Aus der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin C
(Kommissarischer Direktor Univ.-Prof. Dr. med. C. A. Schmidt)
der Universitätsmedizin der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

Der Einsatz von niedrig dosiertem Alemtuzumab in der Konditionierung vor allogener Stammzelltransplantation im Vergleich mit ATG

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des akademischen
Grades
Doktor der Medizin
(Dr.med.)

der Universitätsmedizin
der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

vorgelegt von

Meike Schulze
geb. Stolt
geboren am: 17.09.1962
in: Ludwigslust

Greifswald 2016

Dekan	:	Prof. Dr. rer. nat. Max P. Baur
erster Gutachter	:	Prof. Dr. med C. A. Schmidt; Greifswald
zweiter Gutachter	:	PD Dr. H.G. Sayer; Erfurt

Ort, Raum	:	Klinik für Innere Medizin C; Seminarraum

:

Tag der Disputation	:	28.07.2016	:

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis 6

1. Einleitung..... 9

1.1 Die Geschichte der Stammzelltransplantation..... 9

1.2. Prinzipien der allogenenen Transplantation hämatopetischer Stammzellen.11

1.2.1 Die Stammzellspende im Allgemeinen und speziell in der Bundesrepublik Deutschland 14

1.2.2 Das HLA-System 18

1.3 Ergebnisse der allogenen Stammzelltransplantation..... 20

1.4 Die Phasen der allogenen Transplantation..... 25

1.4.1 Vorbereitung 25

1.4.2 Spenderauswahl 26

1.4.3 Die Konditionierung: MAC vs. RIC..... 28

1.4.4 Die Transplantation..... 30

1.4.5 Die Besonderheiten der Transplantationsphasen 31

1.5 Komplikationen nach der allogenen Stammzelltransplantation 34

1.5.1 Die GvHD als wichtigste Komplikation..... 34

1.5.2 Die Bedeutung der Toxizität in der Konditionierung..... 34

1.5.3 Konzepte zur Minimierung von transplantationsassoziierten Komplikationen 35

1.6 FUO und Infektionen (früh, spät) und die Prophylaxe..... 36

1.6.1 Viren/ die antivirale Prophylaxe 37

1.6.2 Bakterien/ die antibakterielle Prophylaxe 37

1.6.3 Pilze /die antifungizide Prophylaxe 37

1.6.4 Sonstige/andere Erreger..... 38

1.6.5 Die CMV-Reaktivierung 38

1.7 Die Graft-versus-Host Disease (GvHD)..... 40

1.7.1 Klassifizierung..... 41

1.7.2 Einteilung und Behandlung der akuten GvHD 42
1.7.3 Einteilung und Behandlung der chronischen GvHD und der overlap Syndrome 45
1.8 Die GvHD-Prophylaxe nach der Transplantation (postSCT) 46
1.8.1 ATG 47
1.8.2 Ciclosporin A (CSA) 47
1.8.3 MTX 48
1.8.4 Mycophenolat Mofetil (MMF) 48
1.8.5 Steroide 49
1.9 Der GvL-Effekt 49
1.9.1 Die Nutzung des GvL-Effektes einschließlich der Gabe von DLI 49
1.10 Der Stellenwert der T-Zellen in der Stammzelltransplantation 50
1.10.1 Die in vivo T-Zell-Depletion mit ATG und Alemtuzumab 50
1.10.2 Die in-vitro T-Zell-Depletion (Campath in the bag) 51
1.10.3 Klinische Probleme durch eine T-Zell-Depletion 51
1.11 Das CD52-Antigen 51
1.12 Alemtuzumab 52
1.12.1 Die Charakterisierung von Alemtuzumab 52
1.12.2 Die Dosierung von Alemtuzumab 52
2. Material und Methoden 55
3. Ergebnisse 56
3.1 Alter der Patienten 56
3.2 Diagnosen, Konditionierung und Stammzelltransplantation 57
3.3 Supportive Therapie, GvHD-Prophylaxe und hämatologische Rekonstitution 60
3.3.1 Die supportive Therapie 60
3.3.2 Die G-CSF Gabe 61
3.3.3 Die hämatologische Rekonstitution 61

3.3.4 Transfusionen 63
3.4 Die akute und chronische GvHD 64
3.5 Die Reaktivierung von latenten EBV- und CMV-Infektionen 68
3.6 Erkrankungsfreies Leben und Gesamtüberleben 70
3.7 Mortalität 71
4. Diskussion 72
Vorbemerkungen 72
Einordnung der eigenen Ergebnisse 74
Engraftment (take) der Leukozyten und Thrombozyten 74
Akute und chronische Graft-versus-Host Erkrankung 76
Virusreaktivierungen und opportunistische Infektionen 77
Rezidivinzidenz 78
Gesamtüberleben und Todesfälle 78
5. Zusammenfassung 79
Literaturverzeichnis 80
Eidesstattliche Erklärung 105

Abkürzungsverzeichnis

AA:	Aplastische Anämie
ALL:	Akute Lymphatische Leukämie
AML:	Akute Myeloische Leukämie
ANC:	Absolute neutrophile Granulozyten
ARDS:	Akutes Lungenversagen [engl.: acute respiratory distress syndrome]
ATG:	Antithymozytenglobulin
BMDW:	Bone Marrow Donors Worldwide
Bu:	Busulfan
CB:	Nabelschnurblut [engl.: cord blood]
CD:	Beschreibung der Stammzell-assoziierten Oberflächenantigene [engl.: cluster of differentiation]
CDw:	Schwache Ausbildung des Oberflächenantigens [engl.: weak, steht für schwach]
cGvHD:	chronische Spender-gegen-Wirt-Erkrankung [engl.: graft-versus-host disease]
c-kiT:	Transmembranprotein mit einer externen Ligandenbindungsdomäne, die für den SCF [engl.: stem cell factor] spezifisch ist
CLL:	Chronische Lymphatische Leukämie
CMV:	Cytomegalievirus
CSA:	Ciclosporin A
CSF:	Kolonie-stimulierender Faktor [engl.: colony stimulating factor]
Cy:	Cyclophosphamid
DFS:	Erkrankungsfreier Überlebenszeitraum [engl.: disease-free survival]
DLI:	Donorlymphozyteninfusion [engl.: donor lymphocyte infusion]
DLT:	Donorlymphozytentransfusion
EBMT:	European Group for Blood and Marrow Transplantation
EBV:	Ebstein-Barr-Virus
EFS:	Ereignisfreies Überleben [engl.: event free survival]
FFGvHD:	Ereignissfreie Zeit in Bezug auf das Auftreten einer GvHD [engl.: freedom from graft-versus-host-disease]

FL:	Follikuläres Lymphom
FLU:	Fludarabin
FUO:	Fieber unbekannter Herkunft bei Granulozytopenie [engl.: fever of unknowm origin]
G-CSF:	Granulozyten-Kolonie stimulierender Faktor [engl.: granulocyte colony-stimulating factor]
G-SF:	Granulozyten-stimulierender Faktor
GvH:	Spender-gegen Wirt [engl.: graft-versus-host]
GvHD:	Spender-gegen-Wirt-Erkrankung [engl.: graft-versus-host-disease]
GvL:	Spender-gegen-Leukämie [engl.: graft-versus–leukemia]
GvT:	Spender-gegen-Tumor
Gy:	Gray. Physikalische Einheit der Energiedosis/Energieübertragung durch ionisierende Strahlung.
HCT-CI:	Hematopoetic cell transplantation comorbidity index
HLA:	Humanes Leukozytenantigen [engl.: human leukocyte antigen]
IBMTR:	International Bone Marrow Transplant Registry
KG:	Körpergewicht
KM:	Knochenmark
MAC:	Myeloablative Konditionierung [engl.: myeloablative conditioning]
MCL:	Mantelzell-Lymphom [engl.: mantle cell lymphoma]
MDS:	Myelodysplastisches Syndrom
mHC:	minor histocompatibility antigen
MHC:	Haupthistokompatibilitätskomplex [engl.: major histocompatibility complex]
MMF:	Mycophenolat Mofetil
MMRD:	Unverwandter, nicht HLA-identer Spender [engl.: mismatch unrelated donor]
MPA:	Mycophenolsäure [engl.: mycophenolacid]
MRD:	HLA-identer verwandter Spender [engl.: matched related donor], (die Bedeutung der Abkürzung erschließt sich aus dem Kontext)
MRD:	Minimale Resterkrankung [engl.: minimal residual disease], (die Bedeutung der Abkürzung erschließt sich aus dem Kontext)
MTX:	Methotrexat
MUD:	HLA-identer unverwandter Spender

	[engl.: matched unrelated donor]
n:	Anzahl
NHL:	Non-Hodgkin-Lymphom
NIH:	National Institute of Health der USA
NRM:	Rückfallunabhängige Mortalität [engl.: non-relapse mortality]
OS:	Gesamtüberleben [engl.: overall survival]
PBSCT:	Periphere Blutstammzelltransplantation [engl.:peripheral blood stem cell transplantation]
PCR:	Polymerase-Kettenreaktion [engl.: polymerase chain reaction]
postSCT:	Zeitpunkt/Phase nach der erfolgten Stammzelltransplantation [engl.: stem cell]
PSC:	Peripher gewonnene Blutstammzelle [engl.: peripheral stem cell]
RA:	Refraktäre Anämie
RARS:	Refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten
RIC:	Konditionierung mit reduzierter Intensität [engl.: reduced intensity conditioning]
SCT:	Stammzelltransplantation [engl.: stem cell transplantation]
TBI:	Ganzkörperbestrahlung [engl.: total body irradiation]
TLD-AML:	Dreilinien-AML [engl.: trilineage dysplasia] - Akute myeloische Leukämie
TMP-SMZ:	Trimethoprim-Sulfamethoxazol
TRM:	Transplantationsassoziierte Mortalität [engl.:transplant related mortality]
TX:	Transplantation
VOD:	Verschluss der kleinen Lebervenen [engl.: vene occlusive- disease]
VP-16:	Synonym für Etoposid
WMDA:	World Marrow Donor Association
ZAP-70:	Tyrosinkinase in T-Zellen
ZKRD:	Zentrales Knochenmarkspender-Register Deutschland

1. Einleitung

1.1 Die Geschichte der Stammzelltransplantation

Die allogene Stammzelltransplantation ist eine kurativ intentionierte Therapie bei bestimmten malignen und ausgewählten nichtmalignen hämatologischen oder anderen definierten Erkrankungen durch Übertragung einer pluripotenten hämatologischen Stammzelle zur Wiederherstellung einer ungestörten Immunhämatopoese (1).

Eine universelle Stammzelle für die Blutbildung wurde bereits 1906 durch Beobachtungen bzw. Untersuchungen von Maximov vermutet. Der Beweis für die Existenz/die Identifizierung der lange vermuteten Stammzelle gelangte erst viel später (2).

1916 wurde in Japan durch Transplantationsversuche an Mäusen aus Inzuchtstämmen bzw. genetisch differenten Mäusen nachgewiesen, dass die genetischen Unterschiede eine Rolle bei der Transplantatabstoßung spielen müssen (Inzuchtmäuse wiesen dagegen keine Abstoßung des implantierten Tumors auf) (3).

Wichtige Erkenntnisse und Erfahrungen über Funktion und Besonderheiten des menschlichen Knochenmarks wurden nach den Atombombenexplosionen von Hiroshima und Nagasaki 1945 sowie nachfolgend durch den therapeutischen Einsatz von Knochenmark in Extremsituationen, wie z.B. nach Strahlenschäden im Rahmen von Reaktorunfällen, gesammelt. Nach einem Reaktorunfall 1959 im ehemaligen Jugoslawien wurden fünf Patienten allogen transplantiert, diese überlebten nur vorübergehend (4).

Erstmals wurde von JW Goodman und GS Hodgson 1962 über das Vorhandensein einer Blutstammzelle im peripheren Blut von Mäusen mit Differenzierung sowohl in die rote als auch weiße Reihe berichtet (5). Im Mausmodell wurde nach erfolgter Ganzkörperbestrahlung die folgende hämatopoetische „Erholung“ als Zeichen eines immunologisch vermittelten Effektes gewertet. Die Beschreibung einer Spender-gegen-Wirt-Reaktion führte zu dem vorübergehend gebrauchten Begriff der „secondary disease“ bzw. „wasting disease“ (6). Durchgesetzt hat sich der Begriff GvHD (graft versus-host disease).

Während Jacobsen et al noch keine eindeutige Erklärung für den Benefit der Mäuse nach subletaler Ganzkörperbestrahlung unter Bleiabschirmung der Milz geben konnten (7), gelang dies später der Forschergruppe um Lorenz. Ihre Arbeit wies die

intravenöse Gabe von Knochenmarkzellen in sublethal bestrahlte Mäuse als Ausgangspunkt für Regeneration und Überleben nach (8).

Die Wirkung des Transplantates auf den Wirtsorganismus studierte Mathè, daraus abgeleitet prägte er in den sechziger Jahren den Begriff der adoptiven Immuntherapie (9).

Bereits in den fünfziger Jahren wurde von Barnes durch das Mausmodell der Graft-versus-Leukämie-Effekt (GvL) postuliert, diesem aber keine weitere Bedeutung beigemessen und daher lange vernachlässigt; erst 1973 wurde dieser von Bortin als positiver Überlebensfaktor interpretiert (10).

1973 wurde in einer Veröffentlichung über 200 Knochenmarktransplantationen berichtet (durchgeführt zwischen 1950 und 1962), die ernüchternden Daten erklärten sich im Nachhinein aus der Unkenntnis von Gewebetypisierung, Konditionierung und Posttransplantations- Immunsuppression (11). Die Zugabe von Methotrexat und Mercaptopurin bei transplantierten Mäusen zeigte eine verbesserte Immuntoleranz bzw. Graft-versus-host (GvH) Reaktion (12). Ergebnisse von Transplantationen zwischen Hunden eines Wurfes (genotypisch ident) und nicht HLA-identem Geschwister führten zur Entwicklung von Prinzipien und Techniken der Knochenmarktransplantation und waren durch die in vitro erreichten Ergebnisse zur Histokompatibilität mit übertragbaren Ergebnissen bezüglich Vorhersage des outcome nach Transplantation bedeutsam. Zugleich wurde man auf weitere, unabhängig vom HLA-Typ, bedeutsame Faktoren für die Ausbildung einer schweren GvHD aufmerksam. Diese stellten sich als Minor-Histokompatibilitäts-Antigene heraus (13).

1968 waren die ersten Knochenmarktransplantationen von HLA-identen Spendern bei Immundefekten erfolgreich (14). 1972 wurde der erste Patient mit einer Aplastischen Anämie erfolgreich transplantiert (15).

Der Graft-versus-Leukämie-Effekt bzw. im Kontext einer sonstigen Malignomerkrankung als Graft-versus-Tumor-Effekt verwendete Begriff beschreibt die Verminderung des Risikos eines Rezidivs nach allogener Transplantation. Diese immunolgische Wirkung ist seit den 70-iger und 80-iger Jahren bekannt und bei Leukämiepatienten nach allogener Transplantation zunächst als Anti-Tumor-Effekt bezeichnet worden (16).

Eine Weiterentwicklung dieses Prinzips führte zur heute etablierten Anwendung von Donorlymphozyten (17), (18). Ermöglicht wurde dadurch die Etablierung der dosisreduzierten Konditionierungsprotokolle (RIC).
Weitere Fortschritte kamen mit den Erkenntnissen aus Arbeiten zur Gewebetypisierung und Kenntnissen zu dem HLA-System. Dadurch kann auf unverwandte Knochenmark- und Stammzellspender zurückgegriffen werden.

1.2 Prinzipien der allogenen Transplantation hämatopoetischer Stammzellen

Das Ziel der Transplantation ist entweder:

- die Eradikation einer erkrankten hämatopoetischen Stammzelle bzw. einer stammzellabhängigen Störung oder
- die Eradikation eines Malignoms oder eines erkrankten Organs oder
- die Implementation eines neuen Immunsystems und eines neuen hämatopoetischen Systems.

Durch eine selektive Spenderauswahl ist das transplantierte Knochenmark frei von erkrankten/malignen Zellen. Die hämatopoetischen Stammzellen befinden sich im Knochenmark, sie sind der Ausgangspunkt für die Differenzierung und Ausreifung aller im Blut vorhandenen Zellen. Der Prozess der Hämatopoese beginnt in der frühen Embryogenese (19).
Die Stammzelle exprimiert das Oberflächenantigen CD34, diese Beschreibung erfolgte 1984 durch Curt Civien (20). CD34 negative Zellen sind als Ausnahmen nachgewiesen worden (21), (39). Durch die speziellen Färbeeigenschaften werden die Stammzellen mittels Durchflusszytometrie identifiziert.
Im Einzelnen sind hämatopoetische Stammzellen folgendermaßen charakterisiert:
Oberflächenantigenexpression positiv: für CD34, CD133.
Gering positiv: für Thy 1 (CDw90), c-kit
Negativ: für CD38, CD33, T- und B-Zell Marker, CD71, DR.
Keine Anfärbung durch Rhodamine 123, Hoechst 33342 (22).
Die Stammzelle hat die Fähigkeit zur symmetrischen und asymmetrischen Teilung (23). Es wird kontrovers diskutiert, ob die Stammzelle ein unerschöpfliches Potential zur Selbsterneuerung besitzt (24).

Der Anteil an Stammzellen im Knochenmark beträgt zwischen 1–2 % (25).
Die hämatopoetische Stammzelle ist unter dem Einfluss von Interleukinen zur weiteren Differenzierung in verschiedene Zelllinien befähigt. Ein Forschungsaspekt ist unverändert das Konzept der Stammzellnische mit den wichtigen Interaktionen zwischen geeignetem, optimalen Stromamilieu und der Zellreifung. Schofield hat 1978 hierüber publiziert (26).
Von Interesse und klinischer Bedeutung sind in diesem Zusammenhang Fragestellungen zur Stammzellnische für Tumorzellen oder eine mögliche Interaktion/Beeinträchtigung der Kapazität für die „normale Stammzellnische“ (27).

Der Großteil der Stammzellen befindet sich im Knochenmark; nur ein sehr geringer Anteil zirkuliert ständig im peripheren Blut und ist in geringer Konzentration zum Zeitpunkt der Entbindung auch im Nabelschnurblut vorhanden. Während lange Zeit ausschließlich Knochenmark als Stammzellquelle verwendet wurde, ist heute die Verwendung mobilisierter peripherer Blutstammzellen üblich. Ob generell periphere Stammzellen günstiger als Knochenmark sind, scheint im Zusammenhang mit transplantationsspezifischen Besonderheiten, wie dem verfügbaren Spender, noch nicht für jede Erkrankung, die prinzipiell durch eine Transplantation behandelbar ist, geklärt. Die Arbeitsgruppe um Schrezenmeier berichtete 2007 über ein schlechteres outcome und mehr chronische GvHD-Fälle bei Einsatz von PBSC im Vergleich zu Knochenmark bei HLA-gematchten Geschwisterspendern für junge Patienten mit einer erworbenen schweren aplastischen Anämie (28).
Die Mobilisierung der Stammzellen kann durch ein G-CSF Präparat erfolgen. Obwohl der Einsatz von Zytokinen (G-CSF-Präparate) der heutige Standard zur Mobilisierung ist, sind weitere Substanzen bekannt. Bei primärem Versagen einer G-CSF Mobilisierung besteht nach einem Erfahrungsbericht die Möglichkeit, Plerixafor mit Erfolg einzusetzen (29).
In der Entwicklung sind weitere Substanzen, wie zum Beispiel CXCR-Antagonisten oder die Substanz Me6TREN (30), (31), (32).
Mit der Weiterentwicklung der Stammzellspende von nicht verwandten HLA-identen Spendern kann bei ca. 75 % der Patienten eine Erfolg versprechende, kurative Therapie erfolgen. Der Vorteil von Nabelschnurblut besteht in der schnelleren Verfügbarkeit und dem geringeren Risiko für eine GvHD, das Engraftment und die Immunrekonstitution verlaufen dagegen langsamer, ebenso besteht ein höheres

Risiko einer Infektion. Die Kosten sind besonders bei Verwendung von Doppeleinheiten sehr hoch (34), (35).

Aktuell haben bis 2013 über 1 Millionen Patienten eine Knochenmarktransplantation erhalten (36).

Die Auswahl der Stammzellquelle erfolgt nach Verfügbarkeit eines geeigneten verwandten oder unverwandten Spenders, Alter, spezieller Krankheitssituation und der Dringlichkeit. Für einen insgesamt möglichst guten Behandlungserfolg (stabiles Langzeit-Engraftment, größtmögliches five-year survival, möglichst geringe transplantations-assoziierte Mortalität (engl. transplantation-related mortality) ist die Anzahl der transplantierten (nukleären) Zellen von erheblicher Bedeutung. Empfohlen wird eine Dosis von mindestens 1 x 10^6/kg, besser jedoch von 2 x 10^6/kg CD34+Zellen (37). Die Dosis der transplantierten Stammzellen ist nicht nur für den Erfolg des Engraftments per se, sondern auch für die Prävention einer GvHD von Bedeutung, je mehr, desto günstiger (38).

Wie unter Punkt 1.1 bereits kurz erläutert, stehen mit Knochenmark, peripheren Blutstammzellen und Nabelschnurblut drei Stammzellquellen zur Verfügung. Durch die historisch begründete, initial ausschließliche Verfügbarkeit von Knochenmark, war dieses lange Zeit die am meisten präferierte Quelle, die moderne Therapie verfügt inzwischen auch über die Möglichkeiten der peripheren Stammzelltransplantation durch zuvor aus dem Knochenmark mobilisierte Stammzellen und über die Verwendung von Nabelschnurblut (englisch: umbilical cord blood). Durch Kenntnisse über die Existenz und die Möglichkeiten zur Mobilisierung der Stammzelle werden jetzt überwiegend periphere Blutstammzellen verwendet. Der Einsatz von Nabelschnurblut geht auf die Arbeiten von Broxmeyer zurück, über die erste erfolgreiche cord blood Transplantation wurde 1989 berichtet, die Nabelschnurbluttransplantation erfolgt weitgehend bei Kindern (33). Bis heute wurde in keiner randomisierten Studie die Stammzelltransplantation von haploidenten Spendern gegen Nabelschnurblut verglichen (34).

In einer Veröffentlichung von 2013 wurde eine unverwandte Tx (zwei Einheiten) mit cord blood gegen eine 9/10 mismatched unverwandte SCT nach Konditionierung in reduzierter Intensität verglichen, bei geringeren Raten von chronischer GvHD erscheint Nabelschnurblut als eine valide Alternative (40).

1.2.1 Die Stammzellspende im Allgemeinen und speziell in der Bundesrepublik Deutschland

Die Transplantation von Blutstammzellen ist nur möglich durch eine internationale Zusammenarbeit von Registern und Nabelschnur-Blutbanken, koordiniert durch die World Marrow Donor Association (WMDA) mit Sitz in Leiden/Niederlande. 2013 waren weltweit 22 Millionen Spender registriert. Täglich werden 21 Stammzellprodukte an geeignete Patienten weitergegeben. Möglich ist dies nur über die weltweite Vernetzung von 71 Spenderregistern, 160 Nabelschnur-Blutbanken, 350 Spenderzentren in 48 Ländern und 1259 transplantierenden Kliniken (41), (43), (43).

Zwischen 1998 und 2008 wurden in Deutschland 16014 Ersttransplantationen durchgeführt, davon entfallen 2519 auf Familienspender, 5496 auf Geschwisterspender, 91 auf Zwillingsspender und 9108 auf Fremdspender. Aktuelle Zahlen und Ergebnisse sind dem jeweiligen Jahresbericht des Deutschen Registers für Stammzelltransplantationen zu entnehmen.

Die folgenden Tabellen 1 und 2 (43) zeigen die absoluten Fallzahlen sowie die dazugehörigen Prozentsätze der Indikationen zur allogenen Ersttransplantation in den letzten Jahren, aufgeschlüsselt nach Diagnosen, die Anlass zur allogenen Ersttransplantation von blutbildenden Stammzellen gaben.
CR: komplette Remission, CP: chronische Phase

Jahr	**2010**		**2011**		**2012**		**2013**	
Diagnose/Stadium	N	%	N	%	N	%	N	%
Leukämie								
AML 1. CR	377	14,4	433	15,2	521	18,2	538	18,6
AML nicht 1. CR	495	18,9	543	19,1	505	17,6	557	19,3
ALL 1. CR	192	7,3	181	6,4	183	6,4	178	6,2
ALL nicht 1. CR	123	4,7	130	4,6	144	5	138	4,8
CML 1. CP	24	0,9	25	0,9	17	0,6	22	0,8
CML nicht 1. CP	48	1,8	48	1,7	51	1,8	33	1,1
MDS (+ transf. sek. AL)	429	16,4	508	17,8	477	16,6	412	14,2
MPN	158	6	129	4,5	105	3,7	126	4,4
CLL	97	3,7	126	4,4	118	4,1	129	4,5
Summe Leukämie	1943	74,3	2123	74,5	2121	74	2133	73,8
Lymphoproliferative Erkrankung								
Plasmazellerkrankung: Myelom	181	6,9	188	6,6	218	7,6	197	6,8
Plasmazellerkrankung: andere	6	0,2	3	0,1	3	0,1	4	0,1
Morbus Hodgkin	34	1,3	20	0,7	26	0,9	36	1,2
Non-Hodgkin-Lymphom	260	9,9	301	10,6	272	9,5	316	10,9
Summe Lymphoproliferative Erkrankung	481	18,4	512	18	519	18,1	553	19,1
Solide Tumore								
Neuroblastom	10	0,4	13	0,5	13	0,5	17	0,6
Weichteiltumor	0	0	8	0,3	3	0,1	2	0,1
Brustkrebs	0	0	0	0	0	0	0	0
Ewing-Sarkom	6	0,2	1	0	1	0	1	0
andere Solide Tumore	6	0,2	1	0	3	0,1	4	0,1
Summe Solide Tumore	22	0,8	23	0,8	20	0,7	24	0,8

Nicht Maligne Erkrankung								
Knochenmarkaplasie: SAA	51	2	58	2	61	2,1	41	1,4
Knochenmarkaplasie: andere	20	0,8	17	0,6	19	0,7	23	0,8
Hämoglobinopathie: Thalassämie	14	0,5	6	0,2	15	0,5	20	0,7
Hämoglobinopathie: andere	2	0,1	6	0,2	14	0,5	4	0,1
prim. Immundefekte	50	1,9	69	2,4	61	2,1	69	2,4
angeb. Metabolismusdefekte	17	0,7	17	0,6	24	0,8	10	0,3
Summe Nicht Maligne Erkrankung	154	5,9	173	6,1	194	6,8	167	5,8
Andere								
Autoimmunerkrankungen	6	0,2	3	0,1	6	0,2	4	0,1
andere Erkrankungen	9	0,3	14	0,5	6	0,2	11	0,4
Summe Andere	15	0,6	17	0,6	12	0,4	15	0,5
Gesamt	**2615**	**100**	**2848**	**100**	**2866**	**100**	**2892**	**100**

Stammzellquelle aufgeschlüsselt nach Diagnosen für die im Jahr 2013 durchgeführten allogenen Ersttransplantationen.

