratwohl A, De W, Afanasyev B, Apperley J, Bacigalupo A, u. a. Prophylaxis and treatment of GVHD: EBMT-ELN working group recommendations for a standardized practice. *Bone Marrow Transplant*. 2014;49(2):168–73.
 215. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, u. a. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation*. Oktober 1974;18(4):295–304.
 216. Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, McDonald GB, Striker GE, Sale GE, u. a. Chronic graft-versus-host syndrome in man. *Am J Med*. 1. August 1980;69(2):204–17.
 217. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, u. a. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. Diagnosis and Staging Working Group Report. *Biol Blood Marrow Transpl*. 1. Dezember 2005;11(12):945–56.
 218. Moore J, Nivison-Smith I, Goh K, Ma D, Bradstock K, Szer J, u. a. Equivalent survival for sibling and unrelated donor allogeneic stem cell transplantation for acute myelogenous leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. Mai 2007;13(5):601–7.
 219. Ballen KK, Shrestha S, Sobocinski KA, Zhang M-J, Bashey A, Bolwell BJ, u. a. Outcome of transplantation for myelofibrosis. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. März 2010;16(3):358–67.
 220. Weiden PL, Flournoy N, Thomas ED, Prentice R, Fefer A, Buckner CD, u. a. Antileukemic effect of graft-versus-host disease in human recipients of allogeneic-marrow grafts. *N Engl J Med*. 10. Mai 1979;300(19):1068–73.
 221. Weiden PL, Sullivan KM, Flournoy N, Storb R, Thomas ED. Antileukemic effect of chronic graft-versus-host disease: contribution to improved survival after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med*. 18. Juni 1981;304(25):1529–33.
 222. Weisdorf D, Zhang M-J, Arora M, Horowitz MM, Rizzo JD, Eapen M. Graft-versus-Host Disease Induced Graft-versus-Leukemia Effect: Greater Impact on Relapse and Disease-Free Survival

- after Reduced Intensity Conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant*. November 2012;18(11):1727–33.
223. Sorror ML, Maris MB, Storb R, Baron F, Sandmaier BM, Maloney DG, u. a. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood*. 15. Oktober 2005;106(8):2912-9.
 224. McClune BL, Weisdorf DJ, Pedersen TL, Da Silva GT, Tallman MS, Sierra J, u. a. Effect of Age on Outcome of Reduced-Intensity Hematopoietic Cell Transplantation for Older Patients With Acute Myeloid Leukemia in First Complete Remission or With Myelodysplastic Syndrome. *J Clin Oncol*. 10. April 2010;28(11):1878–87.
 225. Stauder R. The challenge of individualised risk assessment and therapy planning in elderly high-risk myelodysplastic syndromes (MDS) patients. *Ann Hematol*. 1. Mai 2012;91(9):1333-43.
 226. Sorror ML, Storb RF, Sandmaier BM, Maziarz RT, Pulsipher MA, Maris MB, u. a. Comorbidity-Age Index: A Clinical Measure of Biologic Age Before Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *J Clin Oncol*. 10. Oktober 2014;32(29):3249–56.
 227. Sasazuki T, Juji T, Morishima Y, Kinukawa N, Kashiwabara H, Inoko H, u. a. Effect of Matching of Class I HLA Alleles on Clinical Outcome after Transplantation of Hematopoietic Stem Cells from an Unrelated Donor. *N Engl J Med*. 22. Oktober 1998;339(17):1177–85.
 228. Morishima Y, Sasazuki T, Inoko H, Juji T, Akaza T, Yamamoto K, u. a. The clinical significance of human leukocyte antigen (HLA) allele compatibility in patients receiving a marrow transplant from serologically HLA-A, HLA-B, and HLA-DR matched unrelated donors. *Blood*. 1. Juni 2002;99(11):4200–6.
 229. Greinix HT, Faé I, Schneider B, Rosenmayr A, Mitterschiffthaler A, Pelzmann B, u. a. Impact of HLA class I high-resolution mismatches on chronic graft-versus-host disease and survival of patients given hematopoietic stem cell grafts from unrelated donors. *Bone Marrow Transplant*. 8. November 2004;35(1):57–62.
 230. Loiseau P, Busson M, Balere M-L, Dormoy A, Bignon J-D, Gagne K, u. a. HLA Association with Hematopoietic Stem Cell Transplantation Outcome: The Number of Mismatches at HLA-A, -B, -C, -DRB1, or -DQB1 Is Strongly Associated with Overall Survival. *Biol Blood Marrow Transpl*. 1. August 2007;13(8):965–74.
 231. Arora M, Weisdorf DJ, Spellman SR, Haagenson MD, Klein JP, Hurley CK, u. a. HLA-Identical Sibling Compared With 8/8 Matched and Mismatched Unrelated Donor Bone Marrow Transplant for Chronic Phase Chronic Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 1. April 2009;27(10):1644–52.
 232. Crocchiolo R, Ciceri F, Fleischhauer K, Oneto R, Bruno B, Pollichieni S, u. a. HLA matching affects clinical outcome of adult patients undergoing haematopoietic SCT from unrelated donors: a study from the Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo and Italian Bone Marrow Donor Registry. *Bone Marrow Transplant*. 13. April 2009;44(9):571–7.
 233. Finke J, Schmoor C, Bethge WA, Ottinger HD, Stelljes M, Zander AR, u. a. Prognostic factors affecting outcome after allogeneic transplantation for hematological malignancies from unrelated donors: results from a randomized trial. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. November 2012;18(11):1716–26.

234. Kröger N, Zabelina T, De Wreede L, Berger J, Alchalby H, Van Biezen A, u. a. Allogeneic stem cell transplantation for older advanced MDS patients: improved survival with young unrelated donor in comparison with HLA-identical siblings. *Leukemia*. März 2013;27(3):604–9.
235. Aoudjhane M, Labopin M, Gorin NC, Shimoni A, Ruutu T, Kolb H-J, u. a. Comparative outcome of reduced intensity and myeloablative conditioning regimen in HLA identical sibling allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for patients older than 50 years of age with acute myeloblastic leukaemia: a retrospective survey from the Acute Leukemia Working Party (ALWP) of the European group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Leukemia*. 29. September 2005;19(12):2304-12.
236. Martino R, Iacobelli S, Brand R, Jansen T, Van Biezen A, Finke J, u. a. Retrospective comparison of reduced-intensity conditioning and conventional high-dose conditioning for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation using HLA-identical sibling donors in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 1. August 2006;108(3):836–46.
237. Gyurkocza B, Sandmaier BM. Conditioning regimens for hematopoietic cell transplantation: one size does not fit all. *Blood*. 17. Juli 2014;124(3):344–53.
238. Della Porta MG, Alessandrino EP, Bacigalupo A, Van Lint MT, Malcovati L, Pascutto C, u. a. Predictive factors for the outcome of allogeneic transplantation in patients with MDS stratified according to the revised IPSS-R. *Blood*. 10. April 2014;123(15):2333–42.
239. Koenecke C, Göhring G, De Wreede LC, Van Biezen A, Scheid C, Volin L, u. a. Impact of the revised International Prognostic Scoring System, cytogenetics and monosomal karyotype on outcome after allogeneic stem cell transplantation for myelodysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukemia evolving from myelodysplastic syndromes: a retrospective multicenter study of the European Society of Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica*. März 2015;100(3):400–8.
240. Schlenk RF, Döhner H. Genomic applications in the clinic: use in treatment paradigm of acute myeloid leukemia. *ASH Educ Program Book*. 6. Dezember 2013;2013(1):324–30.
241. Martin PJ, Counts GW, Appelbaum FR, Lee SJ, Sanders JE, Deeg HJ, u. a. Life Expectancy in Patients Surviving More Than 5 Years After Hematopoietic Cell Transplantation. *J Clin Oncol*. 20. Februar 2010; 28(6):1011-6.
242. Hokland P, Ommen HB. Towards individualized follow-up in adult acute myeloid leukemia in remission. *Blood*. 3. März 2011;117(9):2577–84.
243. Xun CQ, McSweeney PA, Boeckh M, Storb RF, Broudy VC, Thompson JA. Successful nonmyeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplant in an acute leukemia patient with chemotherapy-induced marrow aplasia and progressive pulmonary aspergillosis. *Blood*. 1. November 1999;94(9):3273–6.
244. Shimoni A, Hardan I, Shem-Tov N, Yeshurun M, Yerushalmi R, Avigdor A, u. a. Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in AML and MDS using myeloablative versus reduced-intensity conditioning: the role of dose intensity. *Leukemia*. Februar 2006;20(2):322-8.
245. Brian McClune D. Non-Myeloablative Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Older Patients with AML and MDS: Results from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR). *Blood*. 8. Dezember 2008;112(11):346.

246. Bacigalupo, Vitale, Corvò, Barra, Lamparelli, Gualandi, u. a. The combined effect of total body irradiation (TBI) and cyclosporin A (CyA) on the risk of relapse in patients with acute myeloid leukaemia undergoing allogeneic bone marrow transplantation. *Br J Haematol.* 1. Januar 2000;108(1):99–104.
247. Craddock C, Nagra S, Peniket A, Brookes C, Buckley L, Nikolousis E, u. a. Factors predicting long-term survival after T-cell depleted reduced intensity allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia. *Haematologica.* 1. Juni 2010;95(6):989–95.
248. Baron F, Labopin M, Niederwieser D, Vigouroux S, Cornelissen JJ, Malm C, u. a. Impact of graft-versus-host disease after reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia: a report from the Acute Leukemia Working Party of the European group for blood and marrow transplantation. *Leukemia.* Dezember 2012;26(12):2462-8.
249. Kekre N, Koreth J. Novel strategies to prevent relapse after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukaemia and myelodysplastic syndromes. *Curr Opin Hematol.* März 2015;22(2):116–22.
250. Kongtim P, Lee DA, Cooper LJJ, Kebriaei P, Champlin RE, Ciurea SO. Haploidentical Hematopoietic Stem Cell Transplantation as a Platform for Post-Transplantation Cellular Therapy. *Biol Blood Marrow Transplant.* Oktober 2015;21(10):1714–20.
251. Bonini C, Mondino A. Adoptive T-cell therapy for cancer: The era of engineered T cells. *Eur J Immunol.* September 2015;45(9):2457–69.
252. Ballen KK, King RJ, Chitphakdithai P, Bolan CD, Agura E, Hartzman RJ, u. a. The national marrow donor program 20 years of unrelated donor hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant.* September 2008;14(9 Suppl):2–7.
253. Gahrton G, Van Rood JJ, Oudshoorn M. The World Marrow Donor Association (WMDA): its goals and activities. *Bone Marrow Transplant.* 2003;32(2):121–4.
254. Gupta V, Tallman MS, He W, Logan BR, Copelan E, Gale RP, u. a. Comparable survival after HLA-well-matched unrelated or matched sibling donor transplantation for acute myeloid leukemia in first remission with unfavorable cytogenetics at diagnosis. *Blood.* 16. September 2010;116(11):1839–48.
255. Hegenbart U, Niederwieser D, Sandmaier BM, Maris MB, Shizuru JA, Greinix H, u. a. Treatment for Acute Myelogenous Leukemia by Low-Dose, Total-Body, Irradiation-Based Conditioning and Hematopoietic Cell Transplantation From Related and Unrelated Donors. *J Clin Oncol.* 20. Januar 2006;24(3):444–53.
256. Woolfrey AE, Anasetti C, Storer B, Doney K, Milner LA, Sievers EL, u. a. Factors associated with outcome after unrelated marrow transplantation for treatment of acute lymphoblastic leukemia in children. *Blood.* 15. März 2002;99(6):2002–8.
257. Bertz H, Potthoff K, Finke J. Allogeneic Stem-Cell Transplantation From Related and Unrelated Donors in Older Patients With Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol.* 15. April 2003;21(8):1480–4.
258. Sierra J, Storer B, Hansen JA, Bjerke JW, Martin PJ, Petersdorf EW, u. a. Transplantation of marrow cells from unrelated donors for treatment of high-risk acute leukemia: the effect of leukemic burden, donor HLA-matching, and marrow cell dose. *Blood.* 1. Juni 1997;89(11):4226–35.

259. Marks DI, Cullis JO, Ward KN, Lacey S, Szydlo R, Hughes TP, u. a. Allogeneic Bone Marrow Transplantation for Chronic Myeloid Leukemia Using Sibling and Volunteer Unrelated Donors: A Comparison of Complications in the First 2 Years. *Ann Intern Med.* 1. August 1993;119(3):207–14.
260. Ibisch C, Gallot G, Vivien R, Diez E, Jotereau F, Garand R, u. a. Recognition of leukemic blasts by HLA-DPB1-specific cytotoxic T cell clones: a perspective for adjuvant immunotherapy post-bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* Juni 1999;23(11):1153–9.
261. Shaw BE, Gooley TA, Malkki M, Madrigal JA, Begovich AB, Horowitz MM, u. a. The importance of HLA-DPB1 in unrelated donor hematopoietic cell transplantation. *Blood.* 15. Dezember 2007;110(13):4560–6.
262. Crocchiolo R, Zino E, Vago L, Oneto R, Bruno B, Pollichieni S, u. a. Nonpermissive HLA-DPB1 disparity is a significant independent risk factor for mortality after unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 13. August 2009;114(7):1437–44.
263. Shaw BE, Mayor NP, Russell NH, Apperley JF, Clark RE, Cornish J, u. a. Diverging effects of HLA-DPB1 matching status on outcome following unrelated donor transplantation depending on disease stage and the degree of matching for other HLA alleles. *Leukemia.* Januar 2010;24(1):58–65.
264. Rutten CE, Van Luxemburg-Heijs SA, Halkes CJ, Van Bergen CA, Marijt EW, Oudshoorn M, u. a. Patient HLA-DP-specific CD4+ T cells from HLA-DPB1-mismatched donor lymphocyte infusion can induce graft-versus-leukemia reactivity in the presence or absence of graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant.* Januar 2013;19(1):40–8.
265. Pidala J, Lee SJ, Ahn KW, Spellman S, Wang H-L, Aljurf M, u. a. Nonpermissive HLA-DPB1 mismatch increases mortality after myeloablative unrelated allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood.* 16. Oktober 2014;124(16):2596–606.
266. Marks DI, Woo KA, Zhong X, Appelbaum FR, Bachanova V, Barker JN, u. a. Unrelated umbilical cord blood transplant for adult acute lymphoblastic leukemia in first and second complete remission: a comparison with allografts from adult unrelated donors. *Haematologica.* Februar 2014;99(2):322–8.
267. Kekre N, Antin JH. Hematopoietic stem cell transplantation donor sources in the 21st century: choosing the ideal donor when a perfect match does not exist. *Blood.* 17. Juli 2014;124(3):334–43.
268. Robin M, Ruggeri A, Labopin M, Niederwieser D, Tabrizi R, Sanz G, u. a. Comparison of unrelated cord blood and peripheral blood stem cell transplantation in adults with myelodysplastic syndrome after reduced-intensity conditioning regimen: a collaborative study from Eurocord (Cord blood Committee of Cellular Therapy & Immunobiology Working Party of EBMT) and Chronic Malignancies Working Party. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant.* März 2015;21(3):489–95.
269. Falk PM, Herzog P, Lubens R, Wimmer RS, Sparkes R, Naiman JL, u. a. BONE MARROW TRANSPLANTATION BETWEEN A HISTOCOMPATIBLE PARENT AND CHILD FOR ACUTE LEUKEMIA. *Transplantation.* Februar 1978;25(2):88–90.

270. Dupont B, O'Reilly RJ, Pollack MS, Good RA. Use of HLA genotypically different donors in bone marrow transplantation. *Transplant Proc.* 1979;11(1):219–24.
271. Wang Y, Liu D-H, Xu L-P, Liu K-Y, Chen H, Chen Y-H, u. a. Superior Graft-versus-Leukemia Effect Associated with Transplantation of Haploidentical Compared with HLA-Identical Sibling Donor Grafts for High-Risk Acute Leukemia: An Historic Comparison. *Biol Blood Marrow Transplant.* Juni 2011;17(6):821–30.
272. Finke J, Bethge WA, Schmoor C, Ottinger HD, Stelljes M, Zander AR, u. a. Standard graft-versus-host disease prophylaxis with or without anti-T-cell globulin in haematopoietic cell transplantation from matched unrelated donors: a randomised, open-label, multicentre phase 3 trial. *Lancet Oncol.* September 2009;10(9):855–64.
273. Barrett AJ, Mavroudis D, Tisdale J, Molldrem J, Clave E, Dunbar C, u. a. T cell-depleted bone marrow transplantation and delayed T cell add-back to control acute GVHD and conserve a graft-versus-leukemia effect. *Bone Marrow Transplant.* März 1998;21(6):543-51.
274. Apperley JF, Jones L, Hale G, Waldmann H, Hows J, Rombos Y, u. a. Bone marrow transplantation for patients with chronic myeloid leukaemia: T-cell depletion with Campath-1 reduces the incidence of graft-versus-host disease but may increase the risk of leukaemic relapse. *Bone Marrow Transplant.* Mai 1986;1(1):53-66.
275. Patterson J, Prentice HG, Brenner MK, Gilmore M, Janossy G, Ivory K, u. a. Graft rejection following HLA matched T-lymphocyte depleted bone marrow transplantation. *Br J Haematol.* 1. Juni 1986;63(2):221–30.
276. Goldman JM, Gale RP, Horowitz MM, Biggs JC, Champlin RE, Gluckman E, u. a. Bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia in chronic phase. Increased risk for relapse associated with T-cell depletion. *Ann Intern Med.* Juni 1988;108(6):806-14.
277. Marmont AM, Horowitz MM, Gale RP, Sobocinski K, Ash RC, Van Bekkum DW, u. a. T-cell depletion of HLA-identical transplants in leukemia. *Blood.* 15. Oktober 1991;78(8):2120-30.
278. Wagner JE, Thompson JS, Carter SL, Kernan NA, Unrelated Donor Marrow Transplantation Trial. Effect of graft-versus-host disease prophylaxis on 3-year disease-free survival in recipients of unrelated donor bone marrow (T-cell Depletion Trial): a multi-centre, randomised phase II-III trial. *Lancet.* 27. September 2005;366(9487):733-41.
279. Bacigalupo A, Van L, Occhini D, Gualandi F, Lamparelli T, Sogno G, u. a. Increased risk of leukemia relapse with high-dose cyclosporine A after allogeneic marrow transplantation for acute leukemia. *Blood.* 1991;77(7):1423–8.
280. Storb R, Deeg J, Pepe M, Appelbaum F, Anasetti C, Beatty P, u. a. Methotrexate and cyclosporine versus cyclosporine alone for prophylaxis of graft-versus-host disease in patients given HLA-identical marrow grafts for leukemia: Long-term follow-up of a controlled trial. *Blood.* 1989;73(6):1729–34.
281. Craddock C, Labopin M, Pillai S, Finke J, Bunjes D, Greinix H, u. a. Factors predicting outcome after unrelated donor stem cell transplantation in primary refractory acute myeloid leukaemia. *Leukemia.* Mai 2011;25(5):808–13.
282. Storek J, Mohty M, Boelens JJ. Rabbit anti-T cell globulin in allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant.* Juni 2015;21(6):959–70.

283. Antithymocyte globulin - Fresenius Biotech - AdisInsight. [zitiert 17. März 2016]. Verfügbar unter: <http://adisinsight.springer.com/drugs/800023750>
284. Fang L, Fehse B, Engel M, Zander A, Kröger N. Antithymocyte globulin induces ex vivo and in vivo depletion of myeloid and plasmacytoid dendritic cells. 15. Februar 2005;369–71.
285. ATG-Fresenius, Scientific brochure. Fresenius Biotech GmbH. Reviewed 2014.
286. Mohty M. Mechanisms of action of antithymocyte globulin: T-cell depletion and beyond. *Leukemia*. 5. April 2007;21(7):1387–94.
287. Zander AR, Kröger N, Schleuning M, Finke J, Zabelina T, Beelen D, u. a. ATG as part of the conditioning regimen reduces transplant-related mortality (TRM) and improves overall survival after unrelated stem cell transplantation in patients with chronic myelogenous leukemia (CML). *Bone Marrow Transplant*. August 2003;32(4):355–61.
288. Ayuk F, Diyachenko G, Zabelina T, Wolschke C, Fehse B, Bacher U, u. a. Comparison of two doses of antithymocyte globulin in patients undergoing matched unrelated donor allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. August 2008;14(8):913–9.
289. Kröger N, Zabelina T, Binder T, Ayuk F, Bacher U, Amtsfeld G, u. a. HLA-mismatched unrelated donors as an alternative graft source for allogeneic stem cell transplantation after antithymocyte globulin-containing conditioning regimen. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. April 2009;15(4):454–62.
290. Mohty M, Labopin M, Balère ML, Socié G, Milpied N, Tabrizi R, u. a. Antithymocyte globulins and chronic graft-vs-host disease after myeloablative allogeneic stem cell transplantation from HLA-matched unrelated donors: a report from the Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire. *Leukemia*. November 2010;24(11):1867–74.
291. Socié G, Schmoor C, Bethge WA, Ottinger HD, Stelljes M, Zander AR, u. a. Chronic graft-versus-host disease: long-term results from a randomized trial on graft-versus-host disease prophylaxis with or without anti-T-cell globulin ATG-Fresenius. *Blood*. 9. Juni 2011;117(23):6375–82.
292. Anderson JE, Gooley TA, Schoch G, Anasetti C, Bensinger WI, Clift RA, u. a. Stem Cell Transplantation for Secondary Acute Myeloid Leukemia: Evaluation of Transplantation as Initial Therapy or Following Induction Chemotherapy. *Blood*. 1. April 1997;89(7):2578–85.
293. Runde V, De Witte T, Arnold R, Gratwohl A, Hermans J, Van Biezen A, u. a. Bone marrow transplantation from HLA-identical siblings as first-line treatment in patients with myelodysplastic syndromes: early transplantation is associated with improved outcome. Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant*. Februar 1998;21(3):255–61.
294. Cutler CS, Lee SJ, Greenberg P, Deeg HJ, Pérez WS, Anasetti C, u. a. A decision analysis of allogeneic bone marrow transplantation for the myelodysplastic syndromes: delayed transplantation for low-risk myelodysplasia is associated with improved outcome. *Blood*. 15. Juli 2004;104(2):579–85.
295. Schmid C, Schleuning M, Schwerdtfeger R, Hertenstein B, Mischak-Weissinger E, Bunjes D, u. a. Long-term survival in refractory acute myeloid leukemia after sequential treatment with