Tabelle 2:

Stammzellquelle	**KM**		**PB**		**CB**		**Gesamt**
Diagnose/Stadium	N	%	N	%	N	%	
Leukämie							
AML 1. CR	48	8,9	489	90,9	1	0,2	538
AML nicht 1. CR	33	5,9	524	94,1	0	0,0	557
ALL 1. CR	34	19,1	144	80,9	0	0,0	178
ALL nicht 1. CR	42	30,4	96	69,6	0	0,0	138
CML 1. CP	0	0,0	22	100,0	0	0,0	22
CML nicht 1. CP	2	6,1	30	90,9	1	3,0	33
MDS (+ transf. sek. AL)	45	10,9	364	88,3	3	0,7	412
MPN	9	7,1	117	92,9	0	0,0	126
CLL	5	3,9	124	96,1	0	0,0	129

Lymphoproliferative Erkrankung							0
Plasmazellerkrankung: Myelom	7	3,6	190	96,4	0	0,0	197
Plasmazellerkrankung: andere	0	0,0	4	100,0	0	0,0	4
Morbus Hodgkin	2	5,6	34	94,4	0	0,0	36
Non-Hodgkin-Lymphom	19	6,0	296	93,7	1	0,3	316
Solide Tumore							0
Neuroblastom	0	0,0	17	100,0	0	0,0	17
Weichteiltumor	0	0,0	2	100,0	0	0,0	2
Ewing-Sarkom	0	0,0	1	100,0	0	0,0	1
andere Solide Tumore	1	25,0	3	75,0	0	0,0	4
Nicht Maligne Erkrankung							0
Knochenmarkaplasie: SAA	27	65,9	14	34,1	0	0,0	41
Knochenmarkaplasie: andere	15	65,2	7	30,4	1	4,3	23
Hämoglobinopathie: Thalassämie	14	70,0	6	30,0	0	0,0	20
Hämoglobinopathie: andere	3	75,0	1	25,0	0	0,0	4
prim. Immundefekte	42	60,9	25	36,2	2	2,9	69
angeb. Metabolismusdefekte	7	70,0	3	30,0	0	0,0	10
Andere							0
Autoimmunerkrankungen	1	25,0	3	75,0	0	0,0	4
andere Erkrankungen	5	45,5	6	54,5	0	0,0	11
Gesamt	**361**	**12,5**	**2522**	**87,2**	**9**	**0,3**	2892

Quelle: 42;43

In Deutschland sind mit Stand vom 14.04.2013 nach Angaben des Zentralen Knochenmarkspenderregisters 4.922.059 Spender registriert, weltweit 21.512.586 mit Stand vom 26.03.2013 (nach BMDW).

Nur HLA-A-B-typisierte Spender: 947.490

HLA-A-B-DR-typisierte Spender: 3.974.569

Gesamtanzahl: 4.922.059 (44)

1.2.2 Das HLA-System

Die Bedeutung des HLA-Systems spiegelt sich in der Auswahl von kompatiblen Spendern und Empfängern wieder. Das HLA-System (Humanes Leukozyten-Antigen-System) spielt eine entscheidende Rolle bei der T-Zell-vermittelten Immunantwort. Humane-Leukozyten-Antigene sind verantwortlich für die Präsentation von endo- und exogenen Peptid-Antigenen. Sie sind jedoch nicht nur auf Leukozyten, sondern auch auf den Membranoberflächen der meisten kernhaltigen Zellen vorhanden. Die Proteine des HLA-Systems sind hochpolymorphe Moleküle der Zellmembran, sie binden Peptide und präsentieren diese den T-Zellen. Die humanen Leukozyten-Antigene sind mit dem Haupt-Histokompatibilitäts-Komplex verantwortlich für die Erkennung und folgende Abstoßungsreaktion von als fremd erkannten Zellen/Geweben sowie auch für die GvHD und GvL-Reaktionen.

Die HLA-Allele liegen alle auf dem kurzen Arm von Chromosom 6, sie werden in der Regel gekoppelt weitergegeben. Die hochauflösende HLA-Typisierung erfolgt durch eine molekulargenetische Bestimmung der Gene. HLA-Moleküle werden durch eine Vielzahl von Genen im Bereich der MHC-Region (Major Histocompatibility Complex) kodiert. Es werden drei MHC- Klassen unterschieden:

Klasse I: HLA-Antigene A, B und Cw (diese Allele werden vierstellig aufgelöst)

Klasse II: HLA-Antigene DRB1, DP und DQB1.

Klasse III: sie kodiert u.a. für Komplementfaktoren.

Die Bestimmung kann serologisch, mittels PCR oder auch durch die DNA-Sequenzierung von HLA-Loci erfolgen (45), (46).

Routinemäßig erfolgt derzeit die Untersuchung für HLA-A, -B, -C, -DRB1 und –DQB1 Allele (10/10), jedoch nicht für HLA-DPB1. Durch neuere Untersuchungen wird angenommen, dass zwischen 70 und 80% aller unverwandten Spender einen HLA-DPB1-mismatch aufweisen. Dieses hat eine Bedeutung für die Induktion eines GvL-Effektes ohne GvHD, da durch eine virale Infektion nach einer T-Zell depletierten allogenen Stammzelltransplantation die Expression von Molekülen der HLA Klasse II auf nichthämatopetischen Zellen hochreguliert wird und dadurch Ziele für CD4+ T-Zellen im Rahmen der GvHD angeboten werden (47).

Bei einer Stammzelltransplantation müssen Spender und Empfänger eine möglichst vollständige Übereinstimmung der MHC-Loci aufweisen, um das Risiko einer Abstoßungsreaktion zu minimieren und eine GvHD-Reaktion zu vermeiden (50). Ursprünglich wurden 8, heute 10 Parameter untersucht (für jedes der fünf wichtigsten

Merkmale gibt es bis zu 100 unterscheidbare Varianten), um den geeignetsten Spender zu identifizieren (45), (48), (50).

Der Ausgangspunkt einer Transplantation mit Verwendung eines HLA-identen verwandten oder unverwandten Spenders oder das Vorliegen einer MHC-mismatched Situation ist mitentscheidend für das outcome der Patienten. Verwiesen wird auf eine Arbeit von Shono zur frühen Zerstörung der Stammzellnische nach MHC-mismatched Transplantation von Knochenmark durch eine GvHD (51).

Möglich geworden sind auch HLA-haploidente Transplantationen bei 2 oder 3 veränderten Genorten, da voll haploidente familiäre mismatch transplantierte Patienten ein ähnliches outcome haben wie matched unrelated Transplantierte (52).

Je nach Verfügbarkeit eines verwandten Spenders kann auch bei einem partiellen HLA-mismatch eine allogene Transplantation erfolgreich durchgeführt werden (53).

Insgesamt belegen die Daten, dass Knochenmark von einem verwandten HLA-identen Spendern und auch von einem unverwandten HLA-identen Spender zu besseren Ergebnissen (outcome) führen als ein Spender mit einem partiellen HLA-mismatch (54).

Die haploidente Transplantation ist nicht nur für Patienten mit Zugehörigkeit zu einer ethnischen Minderheit interessant, sondern auch für Kinder ohne passenden Fremdspender, da die meisten einen HLA-Locus-Haplotyp-identen Familienspender (Eltern) haben. Die Drei-Locus-Mismatch-Situation bedingt jedoch ein hohes Risiko für GvHD und Abstoßung (55).

1.3 Ergebnisse der allogenen Stammzelltransplantation

Die Indikation für eine Knochenmarktransplantation sind verschiedene maligne und nichtmaligne hämatologische Systemerkrankungen, diese sind nach dem hämatologischen Standardwerk Wintrobe`s Clinical Hematology, Kapitel Hematopoietic Stem Cell Transplantation von Richard A. Nash folgende:

Nichtmaligne Erkrankungen:

- Aplastische Anämie
- Fanconi Anämie
- Diamond-Blackfan Syndrom
- Sichelzellanämie
- Thalassämie
- Paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie
- Myelofibrose
- Kongenitale Neutropenie
- Chédiak-Higashi Syndrome
- Chronische granulomatöse Erkrankungen
- Thrombasthenie Glanzmann
- Osteopetrose
- Morbus Gaucher
- Mucopolysacharidose
- Mucolipidosis
- Immunmangelerkrankungen

Maligne Erkrankungen:

- Akute nichtlymphoblastische Leukämie
- Akute lymphoblastische Leukämie
- Haarzell-Leukämie
- Myelodysplasie
- Chronische myeloische Leukämie
- Chronische lymphatische Leukämie
- Hodgkin-Lymphom
- Non-Hodgkin-Lymphome
- Multiples Myelom
- Solide Tumore (56).

Anmerkung: Der im amerikanischen Sprachgebrauch verwendete Begriff der lymphoblastischen Leukämie ist mit der deutschen Bezeichnung akute lymphatische Leukämie identisch.

Bei den nichtmalignen hämatologischen Erkrankungen sollten die aplastische Anämie und die multiple Sklerose in einer schweren Form vorliegen, um die Entscheidung zur Transplantation in kurativer Intention zu treffen.

Für die Bundesrepublik Deutschland werden die Indikationen für eine Blutstammzelltransplantation regelmäßig aktualisiert, sie sind in den Leitlinien der Fachgesellschaften zu finden (57). Es folgt eine kurze Auswahl von Ergebnisse einer allogenen Stammzelltransplantation. Die verschiedenen Erkrankungen in unterschiedlichen Stadien, Patienten in unterschiedlichem Alter mit unterschiedlichen vorausgegangenen Behandlungen lassen es unmöglich erscheinen, an dieser Stelle alle Ergebnisse aufzulisten, Daten einzelner Entitäten werden kurz dargestellt. Auf die umfangreiche internationale Literatur wird verwiesen.

Von April 1996 bis Juli 1998 wurden in einer Studie von Blau et al mit die ersten Patienten mittels PBSCT behandelt, von ihren Patienten hatten nur 30 % von 18 Patienten einen MRD (match related donor). Bei keinem der Patienten kam es zu einem graft-failure. Die Rate an akuter GvHD und die Rückfallquote (Relapserate) war mit 40 % und 24 % ähnlich hoch wie nach konventioneller Knochenmarktransplantation. Die Diagnosen waren vergleichbar. Im 5-Jahres follow-up wurde 2007 eine behandlungsbedingte Mortalität von 59 % mitgeteilt (64). Umfangreiche immunobiologische Untersuchungen der peripheren Blutstammzellen, die nach Stimulation mit G-CSF gewonnen wurden, zeigten neben der Möglichkeit auch die Sicherheit (65).

Da im Vergleich zur konventionellen Knochenmarkspende die periphere Stammzellsammlung einfacher zu handhaben ist (keine OP, kein Narkoserisiko, kein Schmerz, kein erheblicher Blutverlust durch die Apherese, und der schnellereren hämatologischen Rekonstitution) werden periphere Blutstammzelltransplantationen (PBSC) für Verwandte mit HLA-match bevorzugt (66).

Eine weitere Langzeitanalyse zum outcome nach HLA-identer PBSCT mit vorangegangener G-CSF Mobilisierung und myeloablativer Konditionierung des Empfängers ergab bei einer anderen Forschergruppe die signifikante Überlegenheit des disease-free survivals im Vergleich zur Verwendung von Knochenmark in der

Vergleichsgruppe, die kumulative Inzidenz einer chronischen GvHD während der Dauer der Immunsuppression war ähnlich (67).

Nach Untersuchungen von Bensinger 2012 führt der Einsatz von PBSC im Vergleich zu unstimuliertem Knochenmark zu einer geringeren Rate an Krankheitsrückfällen (insbesondere bei fortgeschrittenen hämatologischen Malignomen), jedoch zu höheren Raten an chronischer GvHD. Transplantierte Stammzellen aus Filgrastim-stimuliertem Knochenmark zeigten ein ähnlich schnelles Engraftment, jedoch ohne größerem Risiko für eine cGvHD (68). Eine besondere Herausforderung der Transplantationsmedizin ist die AML, da diese eine Erkrankung des älteren Menschen ist und mit einer allgemeinen Steigerung der Lebenserwartung die Anzahl dieser Patienten weiter steigen wird. Die Ergebnisse einer allogenen Stammzelltransplantation sind im Vergleich mit einer konventionellen Therapie deutlich besser bei ansonsten infauster Prognose. Es liegen umfangreiche Daten vor (publiziert 2013), die die Sicherheit bezüglich Langzeitüberleben auch durch eine aggressive Therapie wie die Stammzelltransplantation belegen (58). Im Einzelfall ist für das outcome der Spenderstatus (matched unrelated oder HLA-identer Geschwister) zu berücksichtigen (59). Über den geeigneten Zeitpunkt der Transplantation wird diskutiert (MRD in der 1. kompletten Remission, MUD in der 2. kompletten Remission, der geeignete Zeitpunkt in der Hochrisikosituation ist im Fluss).

In Abhängigkeit vom molekularen Risiko profitieren verschiedene Patientengruppen unterschiedlich, intermediate- und poor-risk Gruppen haben einen Benefit für das rückfallfreie und Gesamtüberleben, nicht jedoch Patienten mit einem good-risk Profil. Dies bezieht sich auf junge Patienten mit einer de novo AML (60).

Für zytogenetisch definierte Standard-risk-Gruppen der akuten myeloischen Leukämie (AML) werden molekulare Marker in die Entscheidung zur allogenen Stammzelltransplantation in 1. kompletter Remission herangezogen (61).

Bei der akuten lymphatischen Leukämie (ALL) wird mit einer allogenen peripheren Stammzelltransplantation im Vergleich zur konventionellen Standardchemotherapie bei Patienten mit einer Hochrisikosituation sowie bei den Patienten in zweiter Remission ein Vorteil erreicht. Da die akute lymphatische Leukämie (ALL) eine sehr heterogene Erkrankung ist, wurden zur Abschätzung des individuellen Risikos Risikofaktoren definiert. Diese sind: Alter über 55 - 65 Jahre, die Translokation t(9;22)/BCR-ABL oder t(4;11)/ALL_1-AF_4, ein komplex aberranter Karyotyp, eine

initiale Leukozytenzahl >30 x 10^9/l bei der B-ALL, wenn die Zeit bis zum Erreichen einer kompletten Remission länger als 2 - 4 Wochen dauert (62). Erwachsene Patienten überleben eine Geschwistertransplantation, sofern diese nach der ersten Remission erfolgt, zwischen 48 % und 49 %. Die Ergebnisse bei der Philadelphia-Chromosom positiven (Ph+) Erkrankung sind besonders schlecht. Wenn die Patienten einer Risikogruppe mit ungünstigen prognostischen Faktoren angehören und ihre Überlebenswahrscheinlichkeit mit einer weiteren Chemotherapie unter 40% beträgt, wird die allogene Stammzelltransplantation von den meisten europäischen Zentren in der 1. Remission empfohlen (70). Das Überleben nach einer HLA-angepassten Fremdspendertransplantation (ebenfalls in erster Remission) beträgt zwischen 42% und 45%. Wird die Transplantation dagegen in zweiter Remission vorgenommen, beträgt das Langzeitüberleben etwa 20% (71).

Auch CLL-Patienten mit einer molekularen/zytogenetischen poor-risk-Situation können fremdallogen transplantiert werden. Die Definition für poor-risk bedeutet hier im konkreten Kontext die Resistenz der Erkrankung gegenüber einer Chemotherapie (einschließlich der Therapie mit modernen Purin-Analoga in Kombination mit Antikörpern). Unvorteilhafte Parameter sind eine IgVH-Mutation, die Expression von ZAP 70 und/oder die Deletion 17p. Die Deutsche CLL Study Group hat hierzu Daten des CLL3X trials veröffentlich (63). Jede Indikation zur Transplantation muss als Einzelfallentscheidung unter Abwägung des zu erwartenden Ergebnisses und des individuellen Risikos sorgfältig geprüft werden.
2012 wurde veröffentlicht, dass bei der AML das outcome nach gematchter unverwandter Spende im Vergleich zur genetisch-identen Geschwisterspende vergleichbar ist (58). Unterschiede im Stellenwert der Transplantation liegen darin begründet, ob der Patient in der ersten kompletten Remission oder im Rezidiv bzw. refraktären AML transplantiert wird (69).
Das krankheitsfreie Überleben nach CML in chronischer Phase betrug für Patienten zwischen 30 und 40 Jahren innerhalb eines Jahres nach Diagnosestellung im Zeitraum zwischen 1994 und 1999 69 ± 2% sowie für 57 % nach Transplantation in chronischer Phase nach dem ersten Jahr nach Diagnosestellung (bei verwandter Stammzelltransplantation). Durch die Möglichkeit des individuellen Einsatzes der verschiedenen Tyrosinkinase- Inhibitoren ist mit einem Rückgang der Transplantationzahlen zu rechnen, obgleich die allogene Transplantation bei

medikamentösem Therapieversagen, einer weniger als major- molecular-response nach einer definierten Behandlungszeit, bei einem Anstieg der bcr-abl-Level oder bei zusätzlich auftretenden molekulargenetischen Besonderheiten (Nachweis einer T315I-Mutation) ihre Bedeutung behalten wird (72).

Bei der Erkrankungsgruppe Myelodysplastisches Syndrom (MDS)/ Myeloproliferatives Syndrom (MPS) konnten bisher ca. 30-40% der Patienten durch eine allogene Stammzelltransplantation geheilt werden, problematisch ist die hohe Therapiebedingte Mortalität von 30 – 50 % (73).

Beim myelodysplastischen Syndrom (MDS) sind Faktoren für eine günstige oder ungünstige Überlebenswahrscheinlichkeit nach der allogenen Stammzelltransplantation etabliert.

Günstige Faktoren:

- junges Alter
- guter Allgemeinzustand
- frühes Krankheitsstadium (RA, RARS)
- niedriger IPSS.

Als ungünstige Faktoren sind die folgenden anzusehen:

- Alter > 60 Jahre
- schlechter Allgemeinzustand
- fortgeschrittenes Krankheitsstadium(RAEB, RAEB-T)
- lange Krankheitsdauer
- hoher IPSS.

Der IPSS (International Prognostic Index für das MDS) ist ein Punkte-Score unter Einbeziehung Blastenanteil im Knochenmark, Karyotyp, Anzahl der betroffenen Zellreihen und definiert vier Risikogruppen. Er bietet einen etablierten Anhaltspunkt zur Abschätzung der Prognose. Während Patienten mit einem IPSS-Score Intermediate II oder Hoch-Risiko die höchste Lebenserwartung hatten, wenn sie sofort transplantiert wurden, war der Überlebensgewinn für Low- oder Intermediate I-Risiko-Patienten am größten, wenn sie nicht sofort, sondern erst bei Progress transplantiert wurden (74).

Die primäre Myelofibrose und die davon abzugrenzenden Formen der sekundären Myelofibrosen, die aus fortgeschrittenen Stadien der Polycythaemia vera oder der essentiellen Thrombozythämie entstehen kann, waren lange nur symptomatisch behandelbar. Im Vergleich zu den klassischen malignen hämatologischen

Erkrankungen wurde das kurative Konzept einer Stammzelltransplantation erst spät in den klinischen Alltag eingeführt. In anfänglichen Studien betrug die therapiebedingte Mortalität zwischen 28 und 40 %. Durch dosisreduzierte Konditionierungen konnten diese Ergebnisse verbessert werden, beschrieben wurde auch ein Graft-versus-Myelofibrose-Effekt (75).

Da bei über 50 % der Patienten mit einer Primären Myelofibrose eine Mutation im JAK2V617F-Gen vorliegt (76) und erst relativ kurz ein molekularer Therapieansatz mit dem Januskinase-Inhibitor Ruxolitinib verfügbar ist, werden sich die Daten in den kommenden Jahren verändern.

Die chronische myelomonozytäre Leukämie (CMML) kann durch eine konventionelle Therapie nicht geheilt werden, die vorhandenen Daten über eine erfolgreiche fremdallogene Stammzelltransplantation sind gering (77).

Bei angeborenen Stoffwechseldefekten können durch die Stammzelltransplantation gesunde Stammzellen und nachfolgend enzymgesunde Makrophagen im Empfängerorganismus zum einen die fatale Spirale mit Inflammation und Neurodegeneration durchbrechen, und zum anderen durch den Abbau von pathologischen Metaboliten eine Rückbildung spezieller Symptome erreicht werden.

Auch angeborene, gut definierte Immundefekte mit normaler hämatopoetischer Knochenmarkfunktion können durch die Transplantation je nach zugrunde liegender Erkrankung erfolgreich behandelt werden mit einem Gesamtüberleben in verschiedenen Größenordnungen.

1.4 Die Phasen der allogenen Transplantation

1.4.1 Die Vorbereitung

Nach Diagnosestellung einer Erkrankung, die mit einer konventionellen Therapie einen infausten Verlauf nimmt, sollten diese Patienten mit den unter Punkt 1.3 aufgeführten Erkrankungen frühzeitig in einem Transplantationszentrum vorgestellt werden um bereits nach Diagnosestellung in einen Zentrum nach standardisierten Therapieprotokollen behandelt werden zu können, nach Möglichkeit innerhalb von Studien. Grundsätzlich muss bei jedem Patienten die individuelle Eignung für eine Stammzelltransplantation geprüft und die zu erwartenden Komplikationen evaluiert und Nutzen und Risiko gegeneinander abgewogen werden. Nicht jeder erkrankte Patient ist für eine Transplantation geeignet. Eine sehr umfassende Aufklärung des Patienten und seiner Angehörigen ist essentiell.

1.4.2 Die Spenderauswahl

Der potentielle Stammzellspender sollte im Idealfall ein junges Geschwister des Patienten sein. Parallel zur eigentlichen HLA-Typisierung wird der Spender getestet auf HIV, Hepatitis B und C, CMV, Lues und Toxoplasmose, eine Schwangerschaft wird ausgeschlossen und die Blutgruppe bestimmt. Es müssen gesundheitliche Anforderungen der freiwilligen Person erfüllt sein, bestimmte Kontraindikationen beachtet werden. Erst dann erfolgen die Typisierung und Aufnahme in das Spenderregister (78). Geschwisterspender werden nicht zwingend in ein Register aufgenommen. Für ca. 10 % der Patienten wird in Deutschland kein HLA-kompatibler Spender gefunden.

Bei Auswahl des Spenders sind bei gleichem HLA-Typ weitere Merkmale für die endgültige Anforderung entscheidend. Für das Gesamt- und erkrankungsfreie Überleben, das Auftreten einer akuten oder chronischen GvHD und Relapses sind die Merkmale Alter, Geschlecht, Blutgruppe und der CMV-Status von Bedeutung. Performance-Status bzw. Co-Morbidität sind nur theoretisch zu bedenken, da sich für eine Knochenmarkspende in der Regel nur gesunde Personen bereit erklären. Die Altersbeschränkung beträgt für unverwandte Fremdspender 55 Jahre.

Bei Geschwisterspendern wird auf Grundlage einer gründlichen klinischen und laborchemischen Untersuchung sowie mit Anamnese, Röntgen-Thorax, EKG und Abdomen-Sonographie die Spendertauglichkeit bzw. die Kontraindikation für eine solche festgestellt.

Nach Angaben des National Marrow Donor Programms der USA von 2011 sind in diesem Programm und den angeschlossenen internationalen Registern 12 Millionen Spender registriert. Für ca. 60 % der Personen mit kaukasischem Stammbaum lässt sich ein geeigneter unverwandter Spender finden, für Afroamerikaner und andere Minoritäten sieht es dagegen sehr viel schlechter aus. Afroamerikaner machen 12 % der US Bevölkerung aus, sind aber mit 5 % der unverwandten Transplantationen unterrepräsentiert (34).

Nach Schätzungen haben nur ca. 20 % der Patienten in den USA mit Indikation für eine allogene Transplantation ein HLA-identes Geschwister (41). Auswertungen von Fall-Studien aus Nord Amerika gehen von 1/3 geeigneter Familienspender aus (41).

Nach Reisner haben nur etwa 25 % aller Patienten mit einer akuten Leukämie ein HLA-identen Geschwister. Ein geeigneter Fremdspender (MUD: matched unrelated

donor) lässt sich für 60 – 80 % der weißen Bevölkerung finden, jedoch nur für 10 % von ethnischen Minderheiten (52).
Allein das Alter des Spenders war das Merkmal mit einem signifikant verbesserten Gesamt- und krankheitsfreien Überleben (aufgesplittet in die Altersgruppen 18-30 Jahre, 31 bis 45 Jahre und älter als 45 Jahre mit 33 %, 29 % und 25 %. Ähnliche Ergebnisse wurden beobachtet bei HLA-mismatches (28 %,22 % und 19 %). Die Rasse hatte keinen Einfluss auf das outcome.
In der Gruppe der jüngeren Spender war die kumulative Inzidenz für eine GvHD Grad III oder IV geringer. Die Verwendung von Stammzellen von weiblichen multipara war mit einem erhöhten Auftreten einer chronischen GvHD vergesellschaftet. Daher sollten nach Möglichkeit jüngere Spender in Betracht gezogen werden (71).
Auch in einer Arbeit von Alousi und Kollegen wurde untersucht, inwieweit das Alter des Spenders eine Rolle spielt. Nach ihren Ergebnissen sollte ein verfügbarer Geschwisterspender jünger als 67 Jahre sein und einen Performance-Score von 90 oder 100 haben. Wenn der Patient 67 Jahre oder älter ist und/oder der Performance-Status niedriger ist sprechen die Daten aufgrund einer geringeren Rate an akuter und chronischer GVHD für einen Geschwisterspender im Vergleich zum unverwandten jüngeren Spender (79).
Der Komorbiditäts-Index des Transplantationskandidaten ist mitbedeutend für den Verlauf der Behandlung und das outcome (80).

Mit der gestellten Indikation zu einer Transplantation wird Blut des Patienten zur HLA-Typisierung in ein zugelassenes Speziallabor der Deutschen Knochenmarkspenderzentrale versandt. Dafür existieren genaue Algorithmen, die von der World Marrow Donor Association (WMDA) aufgestellt worden sind (81).
Wenn kein geeigneter Spender zur Verfügung steht, wird die Anfrage auf den europäischen und ggf. transatlantischen Raum ausgedehnt. Ggf. wählt die transplantierende Klinik aus einer Vorschlagsliste den geeignetsten Spender aus und lässt die frühestmögliche Verfügbarkeit prüfen. Die Anforderung einer Stammzellspende erfolgt zu gegebener Zeit beim ZKRD.
Die Mobilisation von Stammzellen beim gesunden Spender erfolgt durch die subcutane Applikation von G-CSF über 3-4 Tage, anschließend ist im peripheren Blut eine erhöhte Konzentration an hämatopoetischen Stammzellen vorhanden. Diese stammen aus dem Knochenmark und sind ins periphere Blut übergetreten.

Nebenwirkungen kann der gesunde Spender in Form von Knochenschmerzen im Becken- und WS-Bereich, sowie grippeähnliche Kopf- und/oder Gliederschmerzen bemerken. Eine Therapie ist mit oralem Paracetamol möglich. Weitere, sehr selten auftretende Nebenwirkungen sind möglich wie zum Beispiel potentiell bedrohliche Ereignisse der Lungen bis zum akuten Lungenversagen (31).