- chemotherapy and reduced-intensity conditioning for allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 21. März 2006;108(3):1092-9.
296. Platzbecker U, Thiede C, Füssel M, Geissler G, Illmer T, Mohr B, u. a. 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*. April 2006;20(4):707–14.
297. Dombret H, Gardin C. An update of current treatments for adult acute myeloid leukemia. *Blood*. 7. Januar 2016;127(1):53–61.
298. Schmid C, Schleuning M, Ledderose G, Tischer J, Kolb HJ. 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*. 20. August 2005;23(24):5675-87.
299. Stölzel F, Platzbecker U, Mohr B, Röllig C, Middeke JM, Thiede C, u. a. Early intervention with allogeneic hematopoietic cell transplantation during chemotherapy-induced aplasia in patients with high-risk acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 1. Oktober 2013;27(10):2068–72.
300. Kolb HJ, Mittermuller J, Clemm C, Holler E, Ledderose G, Brehm G, u. a. Donor leukocyte transfusions for treatment of recurrent chronic myelogenous leukemia in marrow transplant patients. *Blood*. 15. Dezember 1990;76(12):2462–5.
301. Kolb H, Schattenberg A, Goldman JM, Hertenstein B, Jacobsen N, u. a. Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. *Blood*. 1. September 1995;86(5):2041-50.
302. Krishnamurthy P, Potter VT, Barber LD, Kulasekararaj AG, Lim ZY, Pearce RM, u. a. Outcome of donor lymphocyte infusion after T cell-depleted allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndromes. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. April 2013;19(4):562–8.
303. Olavarria E, Siddique S, Griffiths MJ, Avery S, Byrne JL, Piper KP, u. a. Posttransplantation imatinib as a strategy to postpone the requirement for immunotherapy in patients undergoing reduced-intensity allografts for chronic myeloid leukemia. *Blood*. 15. Dezember 2007;110(13):4614–7.
304. Platzbecker U, Wermke M, Radke J, Oelschlaegel U, Seltmann F, Kiani A, u. a. Azacitidine for treatment of imminent relapse in MDS or AML patients after allogeneic HSCT: results of the RELAZA trial. *Leukemia*. März 2012;26(3):381–9.
305. Bonini C, Ferrari G, Verzeletti S, Servida P, Zappone E, u. a. HSV-TK gene transfer into donor lymphocytes for control of allogeneic graft-versus-leukemia. *Science*. 13. Juni 1997;276(5319):1719-24.
306. Ciceri F, Bonini C, Markt S, Zappone E, Servida P, Bernardi M, u. a. Antitumor effects of HSV-TK-engineered donor lymphocytes after allogeneic stem-cell transplantation. *Blood*. 1. Juni 2007;109(11):4698–707.
307. Casucci M, Perna SK, Falcone L, Camisa B, Magnani Z, Bernardi M, u. a. Graft-versus-leukemia effect of HLA-haploidentical central-memory T-cells expanded with leukemic APCs and modified with a suicide gene. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther*. Februar 2013;21(2):466–75.

308. Weissinger EM, Borchers S, Silvani A, Provasi E, Radrizzani M, Beckmann IK, u. a. Long term follow up of patients after allogeneic stem cell transplantation and transfusion of HSV-TK transduced T-cells. *Front Pharmacol.* 23. April 2015;6:76.
309. Drobyski WR, Majewski D. Donor gamma delta T lymphocytes promote allogeneic engraftment across the major histocompatibility barrier in mice. *Blood.* 1. Februar 1997;89(3):1100–9.
310. Kunzmann V, Smetak M, Kimmel B, Weigang-Koehler K, Goebeler M, Birkmann J, u. a. Tumor-promoting versus tumor-antagonizing roles of $\gamma\delta$ T cells in cancer immunotherapy: results from a prospective phase I/II trial. *J Immunother Hagerstown Md* 1997. März 2012;35(2):205–13.
311. Vantourout P, Hayday A. Six-of-the-best: unique contributions of $\gamma\delta$ T cells to immunology. *Nat Rev Immunol.* Februar 2013;13(2):88–100.
312. Airoidi I, Bertaina A, Prigione I, Zorzoli A, Pagliara D, Cocco C, u. a. $\gamma\delta$ T-cell reconstitution after HLA-haploidentical hematopoietic transplantation depleted of TCR- $\alpha\beta$ + / CD19+ lymphocytes. *Blood.* 9. April 2015;125(15):2349–58.
313. Grupp SA, Kalos M, Barrett D, Aplenc R, Porter DL, Rheingold SR, u. a. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *N Engl J Med.* 18. April 2013;368(16):1509–18.
314. Kochenderfer JN, Dudley ME, Carpenter RO, Kassim SH, Rose JJ, Telford WG, u. a. Donor-derived CD19-targeted T cells cause regression of malignancy persisting after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 12. Dezember 2013;122(25):4129–39.
315. Maude SL, Frey N, Shaw PA, Aplenc R, Barrett DM, Bunin NJ, u. a. Chimeric Antigen Receptor T Cells for Sustained Remissions in Leukemia. *N Engl J Med.* 16. Oktober 2014;371(16):1507–17.
316. Barrett DM, Singh N, Porter DL, Grupp SA, June CH. Chimeric Antigen Receptor Therapy for Cancer. *Annu Rev Med.* 2014;65:333–47.
317. Choi I, Yoon SR, Park SY, Kim H, Jung SJ, Jang YJ, u. a. Donor-derived natural killer cells infused after human leukocyte antigen-haploidentical hematopoietic cell transplantation: a dose-escalation study. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant.* Mai 2014;20(5):696–704.
318. Shah NN, Baird K, Delbrook CP, Fleisher TA, Kohler ME, Rampertaap S, u. a. Acute GVHD in patients receiving IL-15/4-1BBL activated NK cells following T-cell-depleted stem cell transplantation. *Blood.* 29. Januar 2015;125(5):784–92.
319. Locatelli F, Moretta F, Brescia L, Merli P. Natural killer cells in the treatment of high-risk acute leukaemia. *Semin Immunol.* April 2014;26(2):173–9.
320. Pittari G, Filippini P, Gentilcore G, Grivel J-C, Rutella S. Revving up Natural Killer Cells and Cytokine-Induced Killer Cells Against Hematological Malignancies. *Front Immunol.* 2015;6:230.
321. Shaffer BC, Le Ludec JB, Forlenza C, Jakubowski AA, Perales MA, Young JW, u. a. Phase II Study of Haploidentical Natural Killer Cell Infusion for Treatment of Relapsed or Persistent Myeloid Malignancies Following Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant.* 6. Januar 2016;22(4):705-709.

322. Schmid C, Schleuning M, Schwerdtfeger R, Hertenstein B, Mischak-Weissinger E, Bunjes D, u. a. Long-term survival in refractory acute myeloid leukemia after sequential treatment with chemotherapy and reduced-intensity conditioning for allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 21. März 2006;108(3):1092-9.
323. Ford CE, Hamerton JL, Barnes DW, Loutit JF. Cytological identification of radiation-chimaeras. *Nature*. 10. März 1956;177(4506):452-4.
324. Bader P, Niethammer D, Willasch A, Kreyenberg H, Klingebiel T. How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation? *Bone Marrow Transplant*. Januar 2005;35(2):107-19.
325. Schroeder T, Czibere A, Platzbecker U, Bug G, Uharek L, Luft T, u. a. Azacitidine and donor lymphocyte infusions as first salvage therapy for relapse of AML or MDS after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia*. Juni 2013;27(6):1229-35.
326. Suciú S, Mandelli F, De Witte T, Zittoun R, Gallo E, Labar B, u. a. Allogeneic compared with autologous stem cell transplantation in the treatment of patients younger than 46 years with acute myeloid leukemia (AML) in first complete remission (CR1): an intention-to-treat analysis of the EORTC/GIMEMAAML-10 trial. *Blood*. 15. August 2003;102(4):1232-40.
327. Armand P, Kim HT, Zhang M-J, Perez WS, Dal Cin PS, Klumpp TR, u. a. Classifying cytogenetics in patients with acute myelogenous leukemia in complete remission undergoing allogeneic transplantation: a Center for International Blood and Marrow Transplant Research study. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. Februar 2012;18(2):280-8.
328. Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA, Harrington DH, Theil KS, Mohamed A, u. a. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study. *Blood*. 15. Dezember 2000;96(13):4075-83.
329. Breems DA, Van Putten WLJ, De Greef GE, Van Zelderen-Bhola SL, Gerssen-Schoolt KBJ, Mellink CHM, u. a. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10. Oktober 2008;26(29):4791-7.
330. Breems DA, Löwenberg B. Acute myeloid leukemia with monosomal karyotype at the far end of the unfavorable prognostic spectrum. *Haematologica*. April 2011;96(4):491-3.
331. Sorror ML, Giral S, Sandmaier BM, Lima MD, Shahjahan M, Maloney DG, u. a. Hematopoietic cell transplantation-specific comorbidity index as an outcome predictor for patients with acute myeloid leukemia in first remission: combined FHCRC and MDACC experiences. *Blood*. 14. September 2007;110(13):4606-13.
332. Sorror ML. How I assess comorbidities before hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 11. April 2013;121(15):2854-63.
333. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis*. 1987;40(5):373-83.
334. Extermann M, Overcash J, Lyman GH, Parr J, Balducci L. Comorbidity and functional status are independent in older cancer patients. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. April 1998;16(4):1582-7.

335. Artz AS, Pollyea DA, Kocherginsky M, Stock W, Rich E, Odenike O, u. a. Performance Status and Comorbidity Predict Transplant-Related Mortality After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transpl.* 1. September 2006;12(9):954–64.
336. Sorror ML, Maris MB, Storer B, Sandmaier BM, Diaconescu R, Flowers C, u. a. Comparing morbidity and mortality of HLA-matched unrelated donor hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative and myeloablative conditioning: influence of pretransplantation comorbidities. *Blood.* 15. August 2004;104(4):961-8.
337. Cahn J-Y, Klein JP, Lee SJ, Milpied N, Blaise D, Antin JH, u. a. Prospective evaluation of 2 acute graft-versus-host (GVHD) grading systems: a joint Société Française de Greffe de Moëlle et Thérapie Cellulaire (SFGM-TC), Dana Farber Cancer Institute (DFCI), and International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) prospective study. *Blood.* 15. August 2005;106(4):1495–500.
338. Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, Klingemann HG, Beatty P, Hows J, u. a. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant.* Juni 1995;15(6):825–8.
339. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *J Am Stat Assoc.* Juni 1958;53(282):457.
340. Cox DR. Regression models and life-tables. *J R Stat Soc Ser B Methodol.* 1972;34(2): 187–220.
341. Sorror ML, Sandmaier BM, Storer BE, Maris MB, Baron F, Maloney DG, u. a. Comorbidity and disease status based risk stratification of outcomes among patients with acute myeloid leukemia or myelodysplasia receiving allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 20. September 2007;25(27):4246–54.
342. Boehm A, Sperr WR, Leitner G, Worel N, Oehler L, Jaeger E, u. a. Comorbidity predicts survival in myelodysplastic syndromes or secondary acute myeloid leukaemia after allogeneic stem cell transplantation. *Eur J Clin Invest.* Dezember 2008;38(12):945–52.
343. Sorror ML. Comorbidities and hematopoietic cell transplantation outcomes. *Hematol Educ Program Am Soc Hematol Am Soc Hematol Educ Program.* 2010;2010:237–47.
344. Sperr WR, Wimazal F, Kundi M, Baumgartner C, Nösslinger T, Makrai A, u. a. Comorbidity as prognostic variable in MDS: comparative evaluation of the HCT-CI and CCI in a core dataset of 419 patients of the Austrian MDS Study Group. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO.* Januar 2010;21(1):114–9.
345. Mayer RJ, Davis RB, Schiffer CA, Berg DT, Powell BL, Schulman P, u. a. Intensive Postremission Chemotherapy in Adults with Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 6. Oktober 1994;331(14):896–903.
346. Bishop JF, Matthews JP, Young GA, Bradstock K, Lowenthal RM. Intensified induction chemotherapy with high dose cytarabine and etoposide for acute myeloid leukemia: a review and updated results of the Australian Leukemia Study Group. *Leuk Lymphoma.* Januar 1998;28(3–4):315–27.
347. Lowenberg B, Downing JR, Burnett A. Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 30. September 1999;341(14):1051–62.

348. Yates J, Glidewell O, Wiernik P, Cooper MR, Steinberg D, Dosik H, u. a. Cytosine arabinoside with daunorubicin or adriamycin for therapy of acute myelocytic leukemia: a CALGB study. *Blood*. August 1982;60(2):454–62.
349. Preisler H, Davis RB, Kirshner J, Dupre E, Richards F, Hoagland HC, u. a. Comparison of three remission induction regimens and two postinduction strategies for the treatment of acute nonlymphocytic leukemia: a cancer and leukemia group B study. *Blood*. Mai 1987;69(5):1441–9.
350. Arlin Z, Case DC, Moore J, Wiernik P, Feldman E, Saletan S, u. a. Randomized multicenter trial of cytosine arabinoside with mitoxantrone or daunorubicin in previously untreated adult patients with acute nonlymphocytic leukemia (ANLL). Lederle Cooperative Group. *Leukemia*. März 1990;4(3):177–83.
351. Bishop JF, Matthews JP, Young GA, Szer J, Gillett A, Joshua D, u. a. A randomized study of high-dose cytarabine in induction in acute myeloid leukemia [see comments]. *Blood*. 1. März 1996;87(5):1710–7.
352. Report from the International Bone Marrow Transplant Registry. Advisory Committee of the International Bone Marrow Transplant Registry. *Bone Marrow Transplant*. Mai 1989;4(3):221–8.
353. Pasquini MC, Wang Z, Horowitz MM, Gale RP. 2010 report from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR): current uses and outcomes of hematopoietic cell transplants for blood and bone marrow disorders. *Clin Transpl*. 2010;87–105.
354. Schroeder T, Czibere A, Platzbecker U, Bug G, Uharek L, Luft T, u. a. Azacitidine and donor lymphocyte infusions as first salvage therapy for relapse of AML or MDS after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia*. Juni 2013;27(6):1229–35.
355. Martino R, Iacobelli S, Brand R, Jansen T, Van Biezen A, Finke J, u. a. Retrospective comparison of reduced-intensity conditioning and conventional high-dose conditioning for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation using HLA-identical sibling donors in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 1. August 2006;108(3):836–46.
356. De Lima M, Anagnostopoulos A, Munsell M, Shahjahan M, Ueno N, Ippoliti C, u. a. 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*. 1. August 2004;104(3):865–72.
357. Tauro S, Craddock C, Peggs K, Begum G, Mahendra P, Cook G, u. a. Allogeneic Stem-Cell Transplantation Using a Reduced-Intensity Conditioning Regimen Has the Capacity to Produce Durable Remissions and Long-Term Disease-Free Survival in Patients With High-Risk Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplasia. *J Clin Oncol*. 20. Dezember 2005;23(36):9387–93.
358. Van Besien K, Kunavakkam R, Rondon G, De Lima M, Artz A, Oran B, u. a. Fludarabine-Melphalan Conditioning for AML and MDS: Alemtuzumab Reduces Acute and Chronic GVHD without Affecting Long-Term Outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. Mai 2009;15(5):610–7.
359. Oran B, Giral S, Saliba R, Hosing C, Popat U, Khouri I, u. a. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for the Treatment of High-Risk Acute Myelogenous Leukemia and

- Myelodysplastic Syndrome Using Reduced-Intensity Conditioning with Fludarabine and Melphalan. *Biol Blood Marrow Transpl.* 1. April 2007;13(4):454–62.
360. Marks R, Potthoff K, Hahn J, Ihorst G, Bertz H, Spyridonidis A, u. a. Reduced-toxicity conditioning with fludarabine, BCNU, and melphalan in allogeneic hematopoietic cell transplantation: particular activity against advanced hematologic malignancies. *Blood.* 15. Juli 2008;112(2):415–25.
 361. Engel N, Hill W, Fritsch S, Prevalsek D, Zoellner A-K, Hubmann M, u. a. Allogeneic Transplantation in Elderly Patients with AML and MDS Comparing Reduced-Intensity Conditioning with Flamsa-Busulfan Versus Fludarabine/BCNU/Melphalan. *Blood.* 6. Dezember 2014;124(21):5839–5839.
 362. Deeg HJ, Storer B, Slattery JT, Anasetti C, Doney KC, Hansen JA, u. a. Conditioning with targeted busulfan and cyclophosphamide for hemopoietic stem cell transplantation from related and unrelated donors in patients with myelodysplastic syndrome. *Blood.* 15. August 2002;100(4):1201–7.
 363. McSweeney P, Niederwieser D, Shizuru JA, Sandmaier BM, Molina AJ, u. a. Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects. *Blood.* 1. Juni 2001;97(11):3390-400.
 364. Niederwieser D, Maris M, Shizuru JA, Petersdorf E, Hegenbart U, Sandmaier BM, u. a. Low-dose total body irradiation (TBI) and fludarabine followed by hematopoietic cell transplantation (HCT) from HLA-matched or mismatched unrelated donors and postgrafting immunosuppression with cyclosporine and mycophenolate mofetil (MMF) can induce durable complete chimerism and sustained remissions in patients with hematological diseases. *Blood.* 15. Februar 2003;101(4):1620–9.
 365. Feinstein LC, Sandmaier BM, Hegenbart U, McSweeney PA, Maloney DG, Gooley TA, u. a. Non-myeloablative allografting from human leucocyte antigen-identical sibling donors for treatment of acute myeloid leukaemia in first complete remission. *Br J Haematol.* Januar 2003;120(2):281–8.
 366. Diaconescu R, Flowers CR, Storer B, Sorrow ML, Maris MB, Maloney DG, u. a. Morbidity and mortality with nonmyeloablative compared with myeloablative conditioning before hematopoietic cell transplantation from HLA-matched related donors. *Blood.* 1. September 2004;104(5):1550–8.
 367. Anderson JE, Gooley TA, Schoch G, Anasetti C, Bensinger WI, Clift RA, u. a. Stem Cell Transplantation for Secondary Acute Myeloid Leukemia: Evaluation of Transplantation as Initial Therapy or Following Induction Chemotherapy. *Blood.* 1. April 1997;89(7):2578–85.
 368. Runde V, De Witte T, Arnold R, Gratwohl A, Hermans J, Van Biezen A, u. a. Bone marrow transplantation from HLA-identical siblings as first-line treatment in patients with myelodysplastic syndromes: early transplantation is associated with improved outcome. Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant.* Februar 1998;21(3):255–61.
 369. Pfeiffer T, Schleuning M, Eder M, Krejci M, Kolbe K, Scheid C, u. a. Improved Outcome for Patients with Acute Myeloid Leukemia (AML) and Myelodysplastic Syndrome (MDS) with Poor Risk Cytogenetics - Result from An Analysis on 172 Patients Receiving FLAMSA-RIC Conditioning for Allogeneic Stem Cell Transplantation (SCT). *Blood.* 2008;112(11):1971.

370. Warlick ED, Cioc A, Defor T, Dolan M, Weisdorf D. Allogeneic stem cell transplantation for adults with myelodysplastic syndromes: importance of pretransplant disease burden. *Biol Blood Marrow Transplant*. Januar 2009;15(1):30-8.
371. De Witte T, Hermans J, Vossen J, Bacigalupo A, Meloni G, Jacobsen N, u. a. Haematopoietic stem cell transplantation for patients with myelo-dysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukaemias: a report on behalf of the Chronic Leukaemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Br J Haematol*. September 2000;110(3):620–30.
372. Sierra J, Pérez WS, Rozman C, Carreras E, Klein JP, Rizzo JD, u. a. Bone marrow transplantation from HLA-identical siblings as treatment for myelodysplasia. *Blood*. 15. September 2002;100(6):1997–2004.
373. Lim Z, Brand R, Martino R, Van Biezen A, Finke J, Bacigalupo A, u. a. Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation for Patients 50 Years or Older With Myelodysplastic Syndromes or Secondary Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 20. Januar 2010;28(3):405–11.
374. Armand P, Kim HT, Cutler CS, Ho VT, Koreth J, Ritz J, u. a. A prognostic score for patients with acute leukemia or myelodysplastic syndromes undergoing allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. Januar 2008;14(1):28–35.
375. Hemmati PG, Terwey TH, Le Coutre P, Vuong LG, Massenkeil G, Dörken B, u. a. A modified EBMT risk score predicts the outcome of patients with acute myeloid leukemia receiving allogeneic stem cell transplants. *Eur J Haematol*. April 2011;86(4):305–16.
376. Michelis FV, Atenafu EG, Gupta V, Kim DD, Kuruvilla J, Lambie A, u. a. Duration of first remission, hematopoietic cell transplantation-specific comorbidity index and patient age predict survival of patients with AML transplanted in second CR. *Bone Marrow Transplant*. November 2013;48(11):1450–5.
377. Giralt S, Thall PF, Khouri I, Wang X, Braunschweig I, Ippolitti C, u. a. Melphalan and purine analog–containing preparative regimens: reduced-intensity conditioning for patients with hematologic malignancies undergoing allogeneic progenitor cell transplantation. *Blood*. 1. Februar 2001;97(3):631-7.
378. De Lima M, Anagnostopoulos A, Munsell M, Shahjahan M, Ueno N, Ippolitti C, u. a. 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*. 1. August 2004;104(3):865-72.
379. Gyurkocza B, Storb R, Storer BE, Chauncey TR, Lange T, Shizuru JA, u. a. Nonmyeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10. Juni 2010;28(17):2859–67.
380. Schneidawind D, Federmann B, Faul C, Vogel W, Kanz L, Bethge WA. Allogeneic hematopoietic cell transplantation with reduced-intensity conditioning following FLAMSA for primary refractory or relapsed acute myeloid leukemia. *Ann Hematol*. 8. Mai 2013;92(10):1389–95.
381. Sorror ML, Maris MB, Storb R, Baron F, Sandmaier BM, Maloney DG, u. a. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood*. 15. Oktober 2005;106(8):2912–9.