Nach Überwachung des peripheren Blutbildes erfolgt nach dem adäquaten Anstieg der Stammzellen im peripheren Blut die Sammlung von CD34+ Stammzellen. Der Vorgang heißt Leukapherese und erfolgt durch die großlumige kontinuierliche Blutentnahme beim Spender mit Durchleitung der mit einer Heparin-versetzten Flüssigkeit über eine spezielle Maschine und sofortigen Re-Transfusion der nicht benötigten Blutzellen. Für die Vorbereitung und den technischen Ablauf ist eine speziell ausgebildete MTA verantwortlich, die klinische Überwachung des Spenders erfolgt durch einen ebenfalls speziell eingewiesenen und geschulten Arzt. Die Leukapherese dauert ca. 4 Stunden. Durch die Apherese müssen mind. 2×10^6 CD34+ Zellen/kg KG des Empfängers gesammelt werden, ggf. wird sie am Folgetag wiederholt (82), (83).

Die transplantierte Stammzelldosis korreliert neben einem zügigen Engraftment auch mit einer schnellereren Immunrekonstitution (84).

Die Leitlinie der DGHO zum Einsatz von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren benennt in dem Kapitel: 2.4.7. (Mobilisierung peripherer Blutstammzellen) die 10 publizierten Fällen einer potentiellen Leukämiebildung nach G-CSF-Gabe (31).

Die Wirksamkeit und Sicherheit für den freiwilligen Stammzellspender wurde für den deutschsprachigen Raum durch eine 12-Jahres-Bilanz des Dresdner Transplantationszentrums 2009 nachgewiesen (85).

1.4.3 Die Konditionierung: MAC vs. RIC

Unter der Konditionierung versteht man die der Transplantation vorausgehende hochdosierte Chemotherapie bzw. die Kombination aus Chemotherapie und Ganzkörperbestrahlung. Die Wahl der verwendeten Konditionierungstherapie ist abhängig von der zugrunde liegenden Erkrankung und von anderen Faktoren. Die Konditionierung hat je nach Grundkrankheit drei wichtige Ziele mit unterschiedlicher Wertigkeit, aber zum Teil synergistischer Wirkung:

1. Maligne Zellen im Knochenmark/Körper werden beseitigt (antitumoröse Maßnahme).
2. Bereitstellung eines Raumes mit eradizierter bzw. weitgehend eradizierter Hämatopoese des Empfängers/Systemerkrankung bzw. der malignen Erkrankung. (1.
   und 2. können auch als eine „Einheit“ aufgefasst werden.
3. Schaffung einer Immunsuppression, die für ein komplikationsarmes Engraftment der
   transplantierten Stammzellen benötigt wird.

Ein wichtiger Bestandteil ist – je nach Konditionierungsprotokoll - neben der Hochdosischemotherapie die fraktionierte Ganzkörperbestrahlung, sie wirkt immunsuppressiv, antileukämisch und dosisabhängig myeloablativ. Durch die Fraktionierung ist dem gesunden Gewebe die Möglichkeit zur Regeneration gegeben, Zellen mit niedriger Regenerationskapazität werden dagegen eradiziert (86).

MAC (myeloablative Konditionierung):
Standardkonditionierung. Durch sie wird für den Patienten eine spezielle Risikosituation geschaffen, sie kann daher unabhängig von der transplantationsrechtfertigenden Indikation nicht bei jedem angewendet werden. Verschiedene Therapieprotokolle stehen zur Verfügung. Für die myeloablative Konditionierung als Standard kommen chemotherapiebasierte Protokolle mit oder ohne Ganzkörperbestrahlung, häufig auf der Grundlage von Busulfan zum Einsatz. Im Einzelfall wird Busulfan kombiniert mit Cyclophosphamid, zusätzlich auch Melphalan, Thiotepa und Etoposid. Auch die Kombination der Ganzkörperbestrahlung und Cyclophosphamid ist möglich.
Neben hämatologischen Nebenwirkungen treten auch nicht-hämatologische Probleme sowohl als akute, intermediäre als auch als späte Toxizitäten auf. Diese bedürfen eines speziellen Managements.

RIC (reduzierte Konditionierungsintensität):
Dosisreduzierte Konditionierung. Die verwendeten Alkylantien oder die TBI (total body irradiation) sind um ca. 30 % reduziert (87).

In der Literatur werden auch die Begriffe „Mini-Transplantation“, 1997 von Storb so benannt, bzw. nicht-myeloablative Konditionierung bzw. RIC , 1998 von Slavin geprägt, verwendet (88), (89).

Bei der dosisreduzierten Konditionierung profitiert der Empfänger vor allem von dem immunologisch bedingten Graft-versus-Leukämie-Effekt und weniger von der Hochdosischemotherapie (89), (90). Ein Vorteil ist die verbesserte Verträglichkeit durch die weniger aggressive Therapie mit geringerer Toxizität. Dadurch können auch ältere Patienten mit Komorbiditäten, die sich sonst nicht für eine allogene Transplantation qualifizieren, erfolgreich behandelt werden (91), (92), (93), (94).

Protokolle der dosisreduzierten Konditionierung (RIC) beinhalten neben diversen Zytostatika auch die TBI (total body irradiation). Für die Ganzkörperbestrahlung besteht bei der Absolutdosis im Rahmen der RIC eine deutliche Streuungsbreite. Die Festlegung einer optimalen Dosis der TBI hängt dabei von verschiedenen Faktoren ab und lässt sich nicht pauschal festlegen, sie liegt bei der TBI deutlich unter den 12 Gy in myeloablativen Protokollen. Patienten haben unter der RIC ein erhöhtes Risiko für ein Rezidiv (95).

Der Stellenwert der total body irradiation im Setting der Konditionierung wurde 2008 auf den Prüfstand gestellt, die Bedeutung wird bleiben (96).

Die Rolle einer RIC und Alemtuzumab bei HLA-identen Geschwistern wurde 2010 von der Arbeitsgruppe um Chakraverty untersucht (97). Im Rahmen der RIC kann auch die T-Zell-Depletion eine Rolle spielen (98).

Eine Konditionierungsphase/Therapie ist nicht erforderlich bei pädiatrischen Patienten mit kombiniertem schwerem Immundefekt. Vor der Transplantation von unverwandten oder mismatch-Spendern erfolgt bisher standardmäßig die Gabe von ATG zur in-vivo T-Zell-Depletion als prophylaktische Maßnahme gegen das Auftreten einer GvHD, optional auch bei HLA-identen Geschwistern (99).

Unabhängig davon ist eine Immunsuppression auch erforderlich zur Ermöglichung des Engraftments der Spenderhämatopoese.

1.4.4 Die Transplantation

Die eigentliche periphere Stammzelltransplantation ist ein unspektakulärer Vorgang mit der Infusion der peripheren Stammzellen. In der Regel werden die Stammzellen unmittelbar „warm“ übertragen. Die Stammzellmenge sollte minimal 1x 10^6/kg KG des Empfängers betragen, sonst ist kein erfolgreiches Engraftment möglich (37).

Eine CD34+ Dosis von 2- bis 3 x 10^6 kg sollte nicht unterschritten werden, ideal sind für ein zügiges Engraftment > 4-5 x 10^6 kg (100). Die Arbeitsgruppe um Zander (101)empfiehlt eine Dosis > 4x 10^6 kg Empfänger-Körpergewicht für periphere Stammzellen. Im klinischen Alltag ist es von Vorteil, nach der Transplantation noch ausreichend Zellen für eine eventuell notwendige DLI-Gabe zur Verfügung zu haben.
Nach Arbeiten von Zubair und Tricot et al sind sowohl bei der allogenen als auch autologen Transplantation die Anzahl der CD34+ Zellen der stärkste Prädiktor für die Zeitdauer der Rekonstitution, sowohl der Thrombopoese als auch der Granulopoese (37), (100).

1.4.5 Die Besonderheiten der Transplantationsphasen

Die eigentliche Stammzelltransplantation erfolgt am Tag „0“, der folgende Zeitraum wird unter klinischen Aspekten in drei Phasen unterteilt:
Phase 1: das Präengraftment oder frühe Posttransplantationsphase (der Zeitraum von Tag 0 bis etwa Tag +30),
Phase 2: das Postengraftment (Zeitraum von etwa Tag +30 bis d+100),
Ab Tag 100 setzt die Phase 3 des späten Postengraftments bis zur vollständigen Immunrekonstitution ein.
Jeder dieser Zeitabschnitte ist durch spezielle Komplikationsmuster gekennzeichnet. Bedrohlich ist ein graft failure, weil eine erneute Transplantation in Erwägung gezogen und das Überleben bis dahin gewährleistet werden muss. Angestrebt werden sollte immer eine Analyse zur Klärung der Genese (102).
Unterschieden wird zwischen einem primären und sekundären graft failure. Während des am häufigsten auftretenden primären Transplantatversagens kann der Patient das Stadium der Neutropenie nicht überwinden, beim sekundären Graftversagen kommt es zu einem Verlust der Spenderzellen (103).
Aus einer Veröffentlichung aus dem Jahr 2000 nach Untersuchungen von 5000 Behandlungsfällen tritt nach unverwandten Knochenmarktransplantationen ein graft failure in 4 % der Fälle auf (104).
Die Patienten sollten prinzipiell nach der erfolgreichen Transplantation lebenslang eine spezialisierte Betreuung in Anspruch nehmen, da transplantationsassoziierte Symptome im Rahmen einer chronischen GvHD den Patienten z.T. erhebliche Probleme unter dem Aspekt der Lebensqualität bereiten können. Außerdem besteht ein erhöhtes Risiko für das Auftreten von soliden Tumoren (105), (106).

Hingewiesen wird in diesem Zusammenhang auf die orale chronische GvHD, deren Therapie langwierig und sehr speziell ist (107).

Die Dauer und die Besonderheiten der einzelnen Phasen werden im Folgenden aufgezeigt.

Phase 1: Die Zeit bis zum Engraftment ist gekennzeichnet durch eine ausgeprägte oder prolongierte Neutropenie mit oder ohne Infektion, daher kann in dieser Phase je nach Indikation der Einsatz von subcutan zu verabreichenden Wachstumsfaktoren, so genannten G-CSF-Präparaten, zur Verkürzung der Neutropenie erfolgen. Bei den Wachstumsfaktoren handelt es sich um eine als Arzneimittel zugelassene Substanz, welche durch eine rekombinante DNA-Technologie in Ovarialzellen des chinesischen Hamsters hergestellt wird (108), (109).

Der natürlich vorkommende CSF ist ein Zytokin, es wird aus T-Lymphozyten, Monozyten und Zellen des Knochenmarkstromas zur Verstärkung der Neutrophilenproduktion freigesetzt, es induziert die Proliferation und Differenzierung von myeloischen Progenitorzellen. Die Thrombozytenregeneration wird dagegen verzögert (110), (111).

Durch die Gabe von G-CSF-Präparaten nach der allogenen Stammzelltransplantation im Vergleich zu Placebo reduziert sich die Phase der Neutropenie signifikant von 17 Tage auf 13 Tage und die Inzidenz für Infektionen. Auch weitere randomisierte, Placebo-kontrollierte Studien (zuletzt 2001) bestätigten diese Ergebnisse. Ein wichtiger Eckpunkt ist u.a. auch die frühere Entlassung aus der stationären Therapie (112).

Weitere Aspekte zum Einsatz von G-CSF Präparaten:

Durch eine Studie von Ringden, die 2004 von der EBMT veröffentlich wurde, sind ungünstige Effekte von G-CSF Präparaten nach Knochenmarktransplantation bekannt:

- eine Zunahme der akuten und chronischen GvHD,
- eine Zunahme der transplantationsassoziierten Mortalität
- und eine Reduktion des Gesamtüberlebens (113).

Diese Ergebnisse konnten durch eine retrospektive Analyse von Khoury nicht bestätigt werden. Seine Analysen ergaben eine Verkürzung der Zeitdauer bis zum Engraftment unabhängig von der Stammzellquelle und keinen Einfluss auf die Transplantationsassoziierte Mortalität, die GvHD-Rate und das leukämiefreie Überleben (111), (114).

Ob durch G-CSF-Präparate eine leukämogene Wirkung initiiert werden kann, wurde wiederholt diskutiert und untersucht. Bei Erwachsenen wurde eine bevorzugte Stimulation von Blasten mit Monosomie 7 bei Expression der Isoform IV des G-CSF-Rezeptors nachgewiesen. Dies hat sich bisher nur als theoretisches Risiko ergeben, es wurde in der klinischen Praxis bisher nicht beobachtet (115). Auch durch Untersuchungen bei Leukämien im Kindesalter konnten Isoformen beim G-CSF-Rezeptor nachgewiesen werden, die Überexpression der Isoform IV z.B. hat im Fall einer Therapie mit G-CSF-Präparaten eine Bedeutung wegen des Nachweises von höheren 5-Jahres-Rezidivraten. In einer Kontrollgruppe ohne G-CSF-Therapie konnte jedoch kein signifikant höheres 5-Jahresrezidivrisiko durch eine G-CSF Isoform IV –Überexpression nachgewiesen werden (116). Insgesamt sollte ein unkritischer Einsatz von G-CSF-Präparaten nicht erfolgen. Zu den allgemeinen Risiken sind die Ausführungen im Abschnitt Stammzellmobilisierung beim gesunden Spender zu beachten (31).

Phase 2 (das Postengraftment): Eine engmaschige Überwachung ist erforderlich, um nach der Entlassung aus der Transplantationseinheit Infektionen rechtzeitig zu erfassen. Eine Anpassung und Reduzierung einer immunsuppressiven Therapie und prophylaktischer Medikamente gegen Viren, Pilze kann nur durch das betreuende Zentrum vorgenommen werden.

Phase 3 (Spätphase): Wichtig für alle transplantierten Patienten ist, unabhängig von der individuellen Transplantationsindikation, die Wiederherstellung des Immunsystems, weil mit dessen Defiziten das Risiko für Infektionen und Krankheitsrückfälle assoziiert ist (117).

Die gestörte Immunrekonstitution (Defekte in der B-Zell- und T-Zellfunktion), die in Abhängigkeit vom Vorliegen einer GvHD 12 Monate und länger andauern kann, muss auch hinsichtlich gewünschter bzw. für die Allgemeinheit und das Individuum empfohlenen Impfungen berücksichtigt werden. Nach der Transplantation darf frühestens nach 6 Monaten eine Impfung mit einem Totimpfstoff erfolgen, aktuelle Impftiter und die besonderen Gegebenheiten des Patienten müssen berücksichtigt werden. Unter Umständen muss eine erneute Grundimmunisierung gegen Tetanus, Poliovirus, Diphtherie und Hepatitis B erfolgen (118), (119).

1.5 Komplikationen nach der allogenen Stammzelltransplantation

1.5.1 Die GvHD als wichtigste Komplikation

Die Problematik einer GvHD ist in den bisherigen Ausführungen bereits angerissen geworden. Das Risiko einer akuten und chronischen GvHD ist besonders bei nicht-verwandten Spendern nach primär erfolgreicher allogener Stammzelltransplantation ein limitierender Faktor, da sich nach Register-Studien dadurch das Gesamtüberleben verschlechtert. Eine hohe Rate an akuter GvHD im Stadium II –IV ist vergesellschaftet mit einer hohen frühen Therapiebedingten Mortalität (120).

Prophylaxe und Therapie kommen daher einer immensen Bedeutung zu (121), (122).

1.5.2 Die Bedeutung der Toxizität in der Konditionierung

Im Rahmen der Konditionierung werden im Wesentlichen die folgenden chemotherapeutischen Substanzen eingesetzt, einzeln oder in Kombination appliziert, werden bestimmte Wirkungen erreicht und unerwünschte Nebenwirkungen in Kauf genommen. Die Wirkung der Chemotherapie ist dabei dosisabhängig myeloablativ , antileukämisch und immunsuppressiv. Im Einzelnen sind dies die Folgenden (ohne Anspruch auf Vollständigkeit):

Busulfan (14-16 mg/kg KG)

Cyclophosphamid (120-200 mg/kg KG)

Melphalan (140-200 mg/m²)

Thiotepa (500-800 mg/kg KG)

Etoposid (30-60 mg/kg KG)

Treosulfan (30-42 g/kg KG)

Ganzkörperbestrahlung in Kombination mit Chemotherapie:

Ganzkörperbestrahlung (TBI) mit 8-12 Gy in Kombination mit Cyclophosphamid (120-200 mg/kg KG).

Durch die verschiedenen zum Einsatz kommenden Chemotherapieprotokolle beim primär Erkrankten und dementsprechend mehr oder weniger aggressiv vorbehandelte Patienten ist mit einer Toxizität für verschiedene Organsysteme zu rechnen. Das Ausmaß an spezifischen Nebenwirkungen eines jeweiligen Medikamentes variiert interindividuell sehr stark und ist auch in den verschiedenen Altersgruppen different. Genaue Kenntnisse der Medikamentenprofile und möglichen

Interaktionen sind Vorraussetzung für ein optimales Patientenmonitoring. Klinisch werden die akute Toxizität von der intermediären (innerhalb der ersten Wochen) und der späten Toxizität unterschieden. Während akut mit allergischen Reaktionen sowie Übelkeit und Erbrechen zu rechnen ist, treten die Symptome der intermediären Toxizität innerhalb der ersten Wochen auf. U.a. können neben kardialen Problemen eine interstille Pneumonie, eine hämorrhagische Zystitis, eine Venenverschlusskrankheit (veno-occlusive disease=VOD) sowie eine Minderung der glomerulären Filtrationsrate mit einem erhöhten Kreatininwert bis zum Nierenversagen sowie Störungen im hepatobiliären System, sowie das erhöhte Infektionsrisiko in Abhängigkeit von dem jeweils vorliegen Grad der Immunsuppression auftreten. Auch passagere Gerinnungsprobleme sind im Zusammentreffen mit Anämie und Thrombozytopenie möglich. Die Spättoxizität beeinflusst das Leben nach der erfolgreich verlaufenden Transplantation, wenn z.B. bedingt durch eine Ganzkörperbestrahlung ein Katarakt auftritt (123). Eine konkrete Bedrohung sind epitheliale und inflammatorische Schäden z.B. in der Mukosa mit einer klinisch bedeutsamen, weil schmerzhaften Mucositis. Hier wird durch die fehlende natürliche Barriere gegen diverse Keime der Ausgangspunkt für ein späteres individuelles Schädigungsmuster in der Neutropenie gesetzt, nach einer Ganzkörperbestrahlung ist auf mögliche Lungenprobleme zu achten. Der initiale Schaden kann als Ausgangspunkt für die Ausbildung einer GvHD angesehen werden (124).

1.5.3 Konzepte zur Minimierung von transplantationsassoziierten Komplikationen

Die wichtigste Maßnahme in einem hämatologischen Transplantationszentrum ist das Hygieneregime. Aus räumlich-bautechnischer Sicht ist die strikte Abtrennung der Abteilung vom regulären, frei zugänglichen Stationen durch die Benutzung von Schleusen und die klimatische Separierung durch ein spezielles Belüftungssystem mit gefilterter und klimatisierter Luft (HEPA oder laminar air flow) einschließlich spezieller Wasserfilter notwendig. Die Raumluft enthält so weniger Aspergillus-Sporen, auch sonstige mögliche inhalative Allergene werden vermindert bzw. weitgehend eliminiert.

Zusätzlich ist ein strenges Ernährungsregime mit Vermeidung von u.a. Rohkost, Nüssen und Rohmilchprodukten erforderlich (119). Der strikte Einsatz einer parenteralen Ernährung ist umstritten.

1.6 FUO und Infektionen (früh, spät) und die Prophylaxe

Die medikamentöse und expositionelle Prophylaxe vor Komplikationen:

Infektionen können zu jedem Zeitpunkt nach der Transplantation auftreten, das Erregerspektrum in der frühen und späten Posttransplantationsphase ist different. Jede spezielle Phase nach der erfolgten Transplantation ist gekennzeichnet durch verschiedene, jeweils typische Erreger (in der frühen Phase nach Transplantation ist mit anderen Keimen zu rechnen als in der späten Phase). Die Identifizierung des jeweiligen Erregers ist für eine gezielte Therapie erforderlich, der Nachweis von Viren, Bakterien, Pilzen und anderen seltenen Erregern wie Parasiten, sollte in jedem Fall angestrebt werden (125). Definitionsgemäß liegt bei einem Erregernachweis kein FUO mehr vor.

In der Präengraftmentphase befindet sich der Organismus in der Neutropenie; es liegt klinisch ein Infektionsbegünstigter Risiko-Zustand vor. Die Infektionsprophylaxe erfolgt mit verschiedenen Substanzen gegen ein möglichst breites Erregerspektrum.

Beim Auftreten eines neutropenen Fieberereignisses und fehlendem Erregernachweis erfolgt unter der Diagnose FUO (fever of unknow origin) eine kalkulierte Antibiose mit den Möglichkeiten der Eskalation bei Notwendigkeit in Abhängigkeit vom klinischen Verlauf. Da 80 – 90 % der Patienten in der Neutropenie eine fieberhafte Episode entwickeln, kommt der Prophylaxe eine entscheidende Bedeutung zu (124).

Häufig sind die Eintrittsstelle der zentral-venösen Katheter oder unterschiedlich stark ausgeprägte Schleimhautaffektionen im Rahmen einer Mucositis die Eintrittspforten für Keime. Keime der residenten Mund- und Darmschleimhaut können bei Zirkulation in der Blutbahn schwere Infektionen hervorrufen; durch Venenzugänge wird die Barrierefunktion der Haut in diesem umschriebenen Bereich außer Kraft gesetzt.

1.6.1 Viren/ die antivirale Prophylaxe

Die antivirale Prophylaxe zur Verhinderung einer viralen Reaktivierung von Herpes-Viren kann oral mit Aciclovir erfolgen.

Die antivirale Prophylaxe erfolgt mit Aciclovir in niedriger Dosis ab d+1 bis ca. d + 30. Allgemeine Leitlinien empfehlen die Gabe über ein Jahr. Eine Komplikation, wie z.B. eine CMV-Reaktivierung, wird mit Foscavir oder Ganciclovir behandelt. Andere Virusinfektionen, wie z.B. durch CMV, EBV oder sonstige, werden erst bei Nachweis einer Reaktivierung intravenös behandelt.

1.6.2 Bakterien/ die antibakterielle Prophylaxe

Zur medikamentösen Prophylaxe erfolgt bis zum Engraftment der Einsatz von Fluochinolonen, die sich im Vergleich zu Trimethoprim/Sulfamethoxazol bei der Inzidenz der Clostridium difficile-assoziierten Enterocolitis zur Vermeidung von gram-negativen Infektionen und hinsichtlich des Nebenwirkungsprofil als überlegen erwiesen haben. Auch durch den Einsatz von Ciprofloxacin lassen sich Infektionen mit gram-negativen Erregern vermindern, zugleich können aber vermehrt gram-positive Kokken nachgewiesen werden. Nach dem erfolgreichen Engraftment sind wiederum individuelle Faktoren unter besonderer Berücksichtigung der Immundefizienz ausschlaggebend für den Umfang und die Dauer der Prophylaxe.

Eine Beendigung der Prophylaxe erfolgt beim Auftreten von neutropenischem Fieber. Jetzt ist der Zeitpunkt für eine Therapie (empirisch) gekommen

1.6.3 Pilze /die antifungizide Prophylaxe

Eine besondere Bedeutung kommt auch der fungiziden Prophylaxe zu, da Pilzinfektionen mit verantwortlich sind für eine erhöhte transplantationsbedingte Mortalität, vor allem durch Candida und Aspergillus Spezies (126).

Eine antimykotische Prophylaxe gegen Candida-Arten, Cryptococcus, Coccidoides, Histoplasma, Aspergillus spezies erfolgt in der Regel bis Tag +70 z.B. mit Voriconazol oder Posaconazol. Individuell können neben den Azolen auch Polyene wie Amphotericin B oder Echinocandine wie z.B. Caspofungin eingesetzt werden (127), (128).

1.6.4 Sonstige/andere Erreger

Zusätzlich zu den zuvor aufgeführten prophylaktischen Maßnahmen ist im weiteren Überwachungs-/Nachsorgezeitraum nur die Prophylaxe einer Pneumocystis jirowecii-Pneumonie nötig, entweder oral mit Trimethoprim/Sulfamethoxazol oder bei Kontraindikation gegen eine orale Applikation mit monatlichen Pentacarinat-Inhalationen für ca. 1 Jahr.

Unabhängig von bekannten und „typischen“ Erregern muss stets auch an seltene Keime gedacht werden (125).

1.6.5 Die CMV-Reaktivierung

CMV-Reaktivierungen nach einer Transplantation können für den Patienten einen bedrohlich Verlauf nehmen und sind ein ernstzunehmendes Problem bis hin zum möglichen Transplantatversagen (129), (130). Wenn für einen CMV-negativen Empfänger nur ein CMV-positiver Spender zur Verfügung steht, besteht durch die Stammzellspende ein Übertragungsrisiko für CMV von ca. 20%-30% (131). Die angenommene Rate einer CMV-Reaktivierung nach der allogenen Stammzelltransplantation bei einem CMV-positiven Patienten wird mit 61 % angegeben (132).

Eine CMV-Prophylaxe ist immer eine Einzelfallentscheidung. Verschiedene Substanzen stehen zur Verfügung. Beachtet muss vor jedem Einsatz das substanzspezifische Nebenwirkungsprofil. So ist eine der effektivsten Substanzen, Ganciclovir, myelotoxisch. Im klinischen Alltag wird auch Foscarnet eingesetzt. Zukünftig könnte bei ausreichender Datenlage der neu entwickelte DNA-Syntheseinhibitor Maribavir zur Prophylaxe einer CMV-Reaktivierung eingesetzt werden (133).

In Entwicklung befindet sich auch eine Technologie zur Gewinnung von hoch gereinigten CMV-spezifischen CD8 positiven T-Zellen. Im Rahmen von kleinen Studien wurden so erste Patienten im prophylaktischen Setting behandelt. Diese Patienten benötigten die folgenden 6 Monate keine prophylaktische konventionelle antivirale Behandlung trotz fortlaufender therapeutischer Immunsuppression mit Ciclosporin (134).

Eine frühe Replikation von CMV (im Mittel in den ersten sechs Wochen nach der Transplantation) kann bei transplantierten Patienten mit akuter myeloischer Leukämie aber auch vermeintlich von Nutzen sein, eine Arbeit der Gruppe um

Elmaagacli beschrieb 2011 einen solchen Vorteil mit einem verminderten Risiko für einen relapse (135). A John Barrett beschreibt einen hypothetischen Virus-gegen-Leukämie-Effekt, da myeloische Blasten, die mit CMV infiziert sind, durch zytotoxische Angriffe von virus-spezifischen zytotoxischen T-Tellen und NK-Zellen eradiziert werden können (136). Weitere Untersuchungen, speziell in-vitro-Studien sind ausstehend. 2013 wurde durch eine Arbeit von Ljungman einer CMV-Infektion aber auch positive Aspekte abgewonnen (137).
Zur Besonderheit der CMV-Reaktivierung nach Alemtuzumab wird auf Punkt 1.12.1 verwiesen (138), (139), (140).

1.7 Die Graft-versus-Host Disease (GvHD)

Definition der GvHD:

Die GvHD ist eine komplexe Erkrankung, hervorgerufen durch T-Zellen des Spenders, die gegen den genetisch unterschiedlichen Empfänger reagieren, während der Empfänger seine immunologische Potenz verloren hat, um erfolgreich gegen die als fremd erkannten Zellen vorzugehen. Das Auftreten einer GvHD ist ein Hauptgrund für Morbidität und Mortalität von erfolgreich transplantierten Patienten. Die Entwicklung einer GvHD verläuft in fünf Stufen:

1.: Start der Immunantwort durch einen proinflammatorischen „Zytokinsturm“, hervorgerufen durch die Schädigung von Gewebe mit resultierenden steigenden Spiegeln von IL-1, TNF-α durch zytoreduktive Maßnahmen, dieser wiederum führt zu einer Aktivierung und Reifung von Antigen-präsentierenden Zellen (APCs) und die schnelle Amplifikation der Spender T-Zellen. Die Schädigung von Gewebe erfolgt durch die Substanzen der Konditionierungstherapie.