382. Sorror ML, Sandmaier BM, Storer BE, Maris MB, Baron F, Maloney DG, u. a. Comorbidity and disease status based risk stratification of outcomes among patients with acute myeloid leukemia or myelodysplasia receiving allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20. September 2007;25(27):4246–54.
383. Sorror ML, Giralt S, Sandmaier BM, Lima MD, Shahjahan M, Maloney DG, u. a. Hematopoietic cell transplantation–specific comorbidity index as an outcome predictor for patients with acute myeloid leukemia in first remission: combined FHCRC and MDACC experiences. *Blood*. 15. Dezember 2007;110(13):4606–13.
384. Thanarajasingam G, Kim HT, Cutler C, Ho VT, Koreth J, Alyea EP, u. a. Outcome and prognostic factors for patients who relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. Dezember 2013;19(12):1713–8.
385. Bokhari SW, Watson L, Nagra S, Cook M, Byrne JL, Craddock C, u. a. Role of HCT-comorbidity index, age and disease status at transplantation in predicting survival and non-relapse mortality in patients with myelodysplasia and leukemia undergoing reduced-intensity-conditioning hemopoietic progenitor cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. April 2012;47(4):528-34.
386. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 19. Dezember 2002;420(6917):860–7.
387. Balkwill F, Charles KA, Mantovani A. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer Cell*. März 2005;7(3):211–7.
388. Lin W-W, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J Clin Invest*. 1. Mai 2007;117(5):1175–83.
389. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, Inflammation, and Cancer. *Cell*. 19. März 2010;140(6):883–99.
390. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radic Biol Med*. 1. Dezember 2010;49(11):1603–16.
391. Etienne A, Esterni B, Charbonnier A, Mozziconacci M-J, Arnoulet C, Coso D, u. a. Comorbidity is an independent predictor of complete remission in elderly patients receiving induction chemotherapy for acute myeloid leukemia. *Cancer*. 1. April 2007;109(7):1376–83.
392. Balducci L, Extermann M. Management of cancer in the older person: a practical approach. *The Oncologist*. 2000;5(3):224–37.
393. Michelis FV, Atenafu EG, Gupta V, Kim DD, Kuruvilla J, Lambie A, u. a. Duration of first remission, hematopoietic cell transplantation-specific comorbidity index and patient age predict survival of patients with AML transplanted in second CR. *Bone Marrow Transplant*. November 2013;48(11):1450–5.
394. Michelis FV, Messner HA, Atenafu EG, McGillis L, Lambie A, Uhm J, u. a. Patient age, remission status and HCT-CI in a combined score are prognostic for patients with AML undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation in CR1 and CR2. *Bone Marrow Transplant*. 13. Juli 2015;50(11):1405-10.

395. Chakraverty R, Peggs K, Chopra R, Milligan DW, Kottaridis PD, Verfuërth S, u. a. Limiting transplantation-related mortality following unrelated donor stem cell transplantation by using a nonmyeloablative conditioning regimen. *Blood*. 1. Februar 2002;99(3):1071–8.
396. Bertz H, Potthoff K, Finke J. Allogeneic Stem-Cell Transplantation From Related and Unrelated Donors in Older Patients With Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 15. April 2003;21(8):1480-4.
397. Hegenbart U, Niederwieser D, Sandmaier BM, Maris MB, Shizuru JA, Greinix H, u. a. Treatment for acute myelogenous leukemia by low-dose, total-body, irradiation-based conditioning and hematopoietic cell transplantation from related and unrelated donors. *J Clin Oncol*. 20. Januar 2006;24(3):444-53.
398. Yakoub-Agha I, Mesnil F, Kuentz M, Boiron JM, Ifrah N, Milpied N, u. a. Allogeneic Marrow Stem-Cell Transplantation From Human Leukocyte Antigen–Identical Siblings Versus Human Leukocyte Antigen–Allelic–Matched Unrelated Donors (10/10) in Patients With Standard-Risk Hematologic Malignancy: A Prospective Study From the French Society of Bone Marrow Transplantation and Cell Therapy. *J Clin Oncol*. 20. Dezember 2006;24(36):5695-702.
399. Moore J, Nivison-Smith I, Goh K, Ma D, Bradstock K, Szer J, u. a. Equivalent survival for sibling and unrelated donor allogeneic stem cell transplantation for acute myelogenous leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. Mai 2007;13(5):601-7.
400. Schetelig J, Bornhäuser M, Schmid C, Hertenstein B, Schwerdtfeger R, Martin H, u. a. Matched unrelated or matched sibling donors result in comparable survival after allogeneic stem-cell transplantation in elderly patients with acute myeloid leukemia: a report from the cooperative German Transplant Study Group. *J Clin Oncol*. 10. November 2008;26(32):5183-91.
401. Gupta V, Tallman MS, He W, Logan BR, Copelan E, Gale RP, u. a. Comparable survival after HLA-well-matched unrelated or matched sibling donor transplantation for acute myeloid leukemia in first remission with unfavorable cytogenetics at diagnosis. *Blood*. 16. September 2010;116(11):1839-48.
402. Woolfrey AE, Anasetti C, Storer B, Doney K, Milner LA, Sievers EL, u. a. Factors associated with outcome after unrelated marrow transplantation for treatment of acute lymphoblastic leukemia in children. *Blood*. 15. März 2002;99(6):2002-8.
403. Marks DI, Cullis JO, Ward KN, Lacey S, Szydlo R, Hughes TP, u. a. Allogeneic Bone Marrow Transplantation for Chronic Myeloid Leukemia Using Sibling and Volunteer Unrelated Donors: A Comparison of Complications in the First 2 Years. *Ann Intern Med*. 1. August 1993;119(3):207-14.
404. Dehn J, Arora M, Spellman S, Setterholm M, Horowitz M, Confer D, u. a. Unrelated Donor Hematopoietic Cell Transplantation: Factors Associated with a Better HLA Match. *Biol Blood Marrow Transpl*. 1. Dezember 2008;14(12):1334–40.
405. Anasetti C, Amos D, Beatty PG, Appelbaum FR, Bensinger W, Buckner CD, u. a. Effect of HLA compatibility on engraftment of bone marrow transplants in patients with leukemia or lymphoma. *N Engl J Med*. 26. Januar 1989;320(4):197–204.
406. Petersdorf EW, Hansen JA, Martin PJ, Woolfrey A, Malkki M, Gooley T, u. a. Major-histocompatibility-complex class I alleles and antigens in hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med*. 20. Dezember 2001;345(25):1794–800.

407. Petersdorf EW, Kollman C, Hurley CK, Dupont B, Nademanee A, Begovich AB, u. a. Effect of HLA class II gene disparity on clinical outcome in unrelated donor hematopoietic cell transplantation for chronic myeloid leukemia: the US National Marrow Donor Program Experience. *Blood*. 15. November 2001;98(10):2922–9.
408. Fischer JC, Kobbe G, Enczmann J, Haas R, Uhrberg M. The impact of HLA-C matching depends on the C1/C2 KIR ligand status in unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Immunogenetics*. Dezember 2012;64(12):879–85.
409. Kollman C, Howe CWS, Anasetti C, Antin JH, Davies SM, Filipovich AH, u. a. Donor characteristics as risk factors in recipients after transplantation of bone marrow from unrelated donors: the effect of donor age. *Blood*. 1. Oktober 2001;98(7):2043–51.
410. Miller RA. The aging immune system: primer and prospectus. *Science*. 5. Juli 1996;273(5271):70–4.
411. Carreras E, Jiménez M, Gómez-García V, De la Cámara R, Martín C, Martínez F, u. a. Donor age and degree of HLA matching have a major impact on the outcome of unrelated donor haematopoietic cell transplantation for chronic myeloid leukaemia. *Bone Marrow Transplant*. 17. Oktober 2005;37(1):33–40.
412. Finke J, Schmoor C, Bethge WA, Ottinger HD, Stelljes M, Zander AR, u. a. Prognostic factors affecting outcome after allogeneic transplantation for hematological malignancies from unrelated donors: results from a randomized trial. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. November 2012;18(11):1716–26.
413. Alousi AM, Le-Rademacher J, Saliba RM, Appelbaum FR, Artz A, Benjamin J, u. a. Who is the better donor for older hematopoietic transplant recipients: an older-aged sibling or a young, matched unrelated volunteer? *Blood*. 28. März 2013;121(13):2567–73.
414. Nevill TJ, Fung HC, Shepherd JD, Horsman DE, Nantel SH, Klingemann HG, u. a. Cytogenetic abnormalities in primary myelodysplastic syndrome are highly predictive of outcome after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*. 15. September 1998;92(6):1910–7.
415. Chang C, Storer BE, Scott BL, Bryant EM, Shulman HM, Flowers ME, u. a. Hematopoietic cell transplantation in patients with myelodysplastic syndrome or acute myeloid leukemia arising from myelodysplastic syndrome: similar outcomes in patients with de novo disease and disease following prior therapy or antecedent hematologic disorders. *Blood*. 15. August 2007;110(4):1379–87.
416. Armand P, Kim HT, DeAngelo DJ, Ho VT, Cutler CS, Stone RM, u. a. Impact of Cytogenetics on Outcome of De Novo and Therapy-Related AML and MDS after Allogeneic Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. Juni 2007;13(6):655–64.
417. Nevill TJ, Shepherd JD, Sutherland HJ, Abou Mourad YR, Lavoie JC, Barnett MJ, u. a. IPSS poor-risk karyotype as a predictor of outcome for patients with myelodysplastic syndrome following myeloablative stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. Februar 2009;15(2):205–13.
418. Armand P, Deeg HJ, Kim HT, Lee H, Armistead P, De Lima M, u. a. Multicenter validation study of a transplantation-specific cytogenetics grouping scheme for patients with myelodysplastic syndromes. *Bone Marrow Transplant*. Mai 2010;45(5):877–85.