Der Begriff „Zytokinsturm" beschreibt ein mehrstufiges Modell zur Erklärung der akuten GvHD. CD-8-T-Zellen (zytotoxisch) und CD-4-T-Lymphozyten (T-Helferzellen) sind die immunkompetenten Zellen eines Spenders (141).

Stufe 2: Es kommt zu einer T-Zell-Aktivierung und Co-Stimulation (Interaktionen zwischen den T-Zell-Rezeptoren und Co-stimulierenden Molekülen mit den verwandten Liganden auf der Oberfläche der APCs).

Stufe 3: Alloreaktive T-Zell-Expansion und Differenzierung.

Stufe 4: Verschiebung aktivierter T-Zellen. Nach der Migration von aktivierten T-Zellen in „Zielgewebe“ für eine GvHD folgen im Nachgang weitere Leukozyten.

Stufe 5: Zerstörung des Zielgewebes durch Effektor-T-Zellen. Das zerstörte Gewebe sendet inflammatorische Signale, dadurch wird im Verlauf u.a. der Zytokinsturm aufrechterhalten (148). Die hauptsächlichen Zielorgane einer GvHD sind neben dem hämatopoetischen System vor allem die Haut, die Leber und der Gastrointestinaltrakt.

NK-Zellen sind ebenso wie Dendritische Zellen des Empfängers mit für die Entstehung einer GVHD verantwortlich (142), (143), (144).

Natürliche Killer Zellen oder „NK-Zellen" sind non-T-, non-B-Lymphozyten, die üblicherweise eine granuläre Morphologie aufweisen. NK-Zellen sind wichtig bei der angeborenen Immunität gegen Viren und andere intrazelluläre Krankheitserreger sowie bei der Antikörper-abhängigen, Zellvermittelten Zytotoxizität (ADCC).

Mastzellen spielen in der Immuntoleranz eine Rolle, die noch nicht vollständig geklärt werden konnte. Die Suppression einer GvHD durch Mastzellen, die Interleukin-10 sezernieren, ist ein interessanter Ansatz für die Klinik (145), (146).
Eine immunmodulierende Wirkung von Vitamin D im Kontext der GvHD wurde durch verschiedene Blutspiegeluntersuchungen aufgezeigt. Weitere Ergebnisse bleiben abzuwarten (147).

1.7.1 Klassifizierung

Die akute GvHD, welche nach einer historischen und inzwischen abgelösten Definition innerhalb der ersten 100 Tage nach der Stammzelltransplantation auftritt, kann sich an verschiedenen Organsystemen manifestieren. Wenn die akute GvHD innerhalb von 14 Tagen nach der Transplantation auftritt (Einzelfälle), wird diese als hyperakute Form bezeichnet. Sie ist assoziiert mit einer geringeren Ansprechrate auf die First-line-Therapie und einer höheren Rate an der nichtrückfallbedingten Mortalität (nonrelapse mortality) bei verwandten HLA-mismatch Spendern oder HLA-identen mismatch Fremdspendern. Risikofaktoren für diese mitunter schwere Form mit pulmonalen Ödemen, Nierenversagen und Krampfanfälle sind außerdem mehr als 5 vorausgegangene Chemotherapieregime sowie ein Geschlechter-mismatch (149). Es gibt es auch overlap-Syndrome mit einem Mischbild von akuter und chronischer GvHD, da sich klinische Ereignisse im Fluss darstellen. Overlap-Syndrome äußern sich mit dem Mischbild einer akuten und chronischen GvHD und müssen von den klassischen Formen der akuten und chronischen GvHD abgegrenzt werden (150). Eine „late-onset“ akute GvHD kann nach Tag 100 auftreten. Die chronische GvHD ist nicht zwangsläufig die Fortsetzung der akuten Form. Sie kann unabhängig von dieser auftreten (151). Neuere Untersuchungen weisen auf Ähnlichkeiten mit Autoimmunerkrankungen hin (134).

2005 wurde die artifizielle Unterteilung mit Tag 100 verlassen, da durch die dosisreduzierte Konditionierung (RIC) und die Gabe von DL eine Verschiebung der klinischen Symptome und Manifestation der GvHD beobachtet wurde. In einem Konsensus-Papier werden drei Aspekte diskutiert: 1.: Standardisierung der Kriterien für die Diagnose einer GvHD.

2.: Vorschlag für ein neues klinisch-basiertes Scoring-System von 0-3 zur Beschreibung von Schwere und Ausmaß der GvHD für jedes Organ oder Ort zu jedem beliebigen Zeitraum mit funktioneller Bedeutung.

3.: Vorschlag für eine umfassende Bewertung des Schweregrades der GvHD mit Unterteilung in mild, moderat oder schwer (152).

1.7.2 Einteilung und Behandlung der akuten GvHD

Epidemiologisch kann eine akute GvHD in 9 – 50 % aller Patienten auftreten, wenn das Transplantat von einem HLA-identen Geschwister stammt. Die kumulative Inzidenzrate für eine akute GvHD Grad B oder höher über alle Spender (Geschwister oder Unverwandte) beträgt zwischen 39 und 59 %.

Im Wesentlichen wurden vier Risikogruppen identifiziert:

- HLA-identer Spender oder HLA-Mismatch vom unverwandten Spender
- partieller HLA –Haplotyp
- Geschlechtsunterschied zwischen Spender und Empfänger
- Intensität des verwendeten Konditionierungsprotokolls (151), (153).

Weniger gut etablierte Risikofaktoren für die akute GvHD sind:

- das Alter des Empfängers
- der CMV-Status von Spender und Empfänger
- der Einsatz von PBSC versus Knochenmark
- sterile Bedingungen (einschließlich Darm-Dekontamination)
- die Erkrankung, die zur Transplantation geführt hat (154), (155).

Die klinischen Zeichen einer akuten GvHD wurden 1974 von Glucksberg et al zusammengefasst (156).

Tabelle 3: Organstadien der akuten GvHD nach Glucksberg (157):

Stadium	Haut	Darm	Leber
0	Kein Exanthem	Diarrhöen < 0,5 l	Bilirubin < 2 mg/dl
1	Exanthem bis 25% der Körperoberfläche	Diarrhöen 0,5-1,0 l	Bilirubin 2-3 mg/dl

2	Exanthem 25-50 %	Diarrhöen 1,0-1,5 l	Bilirubin 3-6 mg/dl
3	Generalisiertes Exanthem	Diarrhöen > 1,5 l	Bilirubin 6-15 mg/dl
4	Hautablösung und Blasenbildung	Zusätzlich Koliken, Ileus und Blutungen	Bilirubin > 15 mg/dl

Zur besseren Berücksichtigung der Hautschädigung, deren Ausmaß nicht gleichbedeutend mit einem höheren Grad der GvHD ist, wurde als Weiterentwicklung der IBMR-Severity-Index der akuten GvHD geschaffen. Mit den Stadien 0 bis 4 und Grad 0 sowie A-D sind Haut und Darm sowie Leber voneinander getrennt (151).

Tabelle 4: IBMR-Severity-Index der akuten GvHD mit Gradeinteilung von 0 über A bis D (158):

Haut	Darm/Leber	Grad
0	0	0
1	0	A
2 0-2 0-2	0 1 2	B
3 3 0-3	0-1 2 3	C
Jedes Stadium	4	D

Der Hautbefall (75 %):
Klassische makulopapuläre Rötung ähnlich einem Sonnenbrand mit Juckreiz und/oder Schmerz an Handflächen, Fußsohlen, Nacken, Hals, Schulter oder konfluierenden, kleinfleckigen Hautveränderungen. Es kann das gesamtes Integument betroffen sein. Eine histologische Sicherung ist anzustreben, da im Einzelfall eine Hauttoxizität, eine virale Infektion oder Reaktivierung vorliegen kann.

Der Darmbefall (50 %):
Abdominelle Krämpfe mit Diarrhö, es können sowohl schwere Flüssigkeitsverluste als auch blutige Diarrhöen mit Transfusionsbedarf auftreten.
Man unterscheidet die milde Erkrankung, die moderate und die schwere. Eine schwere GVHD des Gastrointestinaltraktes geht mit initial wässrigen, später blutigen Diarrhoen einher. Das Volumen kann bis zu 10 Liter/d betragen (154).
Die Diagnosestellung kann in der Regel anhand der Klinik gestellt werden. Einzelne isolierte Auffälligkeiten müssen abgeklärt werden (Medikamentenanamnese, Infektion, Sludge in der Gallenblase u.a.). Eine histologische Sicherung sollte dennoch angestrebt werden.

Der Leberbefall (20 %).
Dritthäufigste Manifestation: diese äußert sich mit den folgenden Kennzeichen:
Anstieg des konjugierten Bilirubin und der Alkalischen Phosphatase im Serum. Davon abzugrenzen sind toxische Leberfunktionsstörungen wie die veno-occlusiv disease (VOD) oder virale Infektionen bzw. Arzneimittel-bedingte Schädigungen (159), (160).
Die schwere bis lebensbedrohliche GvHD hat im Vergleich zur milden Ausprägung eine signifikant höhere Mortalitätsrate (166).
Eine Infektion des Gastrointestinaltraktes mit CMV kann eine milde GvHD vortäuschen (159). Abgesehen von einer isolierten, milden GvHD der Haut besteht eine Therapieindikation. Die in der Regel bestehende Calcineurin-Inhibitorgabe wird fortgesetzt. Therapeutischer Standard ist Methylprednisolon in einer Dosis von 1-4 mg/kg Körpergewicht. Die steroidrefraktäre akute GvHD ist ein Problem, für das keine Standardtherapie zur Verfügung steht. Möglich ist dann u.a. die Gabe von Tacrolimus, Rapamycin, Sirolimus, MMF, Alemtuzumab, ATG, Pentostatin oder die Durchführung einer extrakorporalen Photophorese (158).

In einer Arbeit von Arora et al wurde der Einfluss einer akuten GvHD auf das outcome einer chronischen GvHD untersucht, eine negative Korrelation fand sich nach den Diagnostik- und Staging-Kriterien des National Institutes of Health (NIH in den USA) nicht. Das Langzeitüberleben wird dagegen mit beeinflusst durch die Kriterien Thrombozytopenie, einen geringeren Karnofsky-Performance-Status, einen hohen Gesamt-Bilirubinwert und einen höheren NIH-Score (163).

1.7.3 Einteilung und Behandlung der chronischen GvHD und der overlap Syndrome

Die chronische GvHD ist die bedeutsamste Langzeitkomplikation nach allogener Stamzelltransplantation und die häufigste Ursache der späten Morbidität und Mortalität (ca. 25%). Overlap-Syndrome mit dem Mischbild einer akuten und chronischen GvHD müssen von den klassischen Formen der akuten und chronischen GvHD abgegrenzt werden (158), (167).

Der Schweregrad wird in mild, moderat und schwer unterteilt, in diese Einteilung fließen neben der Zahl der betroffenen Organsysteme auch die Schwere der Organmanifestation ein (148), (160):

Tabelle 5 (151):

Schweregrad der cGvHD	Mild	Moderat	Schwer
Zahl der betroffenen Organsysteme	1 - 2	> 2	> 2
Schwere der Organmanifestationen	Mild (außer Lunge)	Mild bis moderat (Lunge nur mild)	Schwer (Lunge moderat oder schwer)

Eine Vielzahl von Organmanifestationen, einzeln oder in Kombination ist möglich. Beschrieben wurden neben dem klassischen Organbefall die Einbeziehung der Augen, Mundschleimhäute, Lunge, genitale Manifestationen, Gelenke und Fascien sowie des Nervensystems (167).

Die Diagnose wird bei Symptomen, die auf eine mögliche GvHD deuten, durch die relevante Labordiagnostik bzw. eine Lungenfunktionsprüfung und ggf. histologische Sicherung gestellt.
Die GvHD hat neben der schädigenden Wirkung auch eine protektive Bedeutung; eine milde Ausprägung ist assoziiert mit einem verbesserten Gesamtüberleben (161), (162).

Die Behandlung der GvHD kann in der Erstlinientherapie als Steroid-Monotherapie erfolgen oder als Kombination eines Steroids mit einem zweiten Immunsuppressivum. Für milde Formen wird nach Möglichkeit eine topische Applikation z.B. mit Steroiden oder Calcineurin-Inhibitoren empfohlen. Möglich ist auch die extrakorporale Phototherapie. Für die Zweitlinientherapie stehen verschiedene Substanzen mit stark variierenden Ansprechraten von ohne Zahlenangaben bis zu 50 % - 75 % mit der Möglichkeit einer kompletten Remission zur Verfügung. Die Auswahl erfolgt nach Organmanifestation unter Berücksichtigung der zu erwartenden Nebenwirkungen. Die steroidrefraktäre Form ist eine besondere Herausforderung (164).

1.8 Die GvHD-Prophylaxe nach der Transplantation (postSCT)

Die GvHD-Prophylaxe umfasst 3 Säulen:
1. Spender- bzw. Empfänger-Faktoren. Diese setzen in der Prätransplantationsphase an. Zu berücksichtigen sind die HLA-Kompatibilität, das Alter des Empfängers, Geschlecht, Keimmilieu und die Quelle des Stammzellprodukts.
2. Die pharmakologische Immunsuppression mit der Gabe von unspezifischen Immunsuppressiva wie Methotrexat, Cyclophosphamid oder Kortikokosteroide und antizelluläre Antikörper. Eine pharmakologisch mögliche Hemmung der Zytokinproduktion hat sich in klinischen Studien noch nicht durchsetzen können.
3. Die T-Zell-Depletion.

In verschiedenen Studiengruppen wurden Ciclosporin und Methotrexat zur Prüfung der relativen Wirksamkeit gegen das Risiko einer GvHD eingesetzt, die Ergebnisse waren kontrovers. Barrett beschrieb 1982, Deeg et al 1983 und Speck et al 1983 eine signifikante Abnahme der GvHD durch Ciclosporin. Eine größere Arbeit zur

GvHD von Gale et al mit Auswertung der Daten von 2036 transplantierten Patienten ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen Ciclosporin und Methothrexat jeweils in Kombination mit Kortikosteroiden. Es wurde eine signifikante Zunahme an GvHD ohne Prophylaxe festgestellt (155). Einen guten Überblick über immunsuppressive Substanzen vermittelt die Übersicht von Chao und Negrin (165). Heutiger Standard ist die Gabe von CSA plus MTX als short-course oder CSA plus MMF (165, (167), (168).

1.8.1 ATG

Das Anti-Thymozyten-Globulin (ATG) ist eine antizelluläre Antikörperpräparation. ATG wird nach Immunisierung von Kaninchen gewonnen. Es handelt sich um ein polyklonales Gamma-Immunglobulin mit einem spezifischen Wirkspektrum gegen T-Zellen und NK-Zellen. ATG ist ein therapeutischer Standard zur Prophylaxe einer GvHD in Kombination mit Ciclosporin und MTX bei Fremdspendertransplantation. ATG wird bereits in der Phase der Konditionierung zur T-Zell-Depletion eingesetzt,
als prophylaktische Maßnahme gegen das Auftreten einer GvHD vor der Transplantation von unverwandten oder Mismatch-Spendern, optional auch bei HLA-identen Geschwistern, und dient der Vorbeugung einer Transplantatabstoßung (99), (170).
Durch ATG lässt sich der zunächst negativ anmutende Faktor bei unvermeidlichem HLA-mismatch überwinden (171).

1.8.2 Ciclosporin A (CSA)

Ciclosporin A, ein Calcineurin-Inhibitor, ist ein Immunsuppressivum, welches u.a. zur Prophylaxe einer Transplantat-Abstoßung und einer GvHD eingesetzt wird (172), (173).
Es bindet nach Eintritt in die Zelle an den Rezeptor Cyclophylin. Im Folgenden wird dadurch das Enzym Calcineurin inhibiert mit resultierender Verminderung der IL-2 Produktion. Die T-Zell- Aktivierung wird verhindert (174).
Bei fehlendem IL-2 können einerseits die T-Lymphozyten nicht aktiviert werden und andererseits wird die Phase der klonalen Expansion der T-Lymphozyten unterdrückt. Dies führt zu einer reversiblen Hemmung des Immunsystems. Es tritt eine

hochselektive immunsuppressive Wirkung ein, die nicht an der Zellteilung angreift (175).
Im Plasma ist Ciclosporin A zu etwa 90% an Proteine, überwiegend Lipoproteine, gebunden. Ciclosporin A wird vorwiegend in der Leber über das Cytochrom-P450-abhängige Monooxygenase-System metabolisiert (176).
Die Gabe von Ciclosporin wird nach einer langsamen Reduktion protokollabhängig zwischen Tag +90 und Tag +180 beendet. Eine fortlaufende Kontrolle des Blutspiegels und der Nierenretentionsparameter sind erforderlich.

1.8.3 MTX

Methotrexat gehört zu den unspezifischen Immunsuppressiva. Der Folsäure-Antagonist wird seit 1948 zur Behandlung der akuten Leukämien eingesetzt. Der genaue Wirkmechanismus zur Prophylaxe einer GvHD ist nicht bekannt; angenommen wird eine Hemmung der T-Zellen des Transplantates gegenüber Empfängerantigenen.
Üblich ist bei der MAC die short-course MTX-Gabe mit einer Dosis von 15 mg/m² an Tag +1 und 10 mg/m² an den Tagen +3 und +6 (165, (167), (168).

1.8.4 Mycophenolat Mofetil (MMF)

Diese Substanz wird vorwiegend bei dosisreduzierter Konditionierung eingesetzt. Mycophenolat Mofetil ist ein Arzneistoff, der die Wirkung des Immunsystems unterdrückt (Immunsuppressivum). Es wird vor allem in Kombination mit Ciclosporin und Kortikosteroiden zur Prophylaxe von akuten Transplantatabstoßungsreaktionen eingesetzt. Mycophenolat Mofetil ist der 2-Morpholinoethylester der Mycophenolsäure (MPA) und wird im Körper in diese umgewandelt. MPA ist ein selektiver, nichtkompetitiver und reversibler Hemmer der Inosinmonophosphat-Dehydrogenase (IMPDH), der dementsprechend die Synthese der Guanin-enthaltenen Nukleotide (Guanosin) hemmt. Da für die Proliferation von T- und B-Lymphozyten die de novo Synthese von Purinen unerlässlich ist, während andere Zellarten den Wiederverwertungsstoffwechsel benutzen können, wirkt MPA stärker zytostatisch auf Lymphozyten als auf andere Zellen, wodurch diese selektiv vermindert werden.

Zu den häufigeren Nebenwirkungen (bei über 10 % der Patienten) zählen die Anämie, Thrombozytopenie, Übelkeit, Erbrechen und Durchfall. Infolge der Unterdrückung des Immunsystems können vermehrt Infektionen mit Herpes simplex, Herpes zoster bis hin zu Candidosen und Sepsis durch verschiedenste Erreger auftreten (126), (178).

1.8.5 Steroide

Steroide werden zur GvHD-Prophylaxe nicht standardmäßig eingesetzt, sondern nur bei Nebenwirkungen und Unverträglichkeiten anderer Substanzen.

1.9 Der GvL-Effekt

Der Graft-versus-Leukemia Effekt (GVL), auch als Graft-versus-Lymphoma oder Myeloma-Effekt bezeichnet, resultiert aus einem adoptiven immuntherapeutischen Effekt, der von immunkompetenten Zellen bzw. deren Vorläufern aus dem Knochenmark von HLA-kompatiblen Spendern resultiert (179).

1.9.1 Die Nutzung des GvL-Effektes einschließlich der Gabe von DLI

Das Auftreten eines GvL-Effektes oder einer GvHD beim Empfänger ist auch mit davon abhängig, ob für die Transplantation Knochenmark oder periphere Blutstammzellen verwendet wurden. Je nach Stammzellquelle (KM oder PBSC) bestehen Unterschiede in der Funktion von Spender T-Zellen vor der Transplantation (Beeinflussung der T-Helferzellen und die Zunahme der immaturen Antigen-präsentierenden Zellen und der plasmazytoiden dendritischen Zellen als Grundlage für die weitere T-Zell Differenzierung nach der Transplantation). T-Lymphozyten sind keine homogene Zellgruppe. Sie setzen sich aus verschiedenen Subpopulationen mit unterschiedlichen Aufgaben zusammen. Eine frühe Rekonstitution der T-Zellen nach T-Zell depletierter hämatopoetischer Stammzelltransplantation schützt vor einem malignen myeloischen Relaps und hat somit ein kuratives Potential. Dies wurde für NK-Zellen und CD4-pos. T-Zellen nachgewiesen. Eine frühe Erholung speziell der NK-Zellen ist assoziiert mit einem signifikant erhöhtem Schutz vor einer behandlungsassoziierten Mortalität (180).

Donorlymphozyten (DL) werden als Immuntherapie bei Nachweis eines zytogenetischen oder molekularen Rezidivs bzw. beim drohenden Transplantatversagen transfundiert. Die Dosis der Erstgabe von DL sollte dabei 0,2 x 10^8 mononukleärer Zellen/kg KG nicht übersteigen (181). Durch die Möglichkeit einer DL-Gabe kann ein starker GVL-Effekt bei einem gemischten Chimärismus nach nichtmyeloablativer Konditionierung ohne Auftreten einer GvHD erreicht werden (182), (183).
In der deutschsprachigen Literatur wird synonym die Abkürzung DLT verwendet; sie ist inhaltlich mit dem englischen Terminus identisch (184).

1.10 Der Stellenwert der T-Zellen in der Stammzelltransplantation

Die-T-Zell-Depletion ist neben der Einflussnahme auf Spender-Empfänger-Faktoren und der pharmakologischen Immunsuppression eine von drei Möglichkeiten zur Vermeidung einer GvHD (50). Immunologisch ist die T-Zell-Depletion pharmakologisch sowohl in vivo als auch in vitro zu erreichen. Auch die NK-Zellaktivität kann man in vivo unterdrückten. Die T-Zell- Depletion, sowohl der Spender- als auch der Empfänger-abhängigen T-Zellen, ist Bestandteil des Konditionierungsregimes. Dadurch wird das Engraftment erleichtert und das Risiko einer schweren GvHD reduziert. Eine T-Zell-Depletion wird meist bei der Transplantation von unverwandten Spendern oder bei Spendern mit HLA-mismatch eingesetzt, bei Geschwistern mit HLA-Identitätist ist dies optional (168), (171), (199).

1.10.1 Die in vivo T-Zell-Depletion mit ATG und Alemtuzumab

Die Antikörper-vermittelte T-Zell-Depletion ist Bestandteil des Konzeptes zur Verminderung von GvHD. ATG, das wahlweise vor oder nach der Transplantation appliziert wird, ist seit fast 40 Jahren bewährt, Besonderheiten und Nebenwirkungen sind gut bekannt (99).
2008 wurde die Standardtherapie mit ATG der Therapie mit Alemtuzumab gegenübergestellt, Alemtuzumab führte im Vergleich zu ATG zu geringeren Fällen an akuter GvHD. Es traten jedoch mehr Fälle mit chronischer GvHD auf. Ansonsten wurde das outcome als ähnlich angegeben (185). Andere Ergebnisse wie von der Gruppe um Finke (168) sowie unsere eigenen Daten (186) weisen auf ein

schnelleres Engraftment und eine Minimierung der Fälle mit einer schweren GvHD hin.

1.10.2 Die in-vitro T-Zell-Depletion (Campath in the bag)

Es ist auch möglich, dem Transplantat eine therapeutisch wirksame Menge eines Immunsuppressivums zuzugeben, um eine Transplantat-Wirt-Reaktion zu minimieren.

Ab 1985 wurde die in-vitro-Manipulation von Knochenmarkzellen zur Prävention einer GvHD durchgeführt (187), ebenso vom Bunjes aus Ulm in dem Zeitraum von 1983-1999 (190). Ab 2001 wurde von der niederländischen Gruppe um von dem Borne bei Patienten in der Konditionierung mit reduced intensity Protokollen vor geplanter allogener Stammzelltransplantation dem Transplantat 20 mg Alemtuzumab zugesetzt (188).

2002 berichtete die Arbeitsgruppe um Pérez-Simon ebenfalls über die Möglichkeit, die gewonnenen Stammzellen in vitro mit 20 mg Alemtuzumab zur T-Zell-Depletion zu versetzen (Konzept „in the bag“). Dies wurde bei Patienten mit high-risk AML durchgeführt. Als Ergebnis zeigte sich ein Erfolg bei jüngeren Patienten mit nur geringen Raten an akuter GvHD, eine geringere nicht-rückfallbedingte Mortalität und fehlende exzessive Relaps-Raten im Vergleich mit Therapieregimen ohne T-Zell-Depletion (138).

1.10.3 Klinische Probleme durch eine T-Zell-Depletion

Nachteile einer T-Zell-Depletion ergeben sich aus der erhöhten Rate an Transplantatversagen/Abstoßung, einer Verminderung des GvL-Effektes und ein erhöhtes Rezidiv-Risiko insbesondere bei der Ph+ ALL (193).

1.11 Das CD52-Antigen

Bedeutung und Vorkommen des CD 52-Antigens:

CD52 befindet sich auf der Oberfläche von über 95 % aller Lymphozyten und in unterschiedlicher Ausprägung bei verschiedenen neoplastischen T- und B-Lymphozyten, ob T- oder B-Zellen eine höhere Expression aufweisen, wird in der Literatur unterschiedlich angegeben (194),(195). 450.000 Moleküle sind

schätzungsweise pro Zelle vorhanden, dies sind bis zu 5 % der Oberfläche von Lymphozyten. Neben den B- und T-Lymphozyten sind auch Monozyten, Thymozyten und Makrophagen CD52 positiv. Das Antigen ist auf einem kleinen Teil (< 5%) von Granulozyten vorhanden, jedoch nicht auf Erythrozyten oder Thrombozyten. CD52 wird nach heutigem Wissen bei nahezu allen lymphoproliferativen Erkrankungen exprimiert, der Nachweis wurde bisher geführt bei der CLL, der Haarzell-Leukämie, praktisch allen niedrig malignen Lymphomen, in den meisten Fällen der diffus-großzelligen Lymphome sowie in der Mehrzahl der anaplastischen, großzelligen und lymphoblastischen T-Zell-Lymphome. Auch andere T-Zell-Lymphome sind CD52 positiv wie die Prolymphozytenleukämie, periphere T-Zell-Lymphome, Mycosis fungoides einschließlich seiner leukämischen Variante sowie die T-LGL.
Das CD52 Antigen wird über ein Gen am Chromosom 1 transkribiert und stellt eine 21 bis 28kD große Struktur aus zwölf Aminosäuren und einem N-terminal-gebundenen Oligosaccharidkomplex dar. Die genaue biologische Funktion von CD 52 bei den verschiedenen Zelltypen, die das Oberflächen-Antigen exprimieren, ist unbekannt. Weiterhin wurde in einem Briefreport von Ambrose et al über Erkenntnisse zur Expression von CD52 auf Neutrophilen berichtet mit Nachweis einer Komplement-vermittelten Lyse bei Anwesenheit von Alemtuzumab (196).

1.12. Alemtuzumab

1.12.1 Die Charakterisierung von Alemtuzumab

Alemtuzumab ist ein Anti-CD52 humanisierter monoklonaler IgG1-Kappa-Antikörper, der sich spezifisch an das Glykoprotein CD52 an der Zelloberfläche von Lymphozyten bindet.

1.12.2 Die Dosierung von Alemtuzumab

Die optimale Dosis für Alemtuzumab im Setting der allogenen Stammzelltransplantation ist bisher nicht definiert worden. Alemtuzumab wird sowohl als Bestandteil der Konditionierung als auch in der post-Transplantationsphase eingesetzt. 2009 wurde umfassend über die Ergebnisse zur Dosisdeeskalation berichtet (191).

Initial wurde 1998 eine Totaldosis von 100 mg Alemtuzumab verteilt auf 5 Tage gegeben. Aus der resultierenden Panlymphozytendepletion resultierte neben einer signifikant geringeren Rate an GvHD ein Anstieg von schweren viralen und opportunistischen Infektionen und Rückfällen der Grunderkrankung (192),(193),(194).

Devetten et al berichteten 2005 von einer Dosisreduktion auf 40 mg Alemtuzumab in Kombination mit einer Standard GvHD-Prophylaxe (Calcineurin-Inhibitor plus MTX) mit einer geringeren Inzidenz von akuter und chronischer GvHD (198).

In einer prospektiven Studie zur Durchführbarkeit von Messungen zur Pharmakokinetik von Alemtuzumab wurde 2010 von Spyridonidis et al die Zeit bis zum Engraftment untersucht. Im Vergleich mit anderen Studien zeigte sich ein schnelleres Engraftment sowohl für die neutrophilen Granulozyten als auch die Thrombozyten (Campath-10-cohort und Campath-20/15 cohort). : Die mediane Zeit zum Erreichen von Leukozyten >1000x 10^9cells/l betrug 14 Tage (10-21) und die mediane Zeit bei den Thrombozyten bis zu Werten über 20x10^9 cells/l ohne Transfusionen betrug 12 Tage (7-29), Thrombozytenwerte über 50 x10^9/l wurden in 13 Tagen (10-95) erreicht. Die Gabe von 10 mg Alemtuzumab vor Transplantation in Kombination mit CSA nach Transplantation scheint eine schwere akute und chronische GvHD zu verhindern. Mit der Gabe von Alemtuzumab 5 mg/d an den Tagen -2 und -1 wurde am Tag der Transplantation (d0) eine geringe, aber immer noch lymphotoxische Serum-Alemtuzumab-Konzentration nachgewiesen. Die schnelle Clearence von Alemtuzumab wurde als viel versprechend hinsichtlich Sicherheit und Effektiv für den GvL-Effekt bewertet (199).

Ho et al zeigten anhand der Daten, dass die lange Halbwertzeit von Alemtuzumab zu einer Depletion von CD52-positiven Spenderzellen einschließlich der zirkulierenden Antigen-präsentierenden Dendritischen Zellen führt. Dies führt jedoch zu einer signifikanten Reduktion des GVL-Effektes in Verbindung mit einem erhöhten Risiko für opportunistische Infektionen. In dieser Arbeit ging es um die RIC bei MDS und Trilineage disease-AML, es wurde wiederholt festgestellt, dass durch Alemtuzumab eine höhere Rate an CMV-Reaktivierung auftritt (200). In einer aktuellen Untersuchung von Novitzky et al von 2013 wird über die notwendige Dosis von 1mg Antikörper auf 100 ml Zellsuspension mit 10x 10^9 Zellen und enthaltenem Komplement (Antikörperserum) berichtet (201).

2010 wurde in einer prospektiven Multicenter-Studie über die Dosisreduktion auf 30 mg Alemtuzumab an Tag -1 im Setting einer Fludarabin-Melphalan-Konditionierung für HLA-identische Geschwister als machbare bzw. günstige Therapieänderung mit einem geringen Risiko für eine GvHD, ohne Anstieg der Non-Relapse-Mortalität und einer ansteigenden Lymphozyten-Erholung nach 1 Jahr berichtet (202).

Eine weitere Dosisreduktion auf 20 mg führte zu höheren Raten an schwerer GvHD (202). Nach der Therapie mit Alemtuzumab sind die Patienten bei niedriger Zahl an T-Zell-Lymphozyten hochgradig gefährdet für opportunistische Infektionen (202), (125), (203), (204).

Alemtuzumab führt zu einer beträchtlichen Reduktion der NK-Zell-Aktivität in der frühen Phase (Tag +30) nach allogener Stammzelltransplantation. Dies ist von Bedeutung für die Reduzierung des Auftretens einer GvHD durch alloreaktive T-Zellen (205).

2. Material und Methoden

Retrospektiv untersucht und gegenübergestellt wurde in einer matched-pair-Analyse von insgesamt 56 Patienten für den Zeitraum von Juli 1999 bis 2010 die Gabe von Alemtuzumab als Bestandteil der Konditionierungstherapie vor einer allogenen Stammzelltransplantation bei verwandten oder unverwandten Spendern dem bisherigen quasi-Standard, der Gabe von ATG vor unverwandter Transplantation bzw. der Konditionierung ohne in-vitro T-Zell -Depletion bei HLA-identer Geschwistertransplantation bzw. keine Gabe von ATG und keine Antikörpergabe bei insgesamt 28 Patienten (in der statistischen Auswertung bezeichnet als Kontrollgruppe).

Die investigative Gruppe mit 28 Patienten wurde mit Alemtuzumab behandelt, die Kontrollgruppe mit ebenfalls 28 Patienten erhielt entwedet ATG oder keinen Antikörper in Abhängigkeit von Erkrankung bzw. Erkrankungsstadium, Alter, Transplantationstyp und Risikostatus. Als ATG-Präparat verwendeten wir ATG-Fresenius® (30 mg/kg, Fresenius - Biotech, Munich, Germany) oder Thymoglobin (6 mg/kg, Genzyme, Cambridge MA, USA) jeweils vor unverwandter oder mismatch-Transplantation bzw. keinen Antikörper bei HLA-identen Geschwistern.

Alemtuzumab wurde jeweils am Tag 1 mit 10 mg dosiert, bei einem HLA-mismatch der Spender gaben wir 20 mg. Im Einzelnen wurden die Patienten hinsichtlich Erkrankung, Krankheitsstadium, Alter, Geschlecht, Transplantationstyp und Risikostatus analysiert. Beide Patientengruppen wurden verglichen zum Zeitpunkt des Engraftments, Outcome, disease-free (DFS) und overall-survival (OS), zur GvHD, Fehlen von GvHD und transplantationsbedingter Mortalität. Zusätzlich erfolgte eine Analyse unter der Fragestellung, ob der Einsatz von G-CSF-Präparaten einen Einfluss auf die Dauer der Anämie und Thrombozytopenie hat. Diese Ergebnisse sollen einen Beitrag leisten zur Klärung des Transfusionsbedarfes unter Alemtuzumab im direkten Vergleich bei non-Campath-Behandlung. Die Dosierung von Alemtuzumab in Abhängigkeit vom verfügbaren familiärem Spender bzw. Fremdspender mit jeweils 10 oder 20 mg ist neu im Vergleich zu den bisherigen Protokollen. Die Arbeit von Bertz hatte zuletzt über eine mögliche Dosisdeeskalierung auf 40 mg bzw. 20 mg bzw. 10 mg berichtet (191).

Statistik: Die Datensammlung erfolgte unter Benutzung der PC-Software MS Office in einer Excel-Tabelle (Microsoft, München) und wurde mit dem Software-Programm WinStat (www.winstat.de) analysiert. Bei den eingesetzten Tests handelte es sich im

Einzelnen um: Wilcoxon-Test, Chi-Quadrat-Test, Mann-Whitney U-Test, der t -Test, log-rank Test und die Kaplan-Meier–Analyse für das Überleben. Unterschiede mit einem p-Wert < 0.05 wurde als statistisch signifikant angesehen.

3. Ergebnisse

3.1 Alter der Patienten

Die durchgeführte, retrospektive Untersuchung ist eine matched-pair Analyse. Achtundzwanzig konsekutive Patienten wurden im Rahmen der Konditionierung vor allogener Stammzelltransplantation von Juni 2009 bis November 2010 zur in-vivo T-Zell-Depletion mit Alemtuzumab (MabCampath®) behandelt. Die Dosis betrug 10 mg absolut vor HLA-matched Familien- oder Fremdspendertransplantation und 20 mg vor mismatched Transplantation. Der Antikörper wurde an Tag -1 gegeben. Als matched-pair Partner wurden 28 Patienten ausgewählt, die zwischen Juni 1999 und Mai 2009 allogen transplantiert wurden. Die Auswahl der Patienten der Kontrollgruppe erfolgte anhand der Parameter Alter, Diagnose, Erkrankungsstatus und Risikosituation sowie der Transplantationsbiologie.

Das mediane Alter betrug 52 (range 20 – 70) Jahre in der Alemtuzumab-Gruppe und 47 (range 20-67) Jahre in der Kontrollgruppe (p=0,15, chi²). Der Anteil männlicher Patienten war in der Kontrollgruppe leicht höher als in der Alemtuzumab-Gruppe (79% vs. 61 %, p=0,39; MWU).

Tabelle 6: Altersverteilung

Parameter	**Alemtuzumab**	**Kontrollgruppe**	**p Wert**
Patienten (n)	28	28	
Männer	17 (61 %)	22 (79 %)	0.15 (chi^2)
Alter bei SCT	52 (20-70)	47 (20-67)	0.39 (MWU)

Die in-vivo T-Zell-Depletion wurde bei den Patienten der Kontrollgruppe vor unverwandter Transplantation entweder mit ATG-Fresenius® (30 mg/kg

Körpergewicht, Fresenius Biotech, München) oder mit Thymoglobin (6 mg/kg Körpergewicht, Genzyme, Cambridge, MA, USA) durchgeführt. Vor HLA-identer Geschwistertransplantation wurde bei den Patienten der Kontrollgruppe keine in-vivo T-Zell-Depletion durchgeführt.

Tabelle 7: In-vivo T-Zell-Depletion

Anzahl der Patienten	56
Alemtuzumab	28
- Männer	17
- Frauen	11
ATG	19
- Männer	15
- Frauen	4

3.2 Diagnosen, Konditionierung und Stammzelltransplantation

Die Grunderkrankungen war in jeder Gruppe jeweils vierzehn Fälle (50 %) einer akuten Leukämie, in einem Fall eine chronische myeloische Leukämie (3,6 %), in drei Fällen ein Multiples Myelom (10,7 %), in fünf Fällen ein aggressives (17,9 %), in drei Fällen ein indolentes Non-Hodgkin Lymphom (10,7 %) und in zwei Fällen ein MDS (1,4 %).

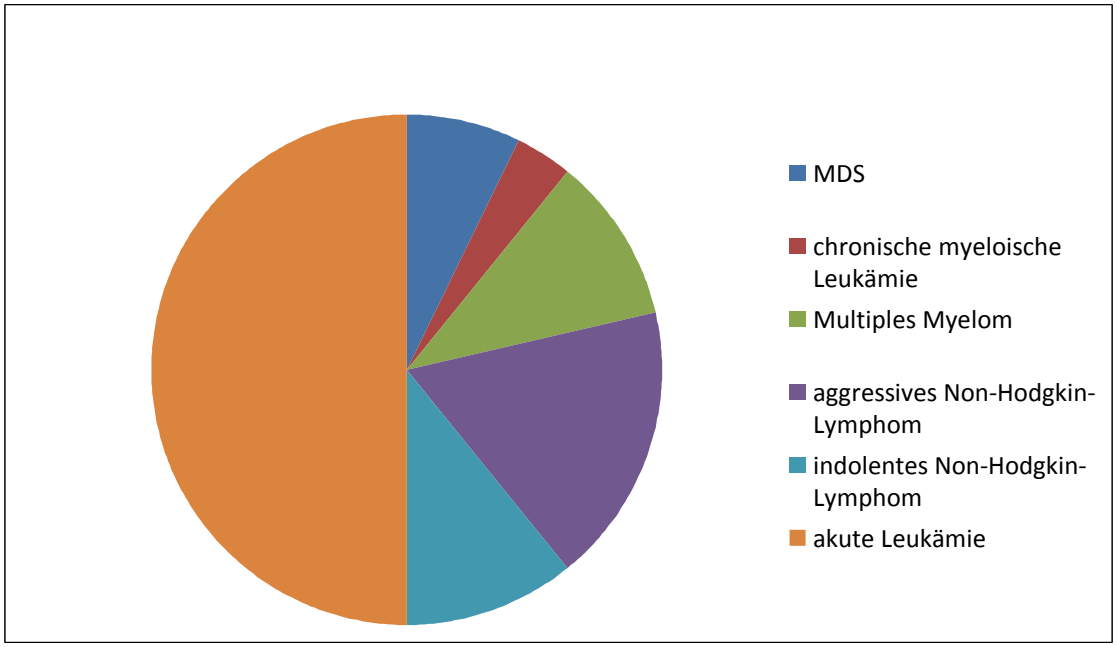


Abbildung 1

Zweiundzwanzig Patienten erhielten eine myeloablative Therapie vor Stammzelltransplantation. Gegeben wurde Busulfan$_{16\ mg/kg}$(oder i.v. Äquivalent/Cyclophosphamid$_{120\ mg/kg}$ ±VP16 $_{kg}$ (n=21) oder Ganzkörperbestrahlung (TBI)$_{12Gy}$ + Cyclophosphamid$_{120\ mg/kg}$ (n=1) (206).

Vierunddreißig Patienten erhielten eine dosisreduzierte Konditionierung (RIC), entweder mit einer Ganzkörperbestrahlung und in Kombination mit Fludarabin (TBI$_{2Gy}$/Fludarabin$_{150\ mg/m^2}$ (n=10), oder Treosulfan$_{36mg/m^2}$ (n=15) oder Melphalan$_{100-140\ mg/^2}$/Fludarabin$_{150mg/m^2}$ (n=6) (207), (208), (209).

Ein myeloablatives Konditionierungsprotokoll wurde bei jüngeren Patienten und aggressiverer Grunderkrankung bevorzugt. Dosisreduzierte Protokolle wurden bei den älteren Patienten bei vorliegenden Komorbiditäten und weniger aggressiven Grunderkrankungen bevorzugt.

Siebzehn Patienten wurden von einem HLA-identen Geschwister transplantiert und 39 von einem unverwandten Spender. In neun Fällen lag ein serologisches und in 22 Fällen ein molekulargenetischer mismatch vor. Zehn männliche Patienten wurden von einem weiblichen Spender transplantiert. In 28 Fällen lag eine AB0-Disparität vor

und 11 CMV-IgG-positive Patienten wurden von einem CMV-negativen Spender transplantiert. Im Allgemeinen wurde ein HLA-mismatch (9/10-match) gegenüber dieser CMV-Hochrisikokonstellation bei der Spenderauswahl bevorzugt. Tranplantiert wurden in allen Fällen G-CSF mobilisierte Blutstammzellen. Die eingesetzten Konditionierungsprotokolle variierten aufgrund der verschiedenen Erkrankungen/Erkrankungsstadien und sind in der Gegenüberstellung von der Alemtuzumab-Gruppe und der Kontrollgruppe in Tabelle 8 aufgelistet.

Tabelle 8: Erkrankungen und Konditionierungsprotokolle

Diagnose	**Alemtuzumab**	**Kontrollgruppe**	**p Wert**
AML/ALL	14	14	n.a.
CLL/indolent NHL	3	3	n.a.
CML	1	1	n.a.
MDS	2	2	n.a.
Multiples Myelom	3	3	n.a.
High grade NHL/MCL	5	5	n.a.
High risk disease	22 (79 %)	22 (79 %)	n.a.
Transplantationsbiologie			
Verwandte Spender	9 (32 %)	8 (29 %)	0.77 (chi^2)
Unverwandte Spender	19 (68 %)	20 (71 %)	0.77 (chi^2)
AB0 Inkompatibilität	14 (50 %)	14 (50 %)	n.a.
HLA-mm (Antigen)	4 (14 %)	5 (18 %)	0.72 (chi^2)
HLA-mm (4-stellig)	7 (25 %)	15 (39 %)	0.25 (chi^2)
Tx männl. zu weibl	6 (21 %)	4 (14 %)	0.52 (chi^2)
Tx CMV^- zu CMV^+	4 (14 %)	7 (26 %)	0.28 (chi^2)
PBSC (graft)	28 (100 %)	28 (100 %)	n.a.

Konditionierung			
MAC	13 (46 %)	9 (32 %)	0.27 (chi²)
Bu/Cy	13	8	
TBI 12 Gy/Cy	0	1	
RIC	15 (54 %)	19 (68 %)	0.27(chi²)
TBI 2 Gy/Flu	6	4	
Treo/Flu	5	10	
Melphalan/Flu	3	3	
Bu/Flu	1	2	
Supportivtherapie			
G-CSF	13 (46 %)	28 (100 %)	$<10^{-5}$

Tabelle 9: Patientenzuordnung [modifiziert nach 186]

Parameter	Alemtuzumab	ATG/no ATG	p value
Patienten (n)	28	28	n.a.
Gender (male)	17 (61%)	22 (79%)	0,15 (chi²)
Alter bei der Tx	52 (20-70)	47 (20-67)	0,39 (MWU)

3.3 Supportive Therapie, GvHD-Prophylaxe und hämatologische Rekonstitution

3.3.1 Die supportive Therapie

Die antibakterielle Prophylaxe wurde mit drittgenerations-Chinolonen durchgeführt. Die antimykotische Prophylaxe wurde mit Fluconazol begonnen und an Tag +1 wurde auf Itroconazol oder Voriconazol gewechselt. Mit Metronidazol wurde die anaerobe Darmdekontamination bis Tag +30 durchgeführt. Die systemische Pilzprophylaxe wurde bei fehlender GvHD an Tag +70 beendet. Alle Patienten erhielten Aciclovir als antivirale Prophylaxe, beginnend an Tag +1, mindestens bis Tag +30. Die Pneumocystis jirovecii-Prophylaxe wurde bis Tag +180 durchgeführt, entweder mit systemischem TMP-SMZ oder mit Pentacarinat-Inhalationen.

3.3.2 Die G-CSF Gabe

Zur Stimulierung der Hämatopoese erhielten insgesamt 41 Patienten ab Tag +1 ein G-CSF –Präparat. 13 Patienten (46 %) der Alemtuzumab-Gruppe im Vergleich zu 28 Patienten der Kontrollgruppe (100 %). Der p-Wert nach chi^2-Test betrug < 10^{-5}.

3.3.3 Die hämatologische Rekonstitution

Erythrozyten wurden im Allgemeinen bei einem Abfall des Hämoglobinspiegels unter 8 mg/dl transfundiert. Eine prophylaktische Thrombozytentransfusion erhielten die Patienten unterhalb einer Plättchenzahl von 10/nl.

Die Dauer der hämatopoetischen Rekonstitution wurde in Tagen ab der Stammzelltransplantation (d0) gezählt. Als Tag des leukozytären Engraftments wurde der erste von drei konsekutiven Tagen gewertet, an denen die Leukozytenzahl im Blut mindestens 1/nl betrug.

Analog wurde das Thrombozytenengraftment bei transfusionsunabhängigen Werten von mindestens 20/nl erreicht. Der Engraftmenttag wurde in den Analysen als ‚0' angegeben, wenn die Zahl nie unter die oben genannte Grenze fiel.

Das Thrombozytenengraftment mit Thrombozytenwerten >20/nl wurde in der Alemtuzumab-Gruppe an Tag 11,5 (Median, Range: 0-26) erreicht, in der ATG-Gruppe an Tag 20,5 (etc 0-54). Der p-Wert nach dem Mann-Whitney U Test betrug < 10^{-4}. Die Dauer der Thrombozytopenie verkürzte sich im Mittel über alle Patienten von 20,5 Tage auf 11,5 Tage. Unter Berücksichtigung einer zusätzlichen Gabe eines G-CSF Präparates innerhalb der Alemtuzumab-Gruppe ergab sich folgender Unterschied: Thrombozyten >20/nl nach erfolgter G-CSF Gabe an Tag 16,8 gegenüber Tag 25,6 in der Kontrollgruppe.

Ohne G-CSF-Gabe erreichten die Thrombozyten den Wert >20/nl in der Alemtuzumab-Gruppe an Tag 10,34 im Vergleich zur Kontroll-Gruppe, dort im Mittel an Tag 5,5.

Tabelle 10: Engraftment-Daten in Tagen (Mittelwert) :

	Leukozyten > 1/nl	**Thrombozyten >20/nl**
Alemtuzumab	15,7	11,5
Kontrollgruppe (ATG, kein ATG, kein Alemtuzumab)	16,2	24,1
Thrombozyten:		
	G-CSF	Kein G-CSF
Alemtuzumab	16,8	10,3
Kontrollgruppe (ATG, kein ATG, kein Alemtuzumab)	25,6	5,5

3.3.4 Transfusionen

Zwischen Tag 0 und Tag +40 waren in der Alemtuzumab-Gruppe 7 Erythrozytenkonzentrate nötig. Die Kontrollgruppe ohne Alemtuzumab benötigte 17 EKs.

Die Patienten in der Alemtuzumab-Gruppe benötigten im Median 2,5 Thrombozytenkonzentrate zwischen d0 und d40, die Gruppe ohne Alemtuzumab 15 Thrombozytenkonzentrate.

Transfusionen der Gruppe Alemtuzumab plus G-CSF Präparat:

12 Patienten waren transfusionspflichtig, davon 6 Frauen und 6 Männer. Diese Patienten erhielten insgesamt 148 Erythrozytenkonzentrate mit einem Mittelwert von 12 (6-32) und 43 Thrombozytenkonzentrate mit einem Mittelwert von 3 (0-13).

Transfusionen innerhalb der Kontrollgruppe:

19 Patienten (15 Männer und 4 Frauen) erhielten ATG und später ein G-CSF Präparat. In dieser Patientengruppe wurden 346 Erythrozytenkonzentrate verabreicht, im Mittel 18 (0-56) sowie 296 Thrombozytenkonzentrate mit einem Mittelwert von 15 (0-42). Bei einem Patienten fehlten Angaben zur Transfusionspflichtigkeit und ob transfundiert wurde.

Tabelle 11: Transfusionsbedarf

	Pat. mit Alemtuzumab + G-CSF	**Pat. mit ATG + G-SCF**
n	12	19
Erythrozytenkonzentrate	148	346
Thrombozytenkonzentrate	43	296

In der Kontrollgruppe betrug die mittlere Dosis der transplantierten $CD34^+$Zellen 5,29 x 10^6 Zellen (0,9-19,1 x 10^6).

Wir stellten keinen signifikanten Unterschied in der stationären Verweildauer auf der Transplantationseinheit fest. Die Entlassung der Patienten aus der Alemtuzumab-Gruppe erfolgte im Mittel nach 46,5 Tagen im Vergleich zu 36,5 Tagen in der Kontrollgruppe.

3.4 Die akute und chronische GvHD

Als GvHD-Prophylaxe wurde Ciclosporin A in Verbindung mit Methotrexat („short-course“, 15 mg/m² an Tag +1, 10 mg/m² an den Tagen +3 und +6 i.v.) gegeben. Nach minimaler Konditionierung wurde Ciclosporin A mit Mycophenolat Mofetil kombiniert. Die GvHD-Prophylaxe wurde bei ausbleibender GvHD risikoadaptiert zwischen Tag +100 und Tag +180 beendet.

Die akute und chronische GvHD wurden analog der internationalen Standards graduiert und behandelt. Das Intervall bis zum Auftreten einer GvHD (fredom from GvHD) wurde mit dem log-rang test berechnet und mit einer Kaplan-Meyer Kurve visualisiert. Ereignisse waren hier die Manifestation einer akuten oder chronischen GvHD oder der Tod. Für die Analyse des ereignisfreien Überlebens (EFS) war entweder das Rezidiv oder der Tod als Ereignis definiert, für das Gesamtüberleben nur der Tod.
Die Inzidenz einer akuten GvHD betrug 36 % nach Alemtuzumab im Vergleich zu 50 % der Kontrollgruppe. Bezüglich der Schwere der GvDH zeigte sich kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen. In jeder Gruppe hatten 6 Patienten eine milde GvDH, 4 und 8 Patienten hatten eine moderate bis schwere GvHD (siehe Tabelle 12). Daraus resultiert eine grenzwertige Signifikanz (p=0,05) für eine geringere Inzidenz einer chronischen GvHD nach Therapie mit Alemtuzumab im Vergleich mit der Kontroll-Gruppe.

Tabelle 12: Akute und chronische GvHD [eigene Daten;186]

Parameter Transplantation	**Alemtuzumab**	**Kontrollgruppe**	**p value**
Tag der Tx	Juni 2009-November 2010	Juli 1999 - Mai 2009	
$CD34^{+}$Zellenx10^{6}	7.1 (2.7-11.3)	5.29 (0.9-19.1)	0.15 (MWU)
Tag Leuko >1/nl	15,7 (11-28)	16 (9-31)	
Tag Thrombo >20/nl	11.5 (0-26)	24 (0-54)	
Entlassungstag	36.5 (22-82)	46.5 (24-76)	0.006(MWU)

von der Transplantstation			
GvHD			
Akute GvHD (n)	10 (36 %)	14 (50 %)	0.28 (chi²)
Grad der akuten GvHD	0 (0-4)	0.5 (0-4 %)	0.34 (MWU)
Grad 1 (n)	2 (7 %)	4 (14 %)	
	4 (14 %)	2 (7 %)	
Grad 2 (n)	1 (4 %)	7 (25 %)	Grad 3/4: p=0.16 chi^2
	3 (11 %)	1 (4 %)	
Grad 3 (n)			
Grad 4 (n)			
Chron. GvHD (n)	3 (11 %)	9 (32%)	0.05 (chi^2)
cGvHD limited disease	2	5	0.16 (chi^2)
extensive disease	1	4	0.16 (chi^2)
frei v. GvHD (in Monaten)	12.6 (0.5-31.2)	3.0 (0.3-106.5)	0.10 (log-rank-test)
Outcome			
Relapses (n)	9 (32 %)	14 (50 %)	0.17 (chi²)
Tod (n)	13 (46 %)	17 (61 %)	0.28 (chi²)
frei v. GvHD (in Monaten)	12.6 (0.5-31.2)	3.0 (0.3-106.5)	0.10 (log-rank-test)
EFS (Jahre)	1.3 (0.1-2.6)	1.7 (0.1-11.4)	0.67 (log-rank-test)
OS (Jahre)	1.3 (0.1-2.6)	2.6 (0.1-11.4)	0.55 (log-rank-test)

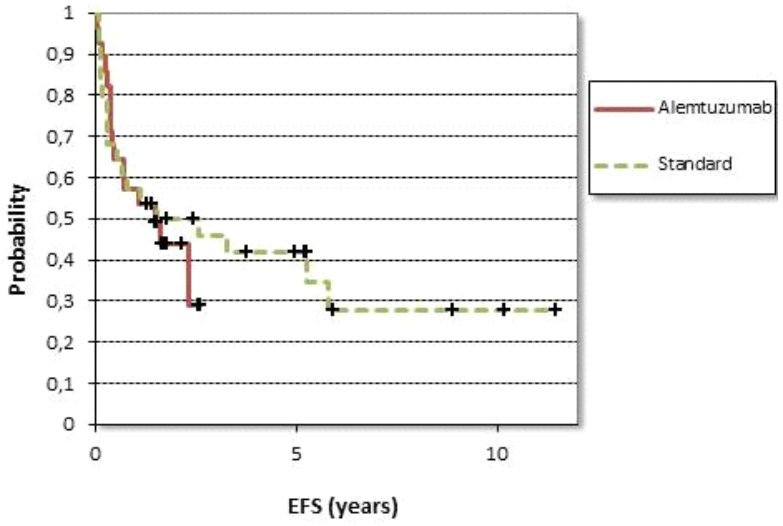
Eine chronische GvHD erlitten 12 Patienten. 9 von ihnen hatten zuvor eine akute GvHD. Drei Patienten ohne Vorereignisse entwickelten eine de novo GvHD. Bei keinem der Patienten trat ein overlap-Syndrom auf.