419. Van Gelder M, De Wreede LC, Schetelig J, Van Biezen A, Volin L, Maertens J, u. a. Monosomal karyotype predicts poor survival after allogeneic stem cell transplantation in chromosome 7 abnormal myelodysplastic syndrome and secondary acute myeloid leukemia. *Leukemia*. April 2013;27(4):879–88.
420. Deeg HJ, Scott BL, Fang M, Shulman HM, Gyurkocza B, Myerson D, u. a. Five-group cytogenetic risk classification, monosomal karyotype, and outcome after hematopoietic cell transplantation for MDS or acute leukemia evolving from MDS. *Blood*. 16. August 2012;120(7):1398–408.
421. Della Porta MG, Alessandrino EP, Bacigalupo A, Van Lint MT, Malcovati L, Pascutto C, u. a. Predictive factors for the outcome of allogeneic transplantation in patients with MDS stratified according to the revised IPSS-R. *Blood*. 10. April 2014;123(15):2333–42.
422. Burnett AK, Wheatley K, Goldstone AH, Stevens RF, Hann IM, Rees JHK, u. a. The value of allogeneic bone marrow transplant in patients with acute myeloid leukaemia at differing risk of relapse: results of the UK MRC AML 10 trial. *Br J Haematol*. August 2002;118(2):385–400.
423. Ogawa H, Ikegame K, Kawakami M, Takahashi S, Sakamaki H, Karasuno T, u. a. Impact of cytogenetics on outcome of stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first remission: a large-scale retrospective analysis of data from the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Int J Hematol*. Juni 2004;79(5):495–500.
424. Stelljes M, Beelen DW, Braess J, Sauerland MC, Heinecke A, Berning B, u. a. Allogeneic transplantation as post-remission therapy for cytogenetically high-risk acute myeloid leukemia: landmark analysis from a single prospective multicenter trial. *Haematologica*. 1. Juli 2011;96(7):972–9.
425. Mori T, Aisa Y, Watanabe R, Yamazaki R, Kato J, Shimizu T, u. a. Long-term follow-up of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for de novo acute myelogenous leukemia with a conditioning regimen of total body irradiation and granulocyte colony-stimulating factor-combined high-dose cytarabine. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. Juni 2008;14(6):651–7.
426. Grimwade D. Impact of Cytogenetics on Clinical Outcome in AML. In: Karp J.E. (eds) *Acute Myelogenous Leukemia. Contemporary Hematology*. Humana Press. 2007;S. 177–92.
427. Medeiros BC, Othus M, Fang M, Roulston D, Appelbaum FR. Prognostic impact of monosomal karyotype in young adult and elderly acute myeloid leukemia: the Southwest Oncology Group (SWOG) experience. *Blood*. 30. September 2010;116(13):2224–8.
428. Fang M, Storer B, Estey E, Othus M, Zhang L, Sandmaier BM, u. a. Outcome of patients with acute myeloid leukemia with monosomal karyotype who undergo hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 11. August 2011;118(6):1490–4.
429. Perrot A, Luquet I, Pigneux A, Mugneret F, Delaunay J, Harousseau JL, u. a. Dismal prognostic value of monosomal karyotype in elderly patients with acute myeloid leukemia: a GOELAMS study of 186 patients with unfavorable cytogenetic abnormalities. *Blood*. 21. Juli 2011;118(3):679–85.
430. Oran B, Dolan M, Cao Q, Brunstein C, Warlick E, Weisdorf D. Monosomal Karyotype Provides Better Prognostic Prediction after Allogeneic Stem Cell Transplantation in Patients with Acute Myelogenous Leukemia. *Biol Blood Marrow Transpl*. 1. März 2011;17(3):356–64.

431. Choi Y, Lee J-H, Seo E-J, Lee J-H, Kim D-Y, Park C-J, u. a. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia and the role of allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Ann Hematol.* Mai 2015;94(5):795–801.
432. Hemmati PG, Schulze-Luckow A, Terwey TH, le Coutre P, Vuong LG, Dörken B, u. a. Cytogenetic risk grouping by the monosomal karyotype classification is superior in predicting the outcome of acute myeloid leukemia undergoing allogeneic stem cell transplantation in complete remission. *Eur J Haematol.* Februar 2014;92(2):102–10.
433. Patnaik MM, Hanson CA, Hodnefield JM, Knudson R, Van Dyke DL, Tefferi A. Monosomal karyotype in myelodysplastic syndromes, with or without monosomy 7 or 5, is prognostically worse than an otherwise complex karyotype. *Leukemia.* Februar 2011;25(2):266–70.
434. Ustun C, Trottier BJ, Sachs Z, DeFor TE, Shune L, Courville EL, u. a. Monosomal karyotype at the time of diagnosis or transplantation predicts outcomes of allogeneic hematopoietic cell transplantation in myelodysplastic syndrome. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant.* Mai 2015;21(5):866–72.
435. McQuilten ZK, Sundararajan V, Andrianopoulos N, Curtis DJ, Wood EM, Campbell LJ, u. a. Monosomal karyotype predicts inferior survival independently of a complex karyotype in patients with myelodysplastic syndromes. *Cancer.* 1. September 2015;121(17):2892–9.
436. Pasquini MC, Zhang M-J, Medeiros BC, Armand P, Hu Z-H, Nishihori T, u. a. Hematopoietic Cell Transplantation Outcomes in Monosomal Karyotype Myeloid Malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant.* 29. August 2015;22(2):248-257.
437. Kröger N, Zabelina T, De Wreede L, Berger J, Alchalby H, Van Biezen A, u. a. Allogeneic stem cell transplantation for older advanced MDS patients: improved survival with young unrelated donor in comparison with HLA-identical siblings. *Leukemia.* März 2013;27(3):604-9.
438. Kebriaei P, Kline J, Stock W, Kasza K, Le Beau MM, Larson RA, u. a. Impact of disease burden at time of allogeneic stem cell transplantation in adults with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Bone Marrow Transplant.* Mai 2005;35(10):965–70.
439. Oran B, Giralt S, Saliba R, Hosing C, Popat U, Khouri I, u. a. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for the Treatment of High-Risk Acute Myelogenous Leukemia and Myelodysplastic Syndrome Using Reduced-Intensity Conditioning with Fludarabine and Melphalan. *Biol Blood Marrow Transplant.* April 2007;13(4):454-62.
440. Michallet M, Thomas X, Vernant JP, Kuentz M, Socié G, Espérou-Bourdeau H, u. a. Long-term outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for advanced stage acute myeloblastic leukemia: a retrospective study of 379 patients reported to the Société Française de Greffe de Moelle (SFGM). *Bone Marrow Transplant.* Dezember 2000;26(11):1157–63.
441. Sierra J, Storer B, Hansen JA, Martin PJ, Petersdorf EW, Woolfrey A, u. a. Unrelated donor marrow transplantation for acute myeloid leukemia: an update of the Seattle experience. *Bone Marrow Transplant.* August 2000;26(4):397–404.
442. Sayer HG, Kröger M, Beyer J, Kiehl M, Klein SA, Schaefer-Eckart K, u. a. Reduced intensity conditioning for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia: disease status by marrow blasts is the strongest prognostic factor. *Bone Marrow Transplant.* 2003;31(12):1089–95.

443. Sorror ML, Appelbaum FR. Risk assessment before allogeneic hematopoietic cell transplantation for older adults with acute myeloid leukemia. *Expert Rev Hematol*. Oktober 2013;6(5):547–62.
444. Porta MGD, Alessandrino EP, Jackson CH, Pascutto C, Bacigalupo A, Malcovati L, u. a. Decision Analysis of Allogeneic Stem Cell Transplantation in Patients with Myelodysplastic Syndrome Stratified According to the Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R). *Blood*. 6. Dezember 2014;124(21):531–531.
445. Herr AL, Labopin M, Blaise D, Milpied N, Potter M, Michallet M, u. a. HLA-identical sibling allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with reduced intensity conditioning compared to autologous peripheral blood stem cell transplantation for elderly patients with de novo acute myeloid leukemia. *Leukemia*. Januar 2007;21(1):129–35.
446. Geddes M, Storek J. Immune reconstitution following hematopoietic stem-cell transplantation. *Best Pract Res Clin Haematol*. Juni 2007;20(2):329–48.
447. Storek J, Geddes M, Khan F, Huard B, Helg C, Chalandon Y, u. a. Reconstitution of the immune system after hematopoietic stem cell transplantation in humans. *Semin Immunopathol*. 24. Oktober 2008;30(4):425–37.
448. Seggewiss R, Einsele H. Immune reconstitution after allogeneic transplantation and expanding options for immunomodulation: an update. *Blood*. 13. Mai 2010;115(19):3861–8.
449. Roll P, Muhammad K, Stuhler G, Grigoleit U, Einsele H, Tony H-P. Effect of ATG-F on B-cell reconstitution after hematopoietic stem cell transplantation. *Eur J Haematol*. Dezember 2015;95(6):514–23.
450. Servais S, Menten-Dedoyart C, Beguin Y, Seidel L, Gothot A, Daulne C, u. a. Impact of Pre-Transplant Anti-T Cell Globulin (ATG) on Immune Recovery after Myeloablative Allogeneic Peripheral Blood Stem Cell Transplantation. *PloS One*. 2015;10(6):e0130026.
451. Powles R, Singhal S, Treleaven J, Kulkarni S, Horton C, Mehta J. Identification of Patients Who May Benefit From Prophylactic Immunotherapy After Bone Marrow Transplantation for Acute Myeloid Leukemia on the Basis of Lymphocyte Recovery Early After Transplantation. *Blood*. 1. Mai 1998;91(9):3481–6.
452. Kim DH, Kim JG, Sohn SK, Sung WJ, Suh JS, Lee KS, u. a. Clinical impact of early absolute lymphocyte count after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol*. April 2004;125(2):217–24.
453. Savani BN, Mielke S, Rezvani K, Montero A, Yong AS, Wish L, u. a. Absolute lymphocyte count on day 30 is a surrogate for robust hematopoietic recovery and strongly predicts outcome after T-cell depleted allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. Oktober 2007;13(10):1216–23.
454. Ishaqi MK, Afzal S, Dupuis A, Doyle J, Gassas A. Early lymphocyte recovery post-allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is associated with significant graft-versus-leukemia effect without increase in graft-versus-host disease in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplant*. Februar 2008;41(3):245–52.
455. Chang YJ, Zhao XY, Huo MR, Xu LP, Liu DH, Liu KY, u. a. Influence of lymphocyte recovery on outcome of haploidentical transplantation for hematologic malignancies. *Medicine (Baltimore)*. November 2009;88(6):322–30.