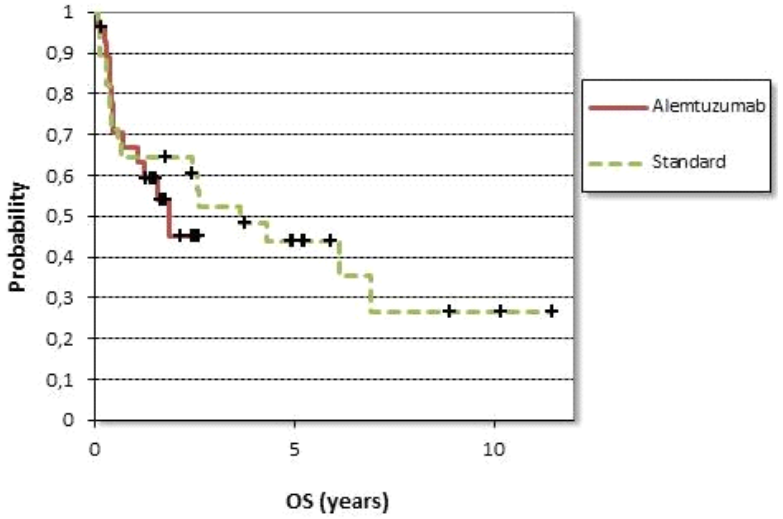
Um Unterschiede hinsichtlich der Freiheit vom Auftreten einer GvHD in der Posttransplantationsphase in beiden Gruppen zu erfassen, wurde eine Berechnung mit dem log-rank Test durchgeführt. Das mittlere Intervall betrug 12,6 Monate (0,5-31,2 Monate) nach Alemtuzumab im Vergleich zur Kontrollgruppe mit 3,0 Monaten (0,3-106,5 Monate).
Dabei müssen aber die Unterschiede bei der Herkunft der peripheren Blutstammzellen berücksichtigt werden (verwandter Geschwister oder unverwandter Spender). Eine Darstellung in Kaplan-Meier-Plots zeigt parallel verlaufende Kurven. Jedoch bei alleiniger Betrachtung der Daten der Geschwister-Transplantation zeigt sich eine Signifikanz: 18,2 Monate im Mittel (0,8-30,6) nach Alemtuzumab gegenüber der Kontrollgruppe ohne Antikörper mit im Mittel 1,4 Monaten (0,7-21,4). [Darstellung siehe Figur 2]

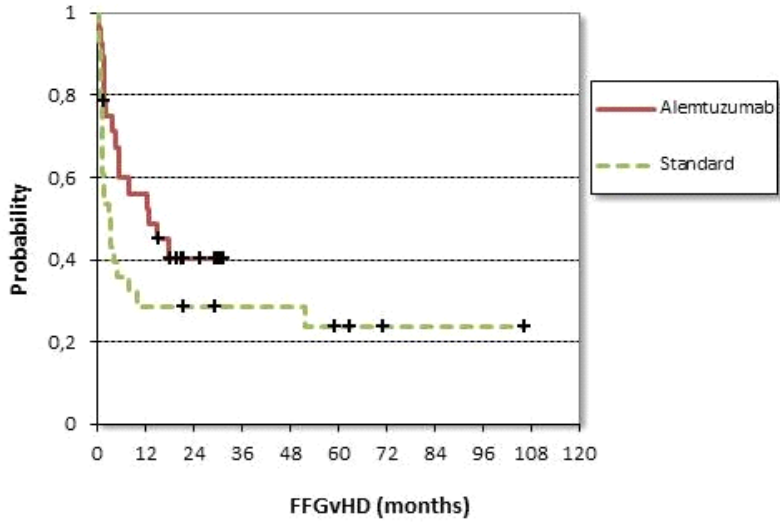
Die Freiheit von einer GvHD bei den unverwandt Transplantierten ergab im Vergleich mit der Gruppe nach Alemtuzumab vergleichbare Zeiten (0,5-31,2 Monate bei einem Mittelwert von 5,2 Monaten zu 4,3 Monaten (0,3-106,5). [siehe Figur 2]

Die folgenden Kaplan-Meier-Kurven in Figur 1 zeigen unsere Ergebnisse der Untersuchungsgruppe Alemtuzumab gegenüber dem Standard (entweder ATG für unverwandte Spender oder keine Antikörpergabe bei verwandten Spendern bezüglich Gesamtüberleben (overall survival in Jahren, p=0.55), Abwesenheit einer GvHD in Monaten (Freedom from GvHD), Ereignis-freies Überleben in Jahren (event-free survival, p=0.67)

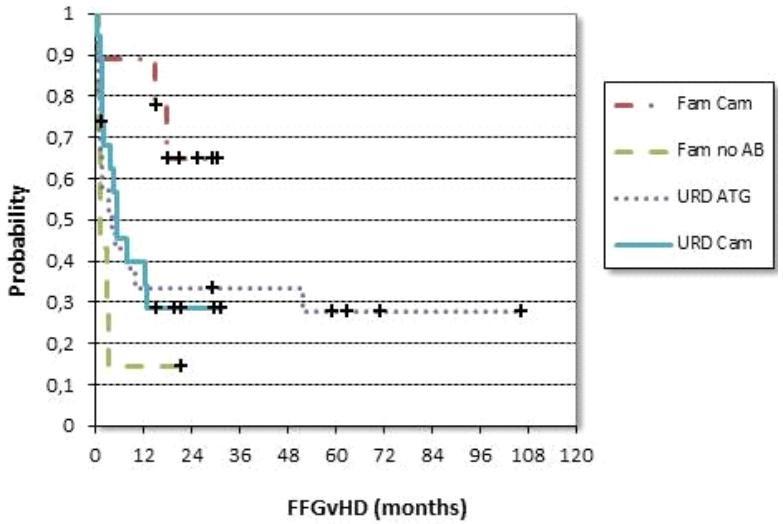
Figur 1:

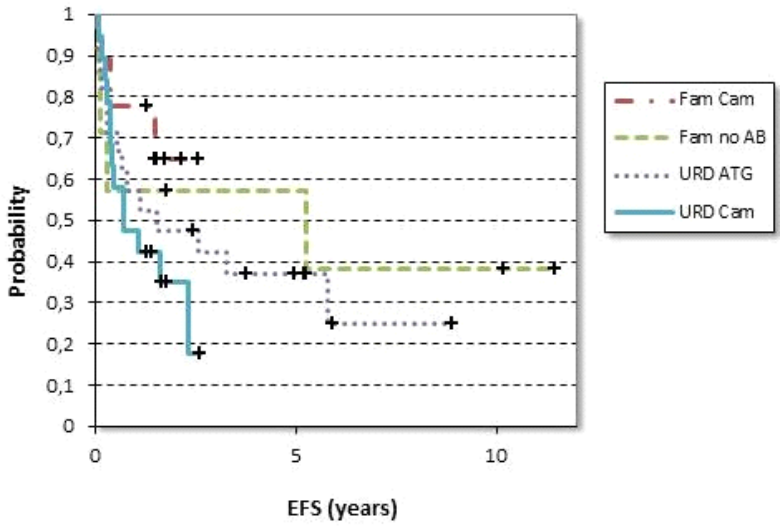

Probability
1
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
0
5
10
EFS (years)
Alemtuzumab
Standard

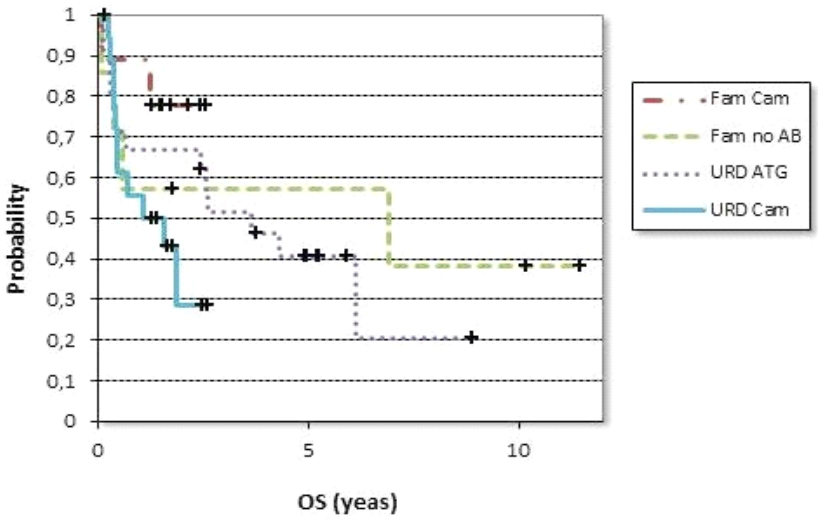

Probability
1
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
0
5
10
OS (years)
Alemtuzumab
Standard


Probability
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
0
12
24
36
48
60
72
84
96
108
120
FFGvHD (months)
Alemtuzumab
Standard

Figur 2 [201]: Subgruppenanalysen zum Transplantationstyp/ Antikörpergabe







Legende für Figur 2: Abwesenheit einer GvHD in Monaten (freedom from GvHD, p=0.06), Ereignisfreies Überleben in Jahren (event-free survival, p=0.34) und Gesamtüberleben in Jahren (overall survival, p=0.34)

Fam Cam related donor with alemtuzumab: Verwandter Familienspender mit Alemtuzumab (Campath)

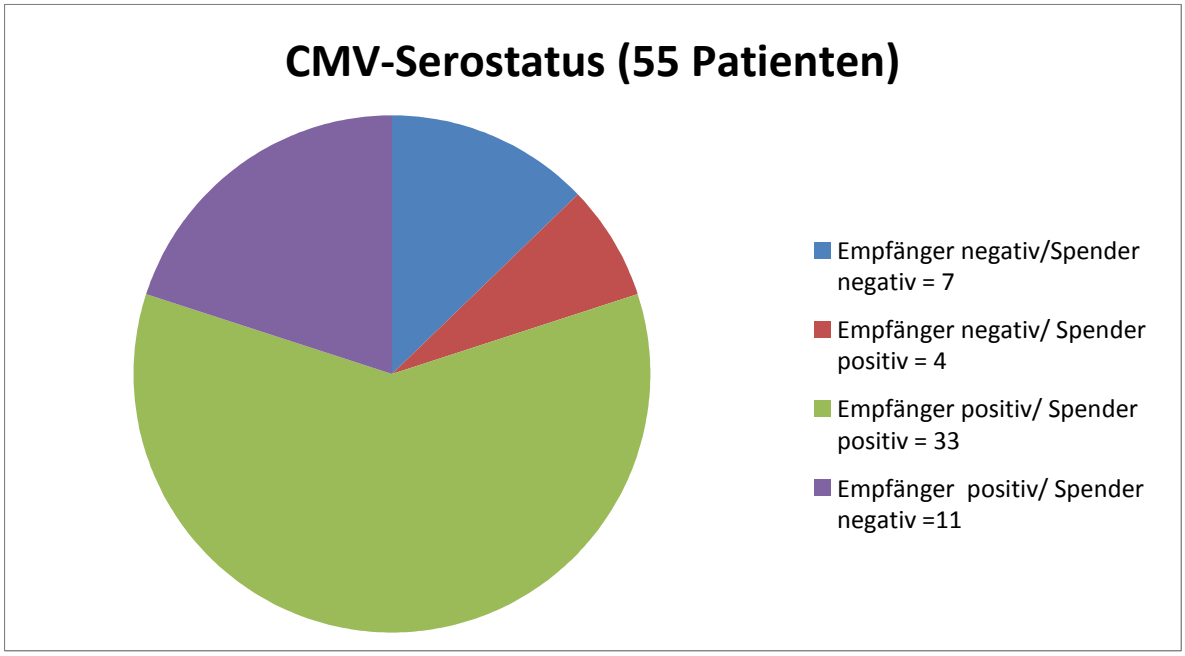
Fam no AB related donor without antibody: Verwandter Familienspender ohne Antikörper

URD ATG: Unverwandter Spender mit ATG

URD Cam unrelated donor with alemtuzumab (Campath): Unverwandter Spender mit Alemtuzumab

3.5 Die Reaktivierung von latenten EBV- und CMV-Infektionen

Alle Patienten wurden wöchentlich auf ihren CMV-Status zum Ausschluss/Erfassung einer möglichen CMV-Reaktivierung mittels PCR-Analyse überprüft. Als positives Ergebnis wurde ein Grenzwert ≥ 1,000 Genome pro Milliliter festgelegt und in zwei Fällen festgestellt. Das Auftreten der CMV-Reaktivierung bis Tag +100 wurde zwischen der Alemtuzumab- und der Kontrollgruppe verglichen. Es ließ sich kein signifikanter Unterschied feststellen (Anzahl der Episoden je Patient nach Alemtuzumab 0,53 im Vergleich zur Kontroll-Gruppe mit 0,32).



Eine Routinekontrolle auf EBV-Reaktivierung erfolgte nicht. Ein Patient erlitt eine EBV-Reaktivierung und verstarb anschließend an einer EBV-assoziierten lymphoproliferativen Erkrankung.

3.6 Erkrankungsfreies Leben und Gesamtüberleben

Die kumulative Inzidenz eines Rückfalls wurde mittels log-rank Test berechnet. Diese betrug 23 % nach einer mittleren Nachbeobachtungszeit von 1.3 Jahren (Mittel 0.1-2.6 Jahre) im Vergleich zur Kontroll-Gruppe mit 39 % nach 1.6 Jahren (Mittel 0.1-11.4 Jahre).

Das mittlere ereignisfreie Überleben betrug im Mittel 1.3 Jahre (0.1-2.6) in der Alemtuzumab-Gruppe und 1.7 Jahre in der Kontroll-Gruppe (0.1-11.4); ein signifikanter Unterschied besteht nicht.

Das korrespondierende mittlere Gesamtüberleben war in beiden Gruppen vergleichbar.

Tabelle 13: Outcome-Subgruppenanalyse für die AK-Gruppe und den Spender-Typ [186]

Parameter*	**Fam cam**	**Fam no AB**	**URD cam**	**URD ATG**	**p Wert** (log-rankTest)
ffGvHD (Monate)	18.2 (0.8-30.6)	1.4 (0.7-21.4)	5.2 (0.5-31.2)	4.3(0.3-106.5)	0.06
EFS (Jahre)	1.5 (0.1-11.4)	1.8 (0.1-11.4)	0.7 (0.1-2.6)	1.5 (0.1-8.9)	0.47
OS (Jahre)	1.5 (0.1-2.6)	1.8 (0.1-11.4)	1.1 (0.2-2.6)	2.6 (0.1-8.9)	0.34

*Fam cam: Verwandte Spender mit Alemtuzumab

Fam no. AB: Verwandte Spender ohne Antikörper

URD ATG: Unverwandte Spender mit ATG

URD Cam: Unverwandte Spender mit Alemtuzumab

3.7 Mortalität

Die Mehrzahl unserer Patienten, die mit Alemtuzumab in der Konditionierung behandelt wurden (15, entsprechend 54 %), sind bei Wohlbefinden und am Leben. In der Kontrollgruppe sind dies 11 Patienten (39 %). 8 Patienten der Alemtuzumab-Gruppe (29 %) und 12 Patienten der ATG-Gruppe (43 %) verstarben. Die absolute nichtrückfallbedingte Sterblichkeit betrug in beiden Gruppen 5 (18 %). Infektionen waren hierfür in beiden Gruppen der vorherrschende Grund, eine GvHD war weniger von Bedeutung.

Durch die erhobenen Daten wurde ein nicht-signifikanter Trend bezüglich einer höheren Relapsrate und Versterben durch die konventionelle Konditionierung in der Kontroll-Gruppe (mit ATG bzw. ohne) im Vergleich zur Alemtuzumab-Gruppe festgestellt. Der verschiedene Beobachtungszeitraum kann hierfür die Ursache sein.

Tabelle 14: Mortalität [186]

Parameter *	**Campath**	**ATG/no AB**	**p Wert**
Tod durch Relaps	n=8 (29 %)	n=12 (43 %)	0.16 (chi²)
NRM	n=5 (18 %) Infektion n=4 GvHD n=1	n=5 (18 %) Infektion n=2 EBV-LPD n=1 GvHD n=1 VOD/MOF n=1	n.a.

*NRM: Nichtrückfallbedingte Mortalität (engl.: non-relapse mortality)

4. Diskussion

Vorbemerkungen

Die antikörpervermittelte in-vivo T-Zell-Depletion , welche Bestandteil der Konditionierung vor allogener Stammzelltransplantation ist, reduziert zum Einen die Anzahl der T-Lymphozyten des Empfängers und zum Anderen auch die Anzahl der T-Lymphozyten im eingesetzten Stammzell- oder Knochenmarktransplantat (210). Gewünschte Effekte dieser in-vivo T-Zell-Depletion sind die Verringerung der Inzidenz und des Schweregrades einer akuten oder chronischen Graft-versus-Host Disease, welche durch Spenderlymphozyten vermittelt wird und einer durch Lymphozyten des Patienten vermittelten Transplantatabstoßung. Als negative Effekte der in-vivo T-Zell-Depletion können erhöhte Raten an CMV-Reaktivierungen, EBV-Lymphoproliferationen, Reaktivierungen anderer Virusinfektionen sowie vermehrte Infektionen mit opportunistischen Infektionen sein.

Nach der erfolgten Transplantation kann das Rezidivrisiko einer malignen Grunderkrankung durch einen beeinträchtigten Graft-versus-Leukemia Effekt steigen (211), (193), (190).

Die zu diesem Zweck eingesetzte Antikörperpräparationen sind polyklonale Antithymozytenglobuline sowie der monoklonale humanisierte anti-CD52 Antikörper Campath-H1, der die Weiterentwicklung eines ursprünglich murinen Antikörpes ist (212), (213), (214), (215). Grundlage dieses speziellen Effektes sind die immunologischen Differenzen zwischen Spender und Empfänger. Durch diese Differenzen kommt es zur Ausbildung der akuten oder chronischen Graft-versus-host Disease (aGvHD bzw. cGvHD), die wesentlich für die Morbidität und Mortalität nach der Transplantation verantwortlich sind (211). Die in-vitro Entfernung der Spender-T-Zellen aus dem Transplantat kann die Inzidenz der GvHD deutlich reduzieren. Dadurch erhöht sich jedoch die Gefahr einer Transplantatabstoßung durch verbliebene T-Lymphozyten des Empfängers. Durch das Fehlen der Effektorzellen vermindert sich die GvL-Reaktion; die maligne Grunderkrankung kann als Rezidiv wieder auftreten (185), (216).

Daher erfolgt standardmäßig innerhalb der Konditionierung die in-vivo T-Zell-Depletion. Dem Patienten werden Anti-T-Zell- Antikörper verabreicht. Zielzellen sind sowohl die T-Lymphozyten des Spenders als auch des Empfängers. Bedeutsam ist daher innerhalb der Transplantationsregime die Ermittlung einer Idealdosis, die einerseits eine Abstoßung durch Wirtszellen und das Risiko einer akuten GvHD

vermindert und andererseits nicht zu einer erhöhten Rezidivinzidenz oder Infektionsrate nach Transplantation führt. Ein Standard ist bisher die Gabe von Antithymozytenglobulin (ATG). Alternativ zu ATG verwenden andere Arbeitsgruppen Alemtuzumab (168), (97). Alemtuzumab wird wegen seiner Monoklonalität gegen ein definiertes Antigen, CD52, welches vorwiegend auf Lymphozyten exprimiert wird, als vorteilhafter angesehen (215). Alemtuzumab steht in humanisierter Form zur Verfügung. Die erhältlichen ATG-Präparationen sind durch die Immunisierung von Kaninchen mit T-Zellpräparationen gewonnene, polyklonale Antiseren (217), (218).

Bei Verwendung von Alemtuzumab anstelle der polyklonalen, nicht humanisierten ATG-Präparate, führt zu einer verringerten Rate an unspezifischen Nebenwirkungen, wie beispielsweise Fieber, Schüttelfrost und Krankheitsgefühl. Darüber hinaus enthält das monoklonale Alemtuzumab keine Antikörper gegen weitere, nicht charakterisierte Antigene, sodass anders als beim ATG keine nicht auf das Zielepitop zurückführbaren immunologischen Wirkungen zu erwarten sind.
Es wurde sehr früh erkannt, dass eine extensive T-Zell-Depletion im Transplantat zwar das Risiko einer akuten und chronischen GvHD deutlich reduzieren kann, aber auch zu erhöhten Risiken für eine Transplantatabstoßung, einem Rezidiv einer malignen Grunderkrankung nach Transplantation und zu einer deutlich verschlechterten Immunkompetenz nach Transplantation führen kann, da sich kein neues Immunsystem aufbauen kann (193), (190), (219).
Eiermann et al konnten für ein ATG-Präparat eine lange Verweil- und Wirkdauer im Empfänger post transplantationem nachweisen (220). Eine Möglichkeit zur Optimierung der in-vivo T-Zell-Depletion ist die Anpassung des Grades der T-Zell-Depletion an die patientenspezifischen Risikofaktoren (130). Grundlegende Publikation für die vorliegende Untersuchung waren die Arbeiten der Freiburger Arbeitsgruppe. Bertz et al zeigten die Machbarkeit einer Dosisdeeskalation von Alemtuzumab (191). Begleitend dazu konnten Gartner et al eine verbesserte NK-Zell-Aktivität nach Transplantation mit der Dosisreduktion von Alemtuzumab korrelieren (221). Spyridonidis et al belegten in pharmakokinetischen Untersuchungen die schnellere Clearance des Antikörpers bei deeskalierter Dosis (199).
Aufgrund der Arbeiten wurde in der Klinik für Innere Medizin C die in-vivo T-Zell-Depletion mit low-dose Alemtuzumab vor allogener Stammzelltransplantation

eingeführt. Die Daten der Patienten wurden in einer matched-pair Analyse mit dem gegenwärtigen Standard verglichen (186).

Einordnung der eigenen Ergebnisse

Die durchgeführte Untersuchung konnte zeigen, dass die Gabe von niedrigdosiertem Alemtuzumab zur in-vivo T-Zell-Depletion im Rahmen der Konditionierung vor allogener Stammzelltransplantation eine geeignete Alternative zum Einsatz von ATG vor unverwandter Transplantation bzw. zur Konditionierung ohne antikörpervermittelte in-vivo T-Zell-Depletion vor allogen-familiärer Stammzelltransplantation darstellt. Im Einzelnen betrifft das die Analysen der folgenden Parameter:

Engraftment (take) der Leukozyten und Thrombozyten

Das Engraftment der Leukozyten wurde als 1.Tag von drei konsekutiven Tagen definiert, an dem die Leukozytenzahl im peripheren Blut mindestens 1/nl betrug. Hierbei wurden keine Unterschiede zwischen der investigativen Gruppe und der Kontrollgruppe beobachtet. Im Median wurde das Leukozyten-Engraftment in beiden Gruppen an Tag +15 nach Stammzelltransplantation beobachtet. Der range des Leukozyten-Engraftments war in der Kontrollgruppe etwas größer als in der Alemtuzumab-Gruppe.

Ähnliche Ergebnisse mit Signifikanz beim Engraftment der Thrombozyten mit früheren Thrombozytenzahlen von 20/nl in der Alemtuzumab-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe wurde zuvor von einer deutsch-britische Arbeitsgruppe berichtetet. Diese Arbeit zu einem früheren Zeitpunkt verabreichte 100 mg Alemtuzumab als Gesamtdosis im Vergleich mit ATG. Zusätzlich fanden sie einen positiven Einfluss auf das Engraftment der Leukozyten (222). Hier könnte es sich um einen Effekt der fünffach höheren Dosis handeln. Bertz et al setzten Alemtuzumab in abgestuften Dosierungen von 40, 20 und 10 mg ein. Einen Einfluss auf das Engraftment konnten die Autoren nicht feststellen (191). Die Gründe für diese Beobachtungen sind aktuell nicht geklärt und sollen in weiteren Untersuchungen evaluiert werden. Es kommen grundsätzlich verschiedene Ursachen in Frage: Denkbar ist zum einen ein direkter supprimierender Effekt des ATG auf die Megakaryopoese. ATG-Präparate sind – anders als Alemtuzumab – keine

humanisierten, monoklonalen Antikörper. Beide eingesetzten ATG-Präparate sind polyklonale Kaninchenseren, die durch die Immunisierung von Kaninchen mit T-Zelllinien gewonnen wurden. Alemtuzumab ist ein monoklonaler, humanisierter Antikörper, der gegen das definierte Epitop CD52 gerichtet ist. Panzytopenien bzw. Thrombopenien sind in den Fachinformationen beider ATG-Präparate beschrieben.

Darüber hinaus müssen eine Reihe weiterer Faktoren, die das Engraftment von Leukozyten und Thrombozyten beeinflussen können, in diesem Zusammenhang diskutiert werden, um darzulegen, dass die guten Daten für die Alemtuzumab-Konditionierung nicht das Resultat eines Bias sein können. Eine intensive, myeloablative Konditionierung (MAC) kann, verglichen mit einer sogenannten dosisreduzierten Konditionierung (RIC), zu einer verlängerten Engraftmentdauer führen. Als ursächlich werden hier u. a. toxische Schäden am Knochenmarkstroma angesehen, durch die die Bedingungen für das Engraftment verschlechtert werden (223). In der vorliegenden Untersuchung war der Anteil myeloablativ konditionierter Patienten in der Alemtuzumab-Gruppe mit 46% nicht-signifikant größer als mit 32% in der Kontrollgruppe. Anhaltspunkte für einen Bias des Konditionierungsprotokolls ergeben sich daher nicht.

Weitere Faktoren, die mit einem verlängerten Engraftment assoziiert sein können, sind HLA- und Blutgruppendisparitäten, eine intensive Transfusionsanamnese sowie Virusinfektionen bzw. –reaktivierungen (211). Anhaltspunkte für einen Bias durch einen dieser Faktoren ergeben sich aus der durchgeführten Analyse nicht. Das Verhältnis verwandter zu unverwandter Transplantation sowie der Grad der HLA-Übereinstimmung zwischen Spender und Patient war in beiden Kollektiven nahezu identisch. Der Anteil AB0-Blutgruppeninkompatibler Spender/Empfänger-Konstellationen war ebenfalls ausgewogen. Latente CMV-Infektionen können das Engraftment verlängern. CMV-Reaktivierungen treten insbesondere dann auf, wenn ein CMV-seropositiver Patient von einem CMV-seronegativen Spender transplantiert wird (129). In diesem Falle werden keine T-Zellen transplantiert, die sich bereits mit dem Cytomegalovirus auseinandergesetzt haben, es fehlt der sogenannte adoptive Immuntransfer, der auch für andere Herpesviren beschrieben ist (224).

Darüber hinaus ist die wichtigste Nebenwirkung von Ganciclovir, einem Standardmedikament zur Behandlung der CMV-Reaktivierung, die Myelosuppression (225). Der Anteil von Patienten mit der Hochrisikokonstellation war in der Kontrollgruppe geringfügig, nicht-signifikant erhöht, sodass hier auch von keiner

Beeinflussung ausgegangen werden kann. Für eine Reihe anderer Virusinfektionen wie Adenovirus, Enterovirus, HHV6 und HHV8 wurde eine Assoziation mit Zytopenien beschrieben. Für diese Erreger ist ein prospektives Monitoring unüblich, und es wurde auch bei den untersuchten Patienten nicht durchgeführt.

Eine Verkürzung der Phase der schweren Thrombozytopenie durch Alemtuzumab wäre aus verschiedenen Gründen von großer klinischer Bedeutung: Eine geringere Transfusionsfrequenz würde sowohl die Gefahr einer Alloimmunisierung des Patienten durch Blutprodukte wie auch die Blutungsgefahr für den Patienten in der Phase der Thrombozytopenie reduzieren (226). Die Reduzierung des Transfusionsbedarfes würde die Belastung der Spender reduzieren und die Transplantationszentren wirtschaftlich entlasten (227), (228).

Ungeklärt ist, ob die Gabe von G-CSF zur Stimulation des Leukozytenengraftments einen Einfluss auf das Engraftment der Megakaryopoese haben kann. In der Alemtuzumab-Gruppe haben 46% der Patienten G-CSF erhalten, in der Kontrollgruppe 100%.

Akute und chronische Graft-versus-Host Erkrankung

Die immunologische Reaktion des Knochenmark- oder Stammzelltransplantates gegen den Wirt, die Graft-versus-Host-Reaktion, kann als klinisch manifeste Graft-versus-Host Erkrankung (GvHD) signifikant zur Morbidität und Mortalität nach Stammzelltransplantation beitragen. Das Risiko für die Entwicklung einer akuten GvHD ist bei genotypischer Identität der HLA-Loci am geringsten, kann aber mit zunehmender HLA-Disparität auf über 80% ansteigen (229). Weitere Faktoren, die zur Entwicklung einer GvHD beitragen können, sind weibliche Multipara als Spenderinnen, die Art des Transplantates (Nabelschnurblut, Knochenmark oder periphere Blutstammzellen) und die Wahl einer intensiven, myeloablativen Konditionierungstherapie (MAC). Die Bedeutung einer Blutgruppendifferenz wird kontrovers diskutiert (226). Die Transplantation mit peripheren Blutstammzellen kann, verglichen mit Knochenmark als Stammzellquelle, zu einer erhöhten Rate an chronischer GvHD führen (223).

Die im Rahmen dieser Untersuchung durchgeführten Analysen ergaben zur Frage der Manifestation einer akuten oder chronischen GvHD keine signifikanten Anhaltspunkte für die Unterlegenheit der Gabe von niedrig-dosiertem Alemtuzumab, verglichen mit dem bisherigen Standard (194). Die Gesamtmanifestationsrate der

akuten GvHD lag mit 36% in der Alemtuzumab-Gruppe unter dem Wert von 50% in der Kontrollgruppe. Die Rate an schwerer akuter GvHD 3°/4° war mit 15% in der Alemtuzumab-Gruppe ebenfalls niedriger als in der Kontrollgruppe (29%). Chronische GvHD trat nach Alemtuzumab-Gabe mit 11% deutlich geringer auf als in der Standardgruppe mit 32%. Dieser Unterschied erreichte eine grenzwertige Signifikanz von 0,05. Ebenso manifestierte sich eine akute oder chronische GvHD nach Alemtuzumab später als im Standardarm (12,6 vs. 3,0 Monate). Die Kaplan-Meier-Plots für den Parameter ‚Freedom from GvHD' deuten an, dass insbesondere Patienten nach familiärer Transplantation von der Gabe des Antikörpers profitieren.
Hinweise für einen Bias durch unterschiedliche Risikoprofile für die Manifestation einer akuten oder chronischen GvHD beider Gruppen ergeben sich nicht: Als Transplantate wurden einheitlich G-CSF-mobilisierte Blutstammzellen eingesetzt. Die Relation unverwandter zu verwandter Transplantation war in beiden Gruppen nahezu gleich. Der HLA-mismatch bei der Transplantation auf phänotypischer Ebene war in der Kontrollgruppe mit 18% leicht höher als in der Alemtuzumab-Gruppe mit 14%, auf molekulargenetischer Ebene betrugen die mismatch-Raten 25% und 39%. Beide Unterschiede waren statistisch nicht signifikant. Für die Geschlechterkonstellation und ABO-Inkompatibilität waren die Unterschiede ebenfalls gering. Der Anteil myeloablativ konditionierter Patienten, einem Verfahren, welches per se aufgrund der höheren Toxizität eine akute GvHD begünstigt, war in der Alemtuzumab-Gruppe mit 46% höher als in der Kontrollgruppe mit 32%.

Virusreaktivierungen und opportunistische Infektionen

Eine Reihe von Arbeitsgruppen beschrieb eine höhere Gefahr für Reaktivierungen bestehender, latenter Virusinfektionen nach Alemtuzumab-haltiger Konditionierung. Die meisten Veröffentlichungen liegen für das Cytomegalovirus vor, aber auch Adenivirus- und RSV-Infektionen sowie EBV-Infektionen wurden untersucht (230), (231), (232), (203).
Im Rahmen der Stammzelltransplantation wird an der Universitätsmedizin Greifswald ein regelmäßiges Monitoring für CMV-Virämien durchgeführt und ggf. eine antivirale Behandlung eingeleitet. Insgesamt fand sich im Rahmen der durchgeführten Untersuchungen eine leicht erhöhte Anzahl an Episoden von CMV-Reaktivierungen nach Alemtuzumab-Behandlung, verglichen mit dem Standardarm. Diese Differenz

erreichte keine Signifikanz. Für andere Viren wurde kein systematisches Screening durchgeführt.

Die Prophylaxe und Behandlung opportunistischer Infektionen erfolgt bei Transplantationspatienten nach international akzeptiertem Standard (234), (235). Im Alemtuzumab-Arm verstarben 4 Patienten an Infektionen, während im Standardarm 2 Patienten an Infektionen verstarben. Diese Beobachtung lässt keine Schlüsse auf die Unterlegenheit eines Regimes zu, gleichwohl ist der Forderung eines strikten Infektionsmanagements, auch beim Einsatz von Alemtuzumab, wie von Poiré und van Besien gefordert, uneingeschränkt zuzustimmen (219).

Rezidivinzidenz

Eine erhöhte Rezidivinzidenz wurde nach in-vivo T-Zell-Depletion mit niedrig-dosiertem Alemtuzumab im Vergleich zum Kontrollarm nicht beobachtet. Nach Alemtuzumab entwickelten n=9 Patienten (32%) ein Rezidiv, verglichen mit n=14 (50%) im Standardarm. Die aus früheren Studien mit höher dosierten Alemtuzumab-Gaben abgeleiteten Bedenken, dass Alemtuzumab die Inzidenz von Rezidiven begünstigt, konnten in der durchgeführten Untersuchung nicht bestätigt werden (193), (190), (236). Die erhobenen Daten stützen die Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen, dass die Rezidivbegünstigung durch Alemtuzumab ein dosisabhängiger Effekt ist, und dass bei niedrig-dosierter Gabe nicht mit einer erhöhten Rückfallrate der Grunderkrankung gerechnet werden muss (222), (191).

Gesamtüberleben und Todesfälle

Das ereignisfreie Überleben (1,3 vs. 1,7 Monate) und das Gesamtüberleben (1,3 vs. 2,6 Monate) waren in der Kontrollgruppe leicht besser als nach Alemtuzumab-Behandlung. Allerdings ist der Beobachtungszeitraum aufgrund der sequenziellen Änderung der in-vivo T-Zell-Depletion vom ATG/noAntibody zu Alemtuzumab sehr unterschiedlich. Darüber hinaus laufen die betreffenden Kaplan-Meier-Kurven für beide Gesamtgruppen zunächst über einen Zeitraum von mehr als einem Jahr parallel und divergieren erst bei geringer werdenden Fallzahlen. Bei der Betrachtung der Kaplan-Meyer-Kurven der nach Spendertyp aufgeschlüsselten Subanalyse erreichen die Unterschiede mit 0,06 nahezu Signifikanz. Insbesondere von familiären

Spendern transplantierte Patienten scheinen von der in-vivo T-Zell-Depletion mit Alemtuzumab zu profitieren.
Die absolut höhere Todesfallrate im Kontrollarm kann nicht auf die non-relapse Mortalität zurückgeführt werden, sondern ist Rezidiven der Grunderkrankung geschuldet.

5. Zusammenfassung

In der Zusammenschau sprechen die dargestellten Ergebnisse dafür, dass die Verwendung von niedrig dosiertem Alemtuzumab eine mögliche Alternative zum Einsatz von ATG vor unverwandter Transplantation bzw. zur antikörperfreien Konditionierung vor familiärer Transplantation ist. Die vorliegende retrospektive Analyse wurde monozentrisch über einen längeren Zeitraum durchgeführt. Der Standard der Supportivbehandlung hat sich in dem Intervall nicht wesentlich geändert, beispielsweise standen alle modernen Antimykotika und Virustatika zur Verfügung. Gleichwohl kann eine retrospektive matched-pair Analyse keine prospektiv-randomisierte Phase-III Studien ersetzen, die zur weiteren Absicherung durchgeführt werden sollte.

Literaturverzeichnis

1. Nash R: Hematopoietic stem cell transplantation. In: Wintrobe`s Clinical Hematology Eleventh Edition, Volume 1, 883
2. Kröger N, Zander AR: Allogene Stammzelltherapie- Grundlagen, Indikationen und Perspektiven 3. Auflage -Bremen: UNI-MED, 2011. S.159
3. Little CC, Tyzzer EE: Further expirimental studies on the inheritance of susceptibility to a transpantable tumor, carcinoma (JWA) of the Japanese waltzing mouse.The Journal of Medical Research, 1916. **33**(3): p. 393-453
4. Zander AR. Entwicklung der Stammzell- bzw. Knochenmarktransplantation. Kröger N, Zander AR. Allogene Stammzelltherapie - Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage - Bremen: UNI-MED, 2011. S.12
5. Goodman JW, Hodgson GS: Evidence for stem cells in the peripheral blood of mice. Blood,1962. **19**(6): p. 702-714
6. Zander AR: Entwicklung der Stammzell- bzw. Knochenmarktransplantation. In: Kröger N, Zander AR. Allogene Stammzelltherapie - Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage - Bremen: UNI-MED, 2011. S.12
7. Jacobson LO, Simmons EL, Marks EK, Eldredge JH: Recovery from radiation injury. Science 1951; **113**: p. 510-511
8. Lorenz E, Uphoff D, Reid TR, Shelton E: Modifikation of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. J Natl Cancer Inst 1951;**15**: p. 1023-1029
9. Zander AR: Entwicklung der Stammzell- bzw. Knochenmarktransplantation. In: Kröger N, Zander AR. Allogene Stammzelltherapie - Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage - Bremen: UNI-MED, 2011. S.13
10. Bortin MM: A compendium of reported human bone marrow transplants. Transplantation 1970; **9**: p. 571-587
11. Zander AR: Entwicklung der Stammzell- bzw. Knochenmarktransplantation. In: Kröger N:, Zander AR. Allogene Stammzelltherapie - Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage - Bremen: UNI-MED, 2011. S.13
12. Lochte HL Jr: Levy AS, Guenther DM, Thomas ED, Ferrebee JW. Prevention of delayed foreign marrow reaction in lethally irradiated mice by early administration of methotrexate. Nature 1962; **196**: p. 1110–1111

13. Storb R, Rudolph RH, Thomas ED: Marrow grafts between canine siblings matched by serotyping and mixed leucocyte culture. J Clin Invest 1971; **50**: p. 1272–1275
14. Gatti RA, Meuwissen HJ, Allen HD, Hong R, Good RA: Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency. Lancet 1968; **2**: p. 1366-1369
15. Thomas ED, Buckner CD, Storb R et al: Aplastic anaemia treated by marrow transplantation. Lancet 1972; **1**: p. 284-289
16. Butcher BW, Collins jr. RH: The graft-versus-lymphoma effect: clinical review and future opportunities. Bone Marrow Transplantation (2005) ; **36**: p. 1-17
17. Kolb HJ, Mittermuller J, Clemm C et al: Donor leukocyte infusions for treatment of recurrent chronic myelogenous leukemia in marrow transplant patients.Blood, 1990. **76**: p. 2462-2465
18. Horowitz MM, Gale RP, Sonder PM et al: Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. Blood, 1990. **75**: p. 555-562
19. Bondurant MC, Koury MJ.: Origin and Development of Blood Cells. In: Wintrobe`s Clinical Hematology. Eleventh Edition, Chapter 6: p. 170
20. Haas R, Bruns I: Charakteristika von hämatopoietischen Stammzellen. In: Haas R, Kobbe G.(Hrsg.) : Blutstammzelltransplantation- Bilanz des aktuellen Wissens. Düsseldorf university press, Düsseldorf 2012, S.11
21. Nakauchi H: Hematopoietic stem cells. Are they CD34-positive or CD34-negative ? Nature Medicine, 1998. **4**(4): p. 1009-110
22. Nash R: Hematopoietic stem cell transplantation. In: Wintrobe`s Clinical Hematology Eleventh Edition, Volume 1, 885
23. Morrison SJ, Kimble J: Asymmetric and symmetric stem-cell- division in development and cancer. Nature, 2006. **441**: p. 1068-74
24. Mauch P, Rosenblatt M, Hellman S. Permanent loss in stemcell self reneval capacity following stress tot he marrow. Blood, 1988,.**72**: p. 1193-1196
25. Kröger N, Zander AR: Allogene Stammzelltherapie-Grundlagen, Indikationen und Perspektiven 3. Auflage-Bremen: UNI-MED, 2011. S.25
26. Schofield R: The relationship between the spleen colony-forming cell and the haematopoietic stem cell. Blood Cells, 1978. **4**: p. 7-25
27. Papayannopoulou T, Scadden D: Stem-cell ecology and stem cells in motion.

Blood,2008. **111**(8): p. 3923 – 3930

28. Schrezenmeier H, Passweg JR, Marsh JCW, Bacigalupo A, Bredeson CN, Bullorsky E, Camitta BM, Champlin RE, Gale RP, Fuhrer M, Klein JP, Locasciulli, Oneto R, Schattenberg AVMB, Socie G, Eapen M. Worse outcome and more chronic GVHD with peripheral blood progenitor cells patients with severe acquired aplastic anemia. Blood, 2007. **110**(4): p. 1397- 1400
29. Neumann T, Krüger WH, Busemann C, Kiefer T, Dölken G. Successful mobilization of PBSCs in a healthy volunteer donor by addition of perixaforafter failure of mobilization with G-CSF alone. Bone Marrow Transplantation , 2011. **46**: p. 762-763
30. Chen J, Larochelle A, Fricker S, Bridger G, Dunbar CE, Abkowitz JL: Mobilization as a preparative regimen for hematopoietic stem cell transplantation. Blood, 2006. **107**: p. 3764-3771
31. Engelhardt M, Thierry V, Spoo A: Hämatopoetische Wachstumsfaktoren-DGHO. Onkopedia; http://www.dgho- onkopedia.de/leitlinien/S. 9
32. Hosaba S, Waller EK: New molecule for mobilizing marrow stem cells. Blood, 2014. **123**: p. 310-311
33. Gluckman E, Broxmeyer HE, Auerbach AD et al: Hematopoietic reconstitution in patients with Fanconi anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. N Engl J Med, 1989. **321**: p. 1174-1178
34. Ballen KK, Spitzer TR: The great debate: haploidentical or cord blood transplant. Bone marrow transplantation , 2011. **46**: p. 323-329
35. Chen YB, Spitzer TR: Current status of reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation using alternative donors. Leukemia, 2008. **22**: p. 31-41.
36. Worldwide Network for Blood and Marrow Transplantation January 30, 2013.
37. Zubair AC, Zahried D, Daley H et al.: Engraftment of autologous and allogeneic marrow HPCs after myeloablative therapy. Transfusion, 2004. **44**: p. 253-361
38. Hale G, Jacobs P, Wood L, Fibbe WE, Barge R, Novitzky N, Toit du C, Abrahams L, Thomas V, Bunjes D, Duncker C, Wiesneth M, Selleslag D, Hidajat M, Starobinski M, Bird P, Waldman H: CD 52 antibodies for prevention of graft-versus-host disease and graft rejection following transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells. Bone marrow transplantation, 2000. **26**: p. 69-76

39. Goodell MA, Rosenzweig M, Kim H et al: Dye efflux studies suggest that hematopoietic stem cells expressing low or undetectable levels of CD 34 antigen exist in multiple species. Nat Mat, 1997. **3**: p. 1337
40. Malard F, Fürst S, Loirat M, Chevallier P, El-Cheikh J, Guillaume T,Delaunay J, Le Gouill S, Moreau P, Blaise D, Mohty M: Effect of graft source on mismatched unrelated donor hemopoietic stem celltransplantation after reduced intensity conditioning. Leukemia, 2013. **27**: p. 2113-2117
41. Petersdorf EW: WMDA WHITE PAPER. The World Marrow Donor Association: 20 years of international collaboration for the support of unrelated donor and cord blood hematopoietic cell transplantation. Bone Marrow transplantation, 2010. **45**(5): p. 807-810
42. Financial/Activities Report 2013. www.wmda.info
43. Worldwide Network for Blood and Marrow Transplantation (WBMT, Bern)
44. Zentrales Knochenmarkspenderegister mit Stand vom 14.04.2013
45. Dempke W, Schmoll H.-J: HLA-System. In: Schmoll, Höffken, Possinger: Kompendium Internistische Onkologie. Springer Medizin Verlag Heidelberg, 4. Auflage. Kapitel 26. S.1294
46. Scheffold, Berdel WE, Kienast. In: Hiddemann, Huber, Bartram. Die Onkologie. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. Band 1. 2003: S. 549
47. Stevanovic S, van Bergen CAM, van Luxemburg-Heijs SAP, van der Zouwen B, Jordanova ES, Kruisselbrink AB, van de Meent, Harskamp JC, Claas FHJ, Marijt EWA, Zwaginga JJ, Halkes CJM, Jedema I, Griffioen M, Falkenburg JHF: HLA class II upregulation during viral infection leads to HLA-DP-directed graft-versus-host disease after CD4+ donor lymphocyte infusion. Blood, 2013. **122**(11): p. 1963-1973
48. Petersdorf EW: The major histocompatibility complex: a model for understanding graft-versus-host disease. Blood, 2013. **122**(11): p. 1863-1872
49. Shaw BE, Apperley JF, Russell NH, Craddock C, Liakopoulou E, Potter MN : Unrelated donor peripheral blood stem cell transplants incorporating pre-transplant in-vivo alemtuzumab are not associated with any increased risk of significant acute or chronic graft-versus-host disease. Br J Haematol, 2011. **153**(2): p. 244-252

50. Hirv, K: Die HLA-Typisierung (Überblick) : Internetauftritt Dr. Klein, Dr. Rost und Kollegen, Zentrum für Humangenetik und Laboratoriumsmedizin in Martinsried.
51. Shono Y, Ueha S, Wang Y, Abe J, Kurachi M, Matsuno Y, Sugiyama T,Nagasawa T, Imamura M, Matsushima K. Bone marrow graft-versus-host disease: early destruction of hematopoietic niche after MHC-mismatched hematopoietic stem cell transplantation. Blood, 2010. **15**: p. 5401-5411
52. Reisner Y, Hagin D, Martinelli M: Haploidentical hematopoietic transplantation: current status and future perspectives. Blood , 2011. **118**(23): p. 6006-6017
53. Symons HJ, Fuchs EJ: Hematopoietic SCT from partially HLA-mismatched (HLA-haploidentical) related donors. Bone Marrow Transplantation, 2008. **42**: p. 365-377
54. Fuchs EJ, Huang X, Miller JS: HLA-Haploidentical Stem Cell Transplantation for Hematologic Malignancies. Biol Blood Marrow Transplant, 2010. **16**: p. 57-63
55. Kröger N. Alternative Spender. In: Kröger N, Zander AR (Hrsg.). Allogene Stammzelltherapie - Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage-Bremen: UNI-MED, 2011. S.86
56. Nash R: Hematopoietic stem cell transplantation. Wintrobe`s Clinical Hematology Lippincott Williams & Wilkins Eleventh Edition, Volume 1: p. 884
57. Ehninger G: Hämatopoetische Stammzelltransplantation. Dtsch Arztebl, 2014. **111**(33-34): A 1408-10
58. Ustun C, Lazarus HM, Weisdorf D: To transplant or not: a dilemma for treatment of elderly AML patients in the twenty-first century. Bone Marrow Transplantation, 2013. **48**: p. 1497-1505
59. Saber W, Opie S, Rizzo JD, Zhang MJ, Horowitz MH, Schriber J: Outcomes after matched unrelated donor versus identical sibling hematopoietic cell transplantation in adults with acute myelogenous leukemia. Blood, 2012. **119**; p. 3908-3916
60. Koreth J, Schlenk R, Kopecky KJ, Honda S, Sierra J, Djulbegovic BJ, Wadleigh M, DeAngelo DJ, Stone RM, Sakamaki H, Appelbaum FR, Döhner H, Antin JH, Soiffer RJ, Cutler C: Allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission. JAMA, 2009, **301**: p. 2349-2360

61. Schlenk RF. Allogene Blutstammzelltransplantation zur Behandlung von Patienten mit akuter myeloischer Leukämie. In Haas R, Kobbe G: Blutstammzelltransplantation - Bilanz des aktuellen Wissens. düsseldorf university press 2012. S.96
62. Possinger K, Regierer AC: Facharzt Hämatologie Onkologie, Urban und Fischer München. 2. Auflage; 183: S.332
63. Dreger P, Döhner H, Ritgen M, Böttcher S, Busch R, Dietrich S, Bunjes D, Cohen S, Schubert J, Hegenbart U, Beelen D, Zeis M, Stadler M, Hasenkamp J, Uharek L, Scheid C, Humpe A, Zenz T, Winkler D, Hallek M, Kneba M, Schmitz N, Stigenbauer S: Allogeneic stem cell transplantation provides durable disease control in poor-risk chronic lymphocytic leukemia: long.term clinical and MRD results of the German CLL Study Group CLL3 X trial. Blood, 2010. **116**: p. 2438-2447
64. Blau IW, Schmidt-Hieber M, Basara N, Hopfenmüller W, Bischoff M, Günzelmann S, Kirsten D, Schmetzer B, Roemer E, Kiehl MG, Thiel E, Fauser AA: Long-term follow-up of peripheral blood stem cell transplantation from mismatched related and unrelated donors. Clin Transplant, 2007. **21**: p. 110-116
65. Gyger M, Stuart RK, Perreault C: Immunobiology of allogeneic peripheral blood mononuclear cells mobilized with granulocyte-colony stimulating factor. Bone Marrow Transplantation, 2000. **26**: p. 1-16
66. Mohty M, Ho AD: In and out of the niche: perspectives in mobilization of hematopoietic stem cells. Experimental Hematology, 2011. **39**: p. 723-729
67. Mielcarek M, Storer B, Martin PJ, Forman SJ, Negrin RS, Flowers ME, Inamoto Y, Chauncey TR, Storb R, Appelbaum FR, Bensinger W: Long-term outcomes after transplantation of HLA-identical related G-CSF-mobilized peripheral blood mononuclear cells versus bone marrow. Blood, 2012. **119**: p. 2675-2678
68. Bensinger W: Allogeneic transplantation: peripheral blood vs. bone marrow. Curr Opin Oncol, 2012. **24**: p. 191-196
69. Schlenk RF: Allogene Blutstammzelltransplantation zur Behandlung von Patienten mit akuter myeloischer Leukämie. In: Blutstammzelltransplantation. Bilanz des aktuellen Wissens. düsseldorf university press, Düsseldorf 2012. S.97

70. Nash R: Hematopoietic stem cell transplantation. In: Wintrobe`s Clinical Hematology Lippincott & Wilkins Eleventh Edition, Volume 1: p. 884
71. Kollman C, Howe CWS, Anasetti C, Antin M, Davies SM, Filipovich AH, Hegland J, Kamani N, Kernan N, King R, Ratanatharathorn V, Weisdorf D, Confer D: Donor characteristics as risk factors in recipients after transplantation of bone marrow from unrelated donors: the effect of donor age. Blood, 2001. **98**: p. 2043-2051
72. Galonska L, Haas R, Kobbe G. Allogene Stamzelltransplantation zur Behandlung der chronischen myeloischen Leukämie: Blutstammzelltransplantation - Bilanz des aktuellen Wissens. düsseldorf university press 2012. S.132
73. Kröger N. Indikationen zur allogenen hämatopoetischen Stammzelltransplantation. In: Kröger N, Zander AR. Allogene Stammzelltherapie-Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage-Bremen: UNI-MED 2011. S.48-51
74. Haas R, Kobbe G.: Blutstammzelltransplantation - Bilanz des aktuellen Wissens. düsseldorf university press 2012. S.158-161
75. a.a.O.: S.144-146
76. Fuchs R, Staib P, Brümmendorf T.: Manual Hämatologie. Nora-Verlag Stollberg 2011. 21. Auflage, S. 259
77. Elliot MA, Tefferi A, Hogan JW, Letendre L, Gastineau DA, Ansell SM, Dispenzieri A, Gerzt MA, Hayman SR, Inwards DJ, Lacy MQ, Micallef IN,Porrata LF, Litzow MR: Allogeneic stem cell transplantation and donor lymphocyte infusions for chronic myelomonocytic leukemia. Bone Marrow transplantation, 2006. **37**: p. 1003 -1008
78. Scheffold, Berdel WE, Kienast. In: Hiddemann, Huber, Bartram. Die Onkologie Springer Verlag Berlin Heidelberg New York. 2003. Band 1: S. 538
79. Alousi AM, Le-Rademacher J, Saliba RM, Appelbaum FR, Artzt A, Benjamin J, Devine SM, Kann F, Laughlin MJ, Lazarus HM, Liesveld J, Perales M-A, Maziarz R, Sabloff, Waller EK, Eapen M, Champlin RE: Who is the better donor for older hematopoietic transplant recipients: an older-aged sibling or a young, matched unrelated volunteer? Blood, 2013. **121**(13): p. 2567-2573
80. Bokhari SW, Watson L, Nagra S, Cook M, Byrne JL, Craddock C, Russell: 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 hemopoeitic cell transplantation. Bone marrow Transplantation, 2012. **47**: p. 528-534