456. Chang YJ, Zhao XY, Huo MR, Xu LP, Liu DH, Liu KY, u. a. Clinical impact of absolute lymphocyte count on day 30 after unmanipulated haploidentical blood and marrow transplantation for pediatric patients with hematological malignancies. *Am J Hematol.* Februar 2011;86(2):227–30.
457. Kumar S, Chen MG, Gastineau DA, Gertz MA, Inwards DJ, Lacy MQ, u. a. Lymphocyte recovery after allogeneic bone marrow transplantation predicts risk of relapse in acute lymphoblastic. *Leukemia.* 2003;17(9):1865–70.
458. Han DK, Baek HJ, Kim SY, Hwang TJ, Kook H. Implication of Early Lymphocyte Recovery after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children with Leukemia. *Yonsei Med J.* 1. Januar 2013;54(1):62–70.
459. Mackall CL, Granger L, Sheard MA, Cepeda R, Gress RE. T-cell regeneration after bone marrow transplantation: differential CD45 isoform expression on thymic-derived versus thymic-independent progeny. *Blood.* 15. Oktober 1993;82(8):2585–94.
460. Storek J, Witherspoon RP, Storb R. T cell reconstitution after bone marrow transplantation into adult patients does not resemble T cell development in early life. *Bone Marrow Transplant.* September 1995;16(3):413–25.
461. Novitzky N, Davison GM, Hale G, Waldmann H. Immune reconstitution at 6 months following T-cell depleted hematopoietic stem cell transplantation is predictive for treatment outcome. *Transplantation.* 15. Dezember 2002;74(11):1551–9.
462. De Vries E, Van Tol MJ, Van den Bergh RL, Waaijer JL, Ten Dam MM, Hermans J, u. a. Reconstitution of lymphocyte subpopulations after paediatric bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* Februar 2000;25(3):267–75.
463. Fallen PR, McGreavey L, Madrigal JA, Potter M, Ethell M, Prentice HG, u. a. Factors affecting reconstitution of the T cell compartment in allogeneic haematopoietic cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant.* November 2003;32(10):1001–14.
464. Dumont-Girard F, Roux E, Van Lier RA, Hale G, Helg C, Chapuis B, u. a. Reconstitution of the T-cell compartment after bone marrow transplantation: restoration of the repertoire by thymic emigrants. *Blood.* 1. Dezember 1998;92(11):4464–71.
465. Weinberg K, Blazar BR, Wagner JE, Agura E, Hill BJ, Smogorzewska M, u. a. Factors affecting thymic function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 1. März 2001;97(5):1458–66.
466. Kolb H, Schattenberg A, Goldman JM, Hertenstein B, Jacobsen N, Arcese W, u. a. Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. *Blood.* 1. September 1995; 86(5):2041-50.
467. Horowitz MM, Gale RP, Sondel PM, Goldman JM, Kersey J, Kolb HJ, u. a. Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood.* 1. Februar 1990;75(3):555–62.
468. Riddell SR, Murata M, Bryant S, Warren EH. Minor histocompatibility antigens--targets of graft versus leukemia responses. *Int J Hematol.* August 2002;76 Suppl 2:155–61.
469. Molldrem JJ, Komanduri K, Wieder E. Overexpressed differentiation antigens as targets of graft-versus-leukemia reactions. *Curr Opin Hematol.* November 2002;9(6):503–8.

470. Falkenburg JHF, Marijt WAF, Heemskerk MHM, Willemze R. Minor histocompatibility antigens as targets of graft-versus-leukemia reactions. *Curr Opin Hematol*. November 2002;9(6):497–502.
471. Mutis T, Goulmy E. Hematopoietic system-specific antigens as targets for cellular immunotherapy of hematological malignancies. *Semin Hematol*. Januar 2002;39(1):23–31.
472. Flavell RA. The molecular basis of T cell differentiation. *Immunol Res*. 1999;19(2–3):159–68.
473. Kalams SA, Walker BD. The critical need for CD4 help in maintaining effective cytotoxic T lymphocyte responses. *J Exp Med*. 21. Dezember 1998;188(12):2199–204.
474. Husmann LA, Bevan MJ. Cooperation between helper T cells and cytotoxic T lymphocyte precursors. *Ann N Y Acad Sci*. 1988;532:158–69.
475. Bonnet D, Warren EH, Greenberg PD, Dick JE, Riddell SR. CD8+ minor histocompatibility antigen-specific cytotoxic T lymphocyte clones eliminate human acute myeloid leukemia stem cells. *Proc Natl Acad Sci*. 20. Juli 1999;96(15):8639–44.
476. Koehl U, Bochennek K, Zimmermann SY, Lehrnbecher T, Sörensen J, Esser R, u. a. Immune recovery in children undergoing allogeneic stem cell transplantation: absolute CD8+ CD3+ count reconstitution is associated with survival. *Bone Marrow Transplant*. März 2007;39(5):269–78.
477. Maraninchi D, Gluckman E, Blaise D, Guyotat D, Rio B, Pico JL, u. a. Impact of T-cell depletion on outcome of allogeneic bone-marrow transplantation for standard-risk leukaemias. *Lancet*. 25. Juli 1987;2(8552):175-8.
478. Storek J, Gooley T, Witherspoon RP, Sullivan KM, Storb R. Infectious morbidity in long-term survivors of allogeneic marrow transplantation is associated with low CD4 T cell counts. *Am J Hematol*. 1997;54(2):131–138.
479. Small TN, Papadopoulos EB, Boulad F, Black P, Castro-Malaspina H, Childs BH, u. a. Comparison of immune reconstitution after unrelated and related T-cell-depleted bone marrow transplantation: effect of patient age and donor leukocyte infusions. *Blood*. 15. Januar 1999;93(2):467–80.
480. Storek J, Joseph A, Espino G, Dawson MA, Douek DC, Sullivan KM, u. a. Immunity of patients surviving 20 to 30 years after allogeneic or syngeneic bone marrow transplantation. *Blood*. 15. Dezember 2001;98(13):3505–12.
481. Maury S, Mary JY, Rabian C, Schwarzingler M, Toubert A, Scieux C, u. a. Prolonged immune deficiency following allogeneic stem cell transplantation: risk factors and complications in adult patients. *Br J Haematol*. Dezember 2001;115(3):630–41.
482. Wils EJ, Van der Holt B, Broers AE, Posthumus-Van Sluijs SJ, Gratama J-W, Braakman E, u. a. Insufficient recovery of thymopoiesis predicts for opportunistic infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Haematologica*. Dezember 2011;96(12):1846-54.
483. Fedele R, Martino M, Garreffa C, Messina G, Console G, Princi D, u. a. The impact of early CD4+ lymphocyte recovery on the outcome of patients who undergo allogeneic bone marrow or peripheral blood stem cell transplantation. *Blood Transfus*. April 2012;10(2):174-80.

484. Parkman R, Cohen G, Carter SL, Weinberg KI, Masinsin B, Guinan E, u. a. Successful immune reconstitution decreases leukemic relapse and improves survival in recipients of unrelated cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. September 2006;12(9):919–27.
485. Rezvani K, Grube M, Brenchley JM, Sconocchia G, Fujiwara H, Price DA, u. a. Functional leukemia-associated antigen-specific memory CD8+ T cells exist in healthy individuals and in patients with chronic myelogenous leukemia before and after stem cell transplantation. *Blood*. 15. Oktober 2003;102(8):2892–900.
486. Zakrzewski JL, Goldberg GL, Smith OM, Van den Brink MRM. Enhancing T cell reconstitution after hematopoietic stem cell transplantation: a brief update of the latest trends. *Blood Cells Mol Dis*. Januar-Februar 2008;40(1):44–7.
487. Abdul-Hai A, Weiss L, Ben-Yehuda A, Ergas D, Shapira MY, Slavin S. Interleukin-7 induced facilitation of immunological reconstitution of sublethally irradiated mice following treatment with alloreactive spleen cells in a murine model of B-cell leukemia/lymphoma (BCL1). *Bone Marrow Transplant*. 20. August 2007;40(9):881–9.
488. Alpdogan O, Eng JM, Muriglan SJ, Willis LM, Hubbard VM, Tjoe KH, u. a. Interleukin-15 enhances immune reconstitution after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*. 15. Januar 2005;105(2):865–73.
489. Katsanis E, Xu Z, Panoskaltsis-Mortari A, Weisdorf DJ, Widmer MB, Blazar BR. IL-15 administration following syngeneic bone marrow transplantation prolongs survival of lymphoma bearing mice. *Transplantation*. 27. September 1996;62(6):872–5.
490. Gumperz JE, Litwin V, Phillips JH, Lanier LL, Parham P. The Bw4 public epitope of HLA-B molecules confers reactivity with natural killer cell clones that express NKB1, a putative HLA receptor. *J Exp Med*. 1. März 1995;181(3):1133–44.
491. Moretta A, Bottino C, Vitale M, Pende D, Biassoni R, Mingari MC, u. a. Receptors for HLA class-I molecules in human natural killer cells. *Annu Rev Immunol*. 1996;14:619–48.
492. Gumperz JE, Barber LD, Valiante NM, Percival L, Phillips JH, Lanier LL, u. a. Conserved and variable residues within the Bw4 motif of HLA-B make separable contributions to recognition by the NKB1 killer cell-inhibitory receptor. *J Immunol Baltim Md* 1950. 1. Juni 1997;158(11):5237–41.
493. Boyington JC, Sun PD. A structural perspective on MHC class I recognition by killer cell immunoglobulin-like receptors. *Mol Immunol*. Mai 2002;38(14):1007–21.
494. Jiang YZ, Barrett AJ, Goldman JM, Mavroudis DA. Association of natural killer cell immune recovery with a graft-versus-leukemia effect independent of graft-versus-host disease following allogeneic bone marrow transplantation. *Ann Hematol*. Januar 1997;74(1):1–6.
495. Ruggeri L, Capanni M, Casucci M, Volpi I, Tosti A, Perruccio K, u. a. Role of Natural Killer Cell Alloreactivity in HLA-Mismatched Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Blood*. 1. Juli 1999;94(1):333–9.
496. Ruggeri L. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science*. 15. März 2002; 295(5562):2097-100.

497. Beelen DW, Ottinger HD, Ferencik S, Elmaagacli AH, Peceny R, Trenschele R, u. a. Genotypic inhibitory killer immunoglobulin-like receptor ligand incompatibility enhances the long-term antileukemic effect of unmodified allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with myeloid leukemias. *Blood*. 15. März 2005;105(6):2594–600.
498. Ruggeri L, Mancusi A, Burchielli E, Aversa F, Martelli MF, Velardi A. Natural killer cell alloreactivity in allogeneic hematopoietic transplantation. *Curr Opin Oncol*. März 2007;19(2):142–7.
499. Hsu KC, Keever-Taylor CA, Wilton A, Pinto C, Heller G, Arkun K, u. a. Improved outcome in HLA-identical sibling hematopoietic stem-cell transplantation for acute myelogenous leukemia predicted by KIR and HLA genotypes. *Blood*. 15. Juni 2005;105(12):4878–84.
500. Passweg JR, Tichelli A, Meyer-Monard S, Heim D, Stern M, Kühne T, u. a. Purified donor NK-lymphocyte infusion to consolidate engraftment after haploidentical stem cell transplantation. *Leukemia*. November 2004;18(11):1835–8.
501. Laport GG, Sheehan K, Baker J, Armstrong R, Wong RM, Lowsky R, u. a. Adoptive immunotherapy with cytokine-induced killer cells for patients with relapsed hematologic malignancies after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. November 2011;17(11):1679–87.
502. Marcenaro E, Carlomagno S, Pesce S, Moretta A, Sivori S. Bridging innate NK cell functions with adaptive immunity. *Adv Exp Med Biol*. 2011;780:45–55.
503. Curti A, Ruggeri L, D’Addio A, Bontadini A, Dan E, Motta MR, u. a. Successful transfer of alloreactive haploidentical KIR ligand-mismatched natural killer cells after infusion in elderly high risk acute myeloid leukemia patients. *Blood*. 22. September 2011;118(12):3273–9.
504. Antin JH. Immune reconstitution: The major barrier to successful stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. Februar 2005;11(2 Suppl 2):43–5.
505. Storek J, Espino G, Dawson MA, Storer B, Flowers ME, Maloney DG. Low B-cell and monocyte counts on day 80 are associated with high infection rates between days 100 and 365 after allogeneic marrow transplantation. *Blood*. 1. November 2000;96(9):3290–3.
506. Finke J, Schmoor C, Lang H, Potthoff K, Bertz H. Matched and mismatched allogeneic stem-cell transplantation from unrelated donors using combined graft-versus-host disease prophylaxis including rabbit anti-T lymphocyte globulin. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1. Februar 2003;21(3):506–13.
507. Ayuk F, Diyachenko G, Zabelina T, Panse J, Wolschke C, Eiermann T, u. a. Anti-thymocyte globulin overcomes the negative impact of HLA mismatching in transplantation from unrelated donors. *Exp Hematol*. August 2008;36(8):1047–54.
508. Wolschke C, Zabelina T, Ayuk F, Alchalby H, Berger J, Klyuchnikov E, u. a. Effective prevention of GVHD using in vivo T-cell depletion with anti-lymphocyte globulin in HLA-identical or -mismatched sibling peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. Januar 2014;49(1):126–30.
509. Kröger N, Zabelina T, Krüger W, Renges H, Stute N, Rischewski J, u. a. In vivo T cell depletion with pretransplant anti-thymocyte globulin reduces graft-versus-host disease without

- increasing relapse in good risk myeloid leukemia patients after stem cell transplantation from matched related donors. *Bone Marrow Transplant*. April 2002;29(8):683–9.
510. Bonnefoy-Berard N, Flacher M, Revillard JP. Antiproliferative effect of antilymphocyte globulins on B cells and B-cell lines. *Blood*. 15. April 1992;79(8):2164–70.
 511. Bonnefoy-Bérard N, Genestier L, Flacher M, Rouault JP, Lizard G, Mutin M, u. a. Apoptosis induced by polyclonal antilymphocyte globulins in human B-cell lines. *Blood*. 15. Februar 1994;83(4):1051–9.
 512. Yoshimi A, Ito M, Kojima S. Leukemic cell death induced by antithymocyte globulin. *Leuk Res*. Juli 2005;29(7):821-7.
 513. Marmont AM, Horowitz MM, Gale RP, Sobocinski K, Ash RC, Van Bekkum DW, u. a. T-cell depletion of HLA-identical transplants in leukemia. *Blood*. 15. Oktober 1991;78(8):2120–30.
 514. Remberger M, Svahn B, Hentschke P, Löfgren C, Ringden O. Effect on cytokine release, engraftment and GvHD of different anti T-cell antibodies during conditioning for unrelated haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transpl*. 1999;23 [Suppl 1]:268.
 515. Kröger N, Solano C, Wolschke C, Bandini G, Patriarca F, Pini M, u. a. Antilymphocyte Globulin for Prevention of Chronic Graft-versus-Host Disease. *N Engl J Med*. 7. Januar 2016;374(1):43–53.
 516. Holler E, Ledderose G, Knabe H, Kolb HJ. ATG serotherapy during pretransplant conditioning in unrelated donor bmt: dose dependent modulation of GVHD. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22 (Suppl. 1): 105 (abstract).
 517. Ramírez P, Brunstein CG, Miller B, DeFor T, Weisdorf D. Delayed platelet recovery after allogeneic transplantation: a predictor of increased treatment-related mortality and poorer survival. *Bone Marrow Transplant*. Juli 2011;46(7):981–6.
 518. Den Braber I, Mugwagwa T, Vrisekoop N, Westera L, Mögling R, Bregje de Boer A, u. a. Maintenance of Peripheral Naive T Cells Is Sustained by Thymus Output in Mice but Not Humans. *Immunity*. 24. Februar 2012;36(2):288–97.
 519. Mackall CL, Granger L, Sheard MA, Cepeda R, Gress RE. T-cell regeneration after bone marrow transplantation: differential CD45 isoform expression on thymic-derived versus thymic-independent progeny. *Blood*. 15. Oktober 1993;82(8):2585–94.
 520. Mackall CL, Gress RE. Pathways of T-cell regeneration in mice and humans: implications for bone marrow transplantation and immunotherapy. *Immunol Rev*. Juni 1997;157:61–72.
 521. Small TN, Avigan D, Dupont B, Smith K, Black P, Heller G, u. a. Immune reconstitution following T-cell depleted bone marrow transplantation: effect of age and posttransplant graft rejection prophylaxis. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant*. Juni 1997;3(2):65–75.
 522. Bosch M, Dhadda M, Hoegh-Petersen M, Liu Y, Hagel LM, Podgorny P, u. a. Immune reconstitution after anti-thymocyte globulin-conditioned hematopoietic cell transplantation. *Cytotherapy*. November 2012;14(10):1258-75.

523. Thomson BG, Robertson KA, Gowan D, Heilman D, Broxmeyer HE, Emanuel D, u. a. Analysis of engraftment, graft-versus-host disease, and immune recovery following unrelated donor cord blood transplantation. *Blood*. 15. Oktober 2000;96(8):2703–11.
524. Moretta A, Maccario R, Fagioli F, Giraldi E, Busca A, Montagna D, u. a. Analysis of immune reconstitution in children undergoing cord blood transplantation. *Exp Hematol*. März 2001;29(3):371–9.
525. Niehues T, Rocha V, Filipovich AH, Chan KW, Porcher R, Michel G, u. a. Factors affecting lymphocyte subset reconstitution after either related or unrelated cord blood transplantation in children -- a Eurocord analysis. *Br J Haematol*. Juli 2001;114(1):42–8.
526. Ruggeri A, Peffault De Latour R, Carmagnat M, Clave E, Douay C, Larghero J, u. a. Outcomes, infections, and immune reconstitution after double cord blood transplantation in patients with high-risk hematological diseases. *Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc*. Oktober 2011;13(5):456–65.
527. Lindemans CA, Chiesa R, Amrolia PJ, Rao K, Nikolajeva O, De Wildt A, u. a. Impact of thymoglobulin prior to pediatric unrelated umbilical cord blood transplantation on immune-reconstitution and clinical outcome. *Blood*. 2. Januar 2014;123(1):126–32.
528. Lee SJ, Vogelsang G, Flowers MED. Chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. April 2003;9(4):215–33.
529. Fraser CJ, Bhatia S, Ness K, Carter A, Francisco L, Arora M, u. a. Impact of chronic graft-versus-host disease on the health status of hematopoietic cell transplantation survivors: a report from the Bone Marrow Transplant Survivor Study. *Blood*. 15. Oktober 2006;108(8):2867–73.
530. Baron F, Labopin M, Niederwieser D, Vigouroux S, Cornelissen JJ, Malm C, u. a. Impact of graft-versus-host disease after reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia: a report from the Acute Leukemia Working Party of the European group for blood and marrow transplantation. *Leukemia*. Dezember 2012;26(12):2462–8.
531. Antin JH. T-cell depletion in GVHD: less is more? *Blood*. 9. Juni 2011;117(23):6061–2.
532. Van Besien K. Allogeneic transplantation for AML and MDS: GVL versus GVHD and disease recurrence. *ASH Educ Program Book*. 6. Dezember 2013;2013(1):56–62.
533. Storb R, Gyurkocza B, Storer BE, Sorrow ML, Blume K, Niederwieser D, u. a. Graft-Versus-Host Disease and Graft-Versus-Tumor Effects After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *J Clin Oncol*. 20. April 2013;31(12):1530–8.
534. Kohrt HE, Turnbull BB, Heydari K, Shizuru JA, Laport GG, Miklos DB, u. a. TLI and ATG conditioning with low risk of graft-versus-host disease retains antitumor reactions after allogeneic hematopoietic cell transplantation from related and unrelated donors. *Blood*. 30. Juli 2009;114(5):1099–109.
535. Di Ianni M, Falzetti F, Carotti A, Terenzi A, Castellino F, Bonifacio E, u. a. Tregs prevent GVHD and promote immune reconstitution in HLA-haploidentical transplantation. *Blood*. 7. April 2011;117(14):3921–8.
536. Brunstein CG, Miller JS, Cao Q, McKenna DH, Hippen KL, Curtsinger J, u. a. Infusion of ex vivo expanded T regulatory cells in adults transplanted with umbilical cord blood: safety profile and detection kinetics. *Blood*. 20. Januar 2011;117(3):1061–70.

8 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich von ganzem Herzen bei all den Menschen bedanken, die mich bei der Fertigstellung meiner Dissertation unterstützt haben.

Herrn Professor Dr. med. Guido Kobbe möchte ich für die Bereitstellung des Themas, die lehrreichen Jahre und die ausdauernde Betreuung dieser Arbeit recht herzlich danken. Sein unermüdlicher Einsatz für seine Patienten und sein Streben nach wissenschaftlichem Fortschritt waren mir stets Motivation und Vorbild.

Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Archivs und dem gesamten Team der KMT-Ambulanz danke ich für die freundliche Arbeitsatmosphäre und die zahlreichen kleinen Hilfestellungen, sei es bei der Suche nach Daten und Akten oder der Klärung so mancher themenbezogener Frage.

Ein großes Dankeschön geht auch an die Medical Research School der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf für ihre umfangreiche Unterstützung und die Bereitstellung von interessanten und lehrreichen Seminaren.

Nicht in Worte zu fassen, ist der Rückhalt und die Unterstützung, die ich durch meine liebe Familie erfahren durfte. Ein besonderes Dankeschön geht an meine Eltern Vera und Bruno für die finanzielle und emotionale Unterstützung, die diese wissenschaftliche Arbeit für mich erst möglich gemacht haben. Bedanken möchte ich mich auch bei meinen Schwiegereltern in spe Susanne und Volker für ihr stets offenes Ohr und so manches anregende Gespräch. Sowohl bei meinen lieben Eltern wie auch Schwiegereltern möchte ich mich für die Zeit zum Schreiben dieser Arbeit bedanken, die sie mir durch so manche Kinderwagen-Spazierfahrt geschenkt haben.

Während ich die Daten analysiert und begonnen habe, diese Arbeit zu schreiben, hatte ich das große Glück, meinen Mann kennenzulernen. Ohne Dich, Andreas, wäre diese Arbeit nicht abgeschlossen und veröffentlicht worden. Ich danke Dir für Deine motivierenden und inspirierenden Worte, dafür, dass Du stets an mich geglaubt und mich nach Rückschlägen aufgefangen hast und nicht zuletzt für Deine Geduld. Aber vor Allem danke ich Dir, Andreas, für die vielen gemeinsam erlebten Abenteuer, unzählige wunderschöne Momente, Deine Liebe und unsere zwei wundervollen Söhne Emil und Leo.

In diesem Sinne: *Life is what happens while you are busy writing your dissertation.* ☺