81. Bochtler W, Maiers M, Bakker JNA, Oudshoorn M, Marsh SGE, Baier D, Hurley CK, Müller CR: World Marrow Donor Association framework for the implementation of HLA matching programs in hematopoietic stem cell donor registries and cord blood banks. Bone marrow transplantation, 2011. **46**: p. 338-343
82. Schmoll, Höffken, Possinger: Kompendium Internistische Onkologie, Springer Medizin Verlag Heidelberg. 4. Auflage: S. 537-540
83. Possinger K, Regierer AC: Facharzt Hämatologie Onkologie, Urban und Fischer München 2. Auflage: S. 183-192
84. Chen BJ, Cui X, Sempowski GD, Domen J, Chao NJ : Hematopoietic stem cell dose correlates with the speed of immune reconstitution after stem cell transplantation. Blood, 2004. **103**: p. 4344-4352
85. Hölig K, Kramer M, Kroschinsky, Bornhäuser M, Mengling T, Schmidt AH, Rutt C, Ehninger G: Safety and efficacy of hematopoietic stem cell collection from mobilized peripheral blood in unrelated volunteers: 12 years of single-center experience in 3928 donors. Blood, 2009. **114**: p. 3757-3763
86. Kröger N. Konditionierung. In: Kröger N, Zander AR.: Allogene Stammzelltherapie- Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage - Bremen: UNI- MED, 2011. S.89
87. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, Giralt S, Lazarus H, Ho V, Apperley J, Slavin S, Pasquini M, Sandmaier B, Barrett J, Blaise D, Lowski R, Horowitz M: Defining the Intensity of Conditioning Regimes: Working Definitions. Biol Blood Marrow Transplant, 2009. **15**: p. 1628-1633
88. Slavin S, Nagler A, Naparstek E, Kopelushnik, Aker M, Cividalli G, Varadi G, Kirschbaum M, Ackerstein A, Samuel S, Amar A, Brautbar C, Ben-Tal O, Eldor A, Or R: 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, 1998. **91**: p. 756-733
89. Schwerdtfeger R: Stammzelltransplantation mit reduzierter Konditionierung (sog. ,,Minitransplantation“). DLH-Info-28 Dezember 2005

90. Weiden PL, Flornoy N, Thomas ED: et al. Antleukemic effect of graft versus-host disease in human recipents of allogeneic-marrow grafts. N Engl J Med, 1979. **300**: p. 1068-1073

91. Kröger N. Konditionierung. In: Kröger N, Zander AR: Allogene Stammzelltherapie-Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage- Bremen: UNI-MED, 2011. S.89-93

92. Finke J: Allogene Transplantation: Erweiterung des therapeutischen Spektrums durch dosisreduzierte Konditionierung. In: Lübbert M. MDS und akute myeloische Leukämie: Ein biologisches und therapeutisches Kompendium. 1. Auflage- Bremen: UNI-MED, 2007, S.142-144

93. Kottaridis PD, Milligan DW, Chopra R, Chakraverty RK, Chakrabarti S, Robinson,Peggs K, Verfuerth S, Pettengell R, Marsch JCW, Schey S, Mahendra P, Morgan GJ, Hale G, Waldmann H, Elvira de MCR, Williams CD, Devereux S, Linch DC, Goldstone AH, Mackinnon A: In vivo CAMPATH-1H prevents graft-versus-host disease following nonmyeloablative stem cell transplantation. Blood, 2000. **96**: p. 2419-2425

94. Späth C: Allogene Stammzelltransplantation bei älteren Patienten. Dissertation Universität Greifswald. 2013

95. Adkins DR, Di Persio J: Total body irradiation before an allogeneic stem cell transplantation: is there a magic dose? Current Opinion in Hematol, 2008. **5**: p. 550-560

96. Hill-Kaiser CE, Plastaras JP, Tochner Z, Glatstein E: TBI during BM and SCT: review of the past, discussion of the present and consideration of futuredirections. Bone Marrow Transplantation, 2011. **46**: p. 475-484

97. Chakraverty R, Orti G, Roughton M, Shen J, Fielding A, Kottaridis P, Milligan D, Collin M, Crawley C, Johnson P, Clark A, Parker A, Bloor A, Pettengell R, Snowden J, Pettitt A, Clark R, Hale G, Peggs K, Thomson K, Morris E, Mackinnon S: Impact of in vivo alemtuzumab dose before reduced intensity conditioning and HLA-identical sibling stem cell transplantation: pharmacokinetics, GvHD and immune reconstitution. Blood 2010, October 21; **116**(16): p. 3080-88

98. Delgado J, Pillai S, Benjamin R, Caballero D, Martino R, Nathwani A, Lovell R, Thomson K, Perez-Simon JA, Sureda A, Kottaridis P, Vasquez L, Peggs K, Sierra J, Milligan D, Mackinnon S: The effect of in vivo T cell depletion with

alemtuzumab on reduced-intensity allogeneic hematopoietic cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia. Biol Blood Marrow Transplant, 2008, **14**: p. 1288-1297

99. Bacigalupo A: (2005) Antilymphocyte/thymocyte globulin for graft versus host disease prophylaxis: efficacy and side effects. Bone Marrow Transplant, 2005. **35**(3): p. 225-231

100. Tricot G, Jagannath S, Vesole D, Nelson J, Tindle S, Miller L, Cheson B, Crowley J, Barlogie B: Peripheral blood stem cell transplants for multiple myeloma: identification of favourable variables for rapid engraftment in 225 patients. Blood, 1995. **85**: p. 588-596

101. Kröger N, Zander AR.: Allogene Stammzelltherapie-Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage - Bremen: UNI-MED, 2011. S.29

102. Krüger WH. Infektionen nach allogener Stammzelltransplantation. In: Kröger N, Zander AR. Allogene Stammzelltherapie-Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage-Bremen: UNI-MED, 2011. S.119-122

103. Olsson R, Remberger M, Schaffer M, Berggren DM, Svahn B-M, Mattsson J, Ringen O: Graft failure in the modern era of allogeneic hematopoietic SCT. Bone Marrow Transplantation, 2013. **48**: p. 537-543

104. Davies SM, Kollman C, Anasetti C, Antin JH, Gajewski J, Casper JT, Nademanee A, Noreen H, King R, Confer D, Kernan NA: Engraftment and survival after unrelated-donor bone marrow transplantation: A report from the National Marrow Donor Program. Blood, 2000. **96**: p. 4096-4102

105. Pidala J, Kurland B, Chai X, Majhail N, Weisdorf DJ, Pavletic S, Cutler C, Jacobsohn D, Palmer J, Arai S, Jagasia M, Lee ST. Patient-report 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, 2011. **117**: p. 4651-4657

106. Savani BN, Griffith ML, Jagasia S, Lee SJ: How I treat late effects in adults after allogeneic stem cell transplantation. Blood 2011 117: 3002-3009

107. Treister N, Duncan C, Cutler C, Lehmann L: How we treat oral chronic graft-versus-host disease. Blood, 2012. **120**: p. 3407-3418

108. Ringden O, Hassan Z, Karlsson H, Olsson R, Omazic B, Mattsson J, Remberger M: Granulocyte colony-stimulating factor induced acute and chronic graft-versus-host disease. Transplantation 2010; **90**(9): 1022-1029

109. GRANOCYTE 13 Millionen IE/ml. CHUGAI Pharma. Fachinformation, Stand Mai 2009
110. Michl M: Basics Hämatologie, Urban & Fischer München Jena 2005: 3
111. Kondakci M. In: Haas R, Kobbe G (Hrsg.): Supportivtherapie und infektiologische Komplikationen. In: Blutstammzelltransplantation. düsseldorf university press, Düsseldorf 2012. S.48
112. Negrin RS, Chao NJ, Connor R: Hematopoietic support after hematopoieticcell transplantation.UptoDateFebruar 4,2011.http://uptodate.com/contents/hematopoietic-support-after-hematpoietic cell-transplantation. p. 5
113. Ringden O, Labopin M, Gorin NC, Le Blanc K, Rocha V, Gluckman E,Reiffers J, Arcese W, Vossen JM, Jouet JP, Cordonnier C, Frassoni F:Treatment With Granulocyte Colony-Stimulating Factor After Allogeneic Bone Marrow Transplantation for Acute Leukemia Increases the Risk of Graft-Versus-Host Disease and Death: A Study From the Acute Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Journal of Clinical Oncology, 2004. **22**(3): p. 416–423
114. Khoury HJ, Loberiza Jr, Ringden O, Barrett AJ, Bolwell BJ, Cahn JY, Champlin RE, Gale RP, Hale GA, Urbano-Ispizua A, Martino R, McCarthy PL, Tiberghien P, Verdonck LF, Horowitz MM: Impact of posttransplantation G-SCF on outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Blood, 2006. **107**(4): p. 1712-1716
115. Kondakci M. In: Haas R, Kobbe G (Hrsg.): Supportivtherapie und infektiologische Komplikationen. In: Blutstammzelltransplantation Bilanz des aktuellen Wissens. düsseldorf university press , Düsseldorf 2012. S. 49
116. Ehlers S, Herbst C, Zimmermann M, Scharn N, Germershausen M, von Neuhoff Net al: Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) Treatment of childhood Acute Myeloid Leukemias That Overexpress the Differentiation-Defective G-CSF Receptor Isoform IV Is Associated with a higher Incidence of Relapse, Journal of Clinical Oncology, 2010. **28**(15): p. 2591- 2597
117. Kondakci M: Supportivtherapie und infektiologische Komplikationen. In: Haas R, Kobbe G. Blutstammzelltransplantation - Bilanz des aktuellen Wissens. düsseldorf university press, Düsseldorf 2012. S.48
118. Kondackci. a.a.O. S. 65

119. Krüger W: Infektionen nach allogener Stammzelltransplantation. In: Kröger N, Zander AR (Hrsg.).: Allogene Stammzelltherapie-Grundlagen,Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage-Bremen: UNI-MED, 2011. S.118
120. Kröger N. Alternative Spender. In: Kröger N, Zander AR (Hrsg.): Allogene Stammzelltherapie-Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage-Bremen: UNI-MED, 2011. S.85
121. Ruutu T, Gratwohl A, de Witte T, Afanasyev B, Apperley J, Bacigalupo A,Dazzi F, Dreger P, Duarte R, Finke J, Garderet L, Greinix H, Holler E, Kröger N, Lawitschka A, Mohty M, Nagler A, Passweg J, Ringden O, Socie G, Sierra J, Sureda A, Wiktor-Jedrzejczak W, Madrigal A, Niederwieser D: Prophylaxis and treatment of GvHD: EBMT-ELN working group recommendations for a standard practice. Bone Marrow Transplantation, 2013. **49**(2): p. 168-173
122. Shlomchik W, Couzens M, Tang CB, McNiff, Robert ME, Liu J, Shlomchik MJ, Emerson S (1999): Prevention of graft-versus-host disease by inactivation of host antigen-presenting cells. Science, 1999. **285**(5426): p. 412-415
123. Ayuk F: Die Konditionierung. In: Kröger N, Zander AR. Allogene Stammzelltherapie-Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage-Bremen: UNI-MED, 2011. S. 90
124. Kondakci M: Supportivtherapie und infektiologische Komplikationen. In: Haas R, Kobbe G (Hrsg.). Blutstammzelltransplantation-Bilanz des aktuellen Wissens. düsseldorf university press, Düsseldorf 2012. S. 55
125. Krüger W.: Seltene Infektionen nach allogener Transplantation im eigenen Patientengut. Öffentlicher Vortrag vom 03.11.12, EMA-Universität Hansestadt Greifswald
126. Haentzschel I, Freiberger-Richter J, Platzbecker U, Kiani A, Schetelig , Illmer T , Ehninger G, E Schleyer E , M Bornhäuser M: Targeting mycophenolat mofetil for graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic blood stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant , 2008: **42**: p. 113-120
127. Krüger W: Infektionen nach allogener Stammzelltransplantation. In: Kröger N, Zander AR.: Allogene Stammzelltherapie- Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage -Bremen: UNI-MED, S.118
128. Kondakci M: Supportivtherapie und infektiologische Komplikationen. In: Blutstammzelltransplantation. Bilanz des aktuellen Wissens. düsseldorf university press, Düsseldorf 2012; S.60

129. Kroger N, Zabelina T, Kruger W, Renges H, Stute N, Schrum J, Kabisch H, Schafhausen P, Jaburg N, Loliger C, Schafer P, Hinke A, Zander AR. Patient cytomegalovirus seropositivity with or without reactivation is the most important prognostic factor for survival and treatment-related mortality in stem cell transplantation from unrelated donors using pretransplant in vivo T-cell depletion with anti-thymocyte globulin. Br J Haematol, 2001. **113**(4): p. 1060-1071
130. Chakrabarti S, Mackinnon S, Chopra R, Kottaridis PD, Peggs K, O`Gorman P, Chakraverty R, Marshall T, Osman H, Mahendra P, Craddock C,Waldmann H, Hale G, Fegan CD, Yong K, Goldstone AH, Linch DC, MilligDW (2002): High incidence of cytomegalovirus infection after nonmyeloablative stem cell transplantation: potential role of Campath-1H in delaying immune reconstitution. Blood, 2002. **99**(12): p. 4357-4363
131. Boeckh M, Ljungman P: How we treat cytomegalievirus in hematopoietic cell transplant recipients. Blood,2009. **113**(23): p. 5711-5719
132. Schmidt-Hieber M, Labopin M, Beelen D, Volin L, Ehninger G, Finke J, Socié G, Schwerdtfeger R, Kröger N, Ganser A, Niederwieser D, Polge E, Blau IW, Mohty M. CMV serostatus still has an important prognostic impact in de novo acute leukemia patients after allogeneic stem cell transplantation: a report from the Acute Leukemia Working Party of EBMT. Blood , 2013. **122**(19): p. 3359-3364
133. Anaissie E, Marr K, Thorner A: Prophylaxis of infections in hematopoietic cell transplant recipients. UpToDate 19.3: September 2011
134. Sellar RS, Peggs KS: Recent progress in managing graft-versus-host disease and viral infections following allogeneic stem cell transplantation. Future oncology, 2012. **8**(12): p. 1549-1565
135. Elmaagacli AH, Steckel NK, Koldehoff M, Hegerfeldt Y, Trenschel R, Ditschkowski M, Christoph S, Gromke T, Kordelas L, OttingerHD, Ross RS, Horn PA, Schnittger S, Beelen DW: Early human cytomegalovirus replication after transplanatation is associated with a decreased relapserisk: evidence for a putative virus-versus-leukemia effect in acute myeloidleukemia patients. Blood, 2011. **118**(5): p. 1402-1412
136. Barrett JA. CMV: when bad viruses turn good. Blood, 2011. **118**: p. 1193-1194
137. Ljungman P. CMV: a warrior against leukemia? Blood, 2013. **122**(7): p. 1101-

1102

138. Pérez-Simon JA, Kottaridis PD, Martino R, Craddock C, Caballero D, Chopra R, Garćia-Conde, Milligan D, Schey S, Urbano-Ispizua A, Parker A, Leon A, Yong K, Sureda A, Hunter a, Sierra J, Goldstone AH, Linch DC, San Miguel JF, Mackinnon S: Nonmyeloablative transplantation with or without alemtuzumab: comparission between 2 prospective studies in patients with lymphoproliferative disorders, Blood, 2002. **100**(9): p. 3121-3127
139. Desoubeaux G, Caumont C, Passot C , Dartigeas C, Bailly E, Chandenier J, Duong T: Two casea of opportunistic parasite infections in patients receiving alemtuzumab. J Clin Pathol (2011).doi:10.1136/jclinpath-2011-200403
140. Hill QA, Hill A, Pearce RM, Cook G: Similar lymphocyte recovery and CMV reactivation profiles between reduced intensity conditioning with alemtuzumab and myeloablative allogeneic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplantation , 2008. **41**: p. 749-751
141. Bacher U. Hämatopoetische Stammzelltransplantation für nicht-maligne Erkrankungen bei Erwachsenen. In: Kröger N, Zander A: Allogene Stammzelltherapie- Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage - Bremen: UNI-MED, S.81
142. Chakraverty R, Sykes M: The role of antigen-presenting cells in triggering graft-versus-host disease and graft-versus-leukemia. Blood, 2007. **110**(1): p. 9-17
143. Chan G, Gorgun G, Miller K, Foss FM: Persistence of Host Dendritic Cells after Transplantation is Associated with graft-versus-Host Disease. Biology of Blood and Marrow Transplantation, 2003. **9**(3): p. 170 -176
144. Stenger EO, Turnquist HR, Mapara MY, Thomson AW: Dendritic cells and regulation of graft-versus-host disease and graft-versus-leukemia activity. Blood, 2012 .**119**(22**)**: p. 5088-5103
145. Leveson-Gower DB, Sega E, Kalesnikoff J, Florek M, Pan Y, Pierini A, GalliSJ, Negrin RS: Mast cells suppress murine GVHD in a mechanism independent of CD4+ CD25+ regulatory T cells. Blood, 2013. **122**(2**)**: p. 3659-3665
146. Stenger EO, Turnquist HR, Mapara MY, Thomson AW: Dendritic cells and regulation of graft-versus-host disease and graft-versus-leukemia activity. Blood, 2012, **122**: p. 3556-3557

147. Rosenblatt J, Bissonnette A, Ahmad R, Wu Z, Vasir B, Stevenson K, ZarwanBoussiotis V, Kufe D, Avigan D: Immunomodulatory effects of vitamin D: implications for GvHD. Bone marrow Transplantation, 2010. **45**: p. 1463-1468
148. Socié G, Blazar, B: Acute graft-versus-host disease: from the bench to the bedside. Blood. 2009, **114**(20): p. 4327-4336
149. Saliba R.M., de Lima M, Giralt S, Anderson B, Khouri IF, Hosing C, Ghosh S,Neumann J, De Jesus J, Quazilbash MH, Champlin RE, Couriel DR. Hyperacute GvHD: risk factors, out-comes and clinical implications. Blood, 2007. **109**(7): p. 2751
150. Panse J. GvHD-Prophylaxe. In: Kröger N, Zander AR (Hrsg.): Allogene Stammzelltherapie- Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage-Bremen: UNI-MED, 2011 S.96 ff
151. Chao NJ, Negrin RS, Connor RF: Clinical manifestations, diagnosis, and grading of acute graft-versus-host disease (2012). http://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestation-diagnosis-and-grading–of–acute-graft-versus-host-disease
152. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S Socie G, Wingard JR, Lee SJ, Martin P, Chien J, Przepiorka D, Couriel D, Cowen EW, Dinndorf P, Farrell A, Hartzman R, Henslee-Downey, Jacobsohn D, McDonald G, Mittleman B, Rizzo JD, Robinson M, Schubert M, Schultz K, Shulman H, Turner M, Vogelsang G, Flowers MED: 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 Transplant. 2005.**11**(12): p. 945-955
153. Flowers MED, Inamato Y, Carpenter PA, Lee SJ, Kiem HP, Petersdorf EW, Pereira SE, Nash RA, Mielcarek M, Fero ML, Warren EH, Sanders JE, Storb RF, Appelbaum FR, Storer BE, Martin PJ: Comparative analysis of risk actors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. Blood, 2011. **117**(11): p. 3214-3219
154. Schwartz JM, Wolford JL, Thornquist MD et al: Severe gastrointestinal bleeding after hematopoietic cell transplantation, 1987-1997: incidence, causes, and outcome. Am J Gastroenerol, 2001. **96**: p. 385-393

155. Gale RP, Bortin MM, van Bekkum D, Biggs JC, Dicke KA, Gluckman E, Good RA, Hoffmann RG, Kay HEM, Kersey JH, Marmont A, Masaoka T, Rimm A, van Rood JJ, Zwaan FE: Risk factors for acute graft-versus-host disease. British Journal of Haematolgy, 1987. **67**(4): p. 397-406

156. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, Lerner KG, Thomas ED: Clinical manifestation of graft-versus-host disease in human recipients. Transplantation, 1974. **18**(4): p. 295-304

157. Holler E: Akute GvHD. In: Kröger N, Zander AR.: Allogene Stammzelltherapie-Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. S.108 ff

158. Rowlings et al. IBMR-Severity-Index der akuten GvHD mit Gradeinteilung von 0 und A bis D): In: Kröger N, Zander AR: Allogene Stammzelltherapie-Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3.Auflage - Bremen: UNI-MED, 2011. S.108

159. Mahgerefteh SY, Sosna J, Bogot N, Shapira MY, Pappo O, Bloom AI. Radiologic Imaging and Intervention for Gastrointestinal and Hepatic Complications of Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Radiology, 2011. **258**: p. 660–671

160. Hahn T, McCarthy PL JR, Zhang MJ et al: Risk factors for acute graft-versus-host disease after human leucocyte antigen-identical sibling transplants for adults with leukemia. J Clin Oncol, 2008. **26**(35): p. 5728-34

161. Wolff D, Bertz H, Greinix H, Lawitschka A, Halter J, Holler E: Klinische Versorgung der chronischen Graft-versus-Host-Krankheit. Deutsches Ärzteblatt, 2011. **108**(43): p. 732-741

162. Lee SJ, Klein JP, Barrett AJ, Ringden O, Antin JH, Cahn JY, Carabasi MH, Gale RP, Giralt S, Hale GA, Ilhan O, McCarthy PL, Socie G, Verdonck LF, Weisdorf DJ, Horowitz MM: Severity of chronic graft-versus-host disease: association with treatment-related mortality and relapse. Blood, 2002. **100**(2): p. 406-414

163. Arora M, Pidala J, Cutler CS, Chai X, Kurland B, Jacobsohn DA, Pavletic SZ, Palmer J, Vogelsang G, Jagasia M, Schultz K, Lee SJ: Impact of prior acute GVHD on chronic GVHD outcomes: a chronic graft versus host disease consortium study. 2013, Leukemia : p. 1196-1201

164. Jackson K, Curley C, Leach J, McLean A, Nakagaki M, Durrant S, Kennedy GA (2011): Alemtuzumab as salvage therapy for steroid and ATG/etanercept-refractory acute GvHD. Bone Marrow Transplantation, 2011. **46**: p. 1579-1580

165. Chao NJ, Negrin RS, Connor RF: Overview of immunosuppressive agents. http://www.uptodate.com/contents/overview-of-immunosuppressive-agents-used-for-prevention-and-treatment-of-graft-versus-host-disease.

166. Locatelli F, Bruno B, Zecca M, Van-Lint MT, McCann S, Arcese W, Dallorso S, Di Bartolomeo P, Fagioli F, Locasciulli A, Mark Lawler M, Bacigalupo A. Cyclosporin A andshort-term methotrexate versus cyclosporin A as graft versus host diseaseprophylaxis in patients with severe aplastic anemia given allogeneic bone marrow transplantation from an HLA-identical sibling: results of a GITMO/EBMT randomized trial. Blood, 2000. **96**(5): p. 1690-1697

167. Von Bueltzingsloewen A, Belanger R, Perreault C, Bonny Y, Roy DC, Lalonde Y, Boileau J, Kassis J, Lavallee R, Lacombe M.Acute graft-versus-host disease prophylaxis with methotrexate and cyclosporine after busulfan and cyclophosphamide in patients with hematologic malignancies.Blood, 1993. **81**(3): p. 849-855

168. Finke J, Bethge W, Schmoor C, Ottinger HD, Stelljes M, Zander AR, Volin L, Ruutu T, Heim DA, Schwerdtfeger R, Kolbe K, Mayer J, Maertens JA, Linkesch W, Holler E, Koza V, Bornhäuser M, Einsele H, Kolb HJ, Bertz H, Egger M, Grishina O, Socié G. Standard graft-versus-host disease prophylaxis with or without anti-T-cell globulin in haematopoietic cell transplantation from matched unrelated donors: a randomized, open-label, multicenter phase 3 trial. Lancet Oncol, 2009. **10**: p. 855-864

169. Hilgendorf I, Wolff D, Holler E: Klinische Praxis der akuten und chronischen GVHD. In: Haas R, Kobbe G (Hrsg.). Blutstammzelltransplantation- Bilanz des aktuellen Wissens. düsseldorf university press, Düsseldorf 2012. S.79

170. a.a.O. S. 82

171. Ayuk F, Diyachenko G, Zabelina T, Panse J, Wolschke C, Eiermann T, Binder T, Fehse B, Erttmann R, Kabisch H, Bacher U, Kröger N, Zander AR (2008): Anti-thymocyte globulin overcomes the negative impact of HLA mismatching in transplantation from unrelated donors. Exp. Hematol, 2008. **36**(8): p. 1047-1054

172. Barrett AJ, Kendra JR, Lucas CF, Joss DV, Joshi R, Pendharkar P, Hugh-Jones K.: Cyclosporin A as prophylaxis against graft-versus-host disease in 36 patients. British Medical Journal, 1982. **285**: p. 162-66
173. Speck B, Gratwohl A, Osterwalder B, Signer E, Nissen C, Corneo M, Jeannet M.: Allogeneic bone marrow transplantation: The Basel trial with cyclosporine. Transplantation Proceedings, 1983. **15**(1): p. 2617-2619
174. Panse J. Die Hemmung der T-Zell-Funktion. In: In: Kröger N, Zander AR (Hrsg.) Allogene Stammzelltherapie- Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage-Bremen: UNI-MED, 2011 S.98.
175. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M.: Immunologie. Springer Spectrum Lehrbuch. 5. Auflage S. 204
176. Panse J. Die Hemmung der T-Zell-Funktion. In. Kröger N, Zander AR.: Allogene Stammzelltherapie- Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage -Bremen: UNI-MED, S.98
177. Storb R, Deeg HJ, Whietehead J, et al: Methotrexate and cyclosporine compared with cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft versus host disease after marrow transplantation for leukaemia. N Engl J Med 1986; **314**: p. 729-735
178. Panse J. Die Hemmung der T-Zell-Funktion. In: Kröger N, Zander AR.: Allogene Stammzelltherapie- Grundlagen, Indikationen und Perspektiven. 3. Auflage -Bremen: UNI-MED, 2011. S.99
179. Bortin MM, Truitt RL, Shih CY, Rimm AA: Graft-versus-Leukemia: Allosensitization of MHC compatible donors induces antileukemic reactivity without amplification of antihost reactivity. Immunobiology of Bone Marrow Transplantation. Edited by S.Thierfelder, H.Rodt, HJ Kolb. Springer Verlag Berlin Heidelberg New York 1980. S.31-38
180. Bühlmann L, Buser AS, Cantoni N, Gerull S, Tichelli, Gratwohl A, Stern M: Lymphocyte subset recovery and outcome after T-cell replete allogeneic hematopoietic SCT. Bone Marrow Transplantation, 2011. **46**: p. 1357-1362
181. Guglielmi C, Arcese W, Dazzi F, Brand R, Bunjes D, Verdonck LF, Schattenberg A, Kolb HJ, Ljungman P, Devergie A, Bacigalupo A, Gomez M, Michallet M, Elmaagacli A, Gratwohl A, Apperley J, Niederwieser D: Donor lymphocyte infusion for relapsed chronic myelogenous leukemia: prognostic relevance of the initial dose. Blood, 2002. **100**: p. 397-405

182. Mapara MY, Kim YM, Wang SP, Bronson R, Sachs DH, Sykes M. Donor lymphocyte infusions mediate superior graft-versus-leukemia effects in mixed compared to fully allogeneic chimeras: a critical role for hostantigen-presenting cells. Blood, 2002. **100**(5): p. 1903-1909

183. Kolb HJ, Schattenberg A, Goldman JM, Hertenstein B, Jacobsen N, Arcese WLjungman P, Ferrant A, Verdonck L, Niederwieser D, van Rhee F, Mittermueller J, de Witte T, Holler E, Ansari H: Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. Blood, 1995. **86**(5): p. 2041-2050

184. Possinger K, Regierer AC: Facharzt Hämatologie Onkologie, Urban und Fischer München 2.Auflage; S. 202

185. Norlin AC, Remberger M: A comparison of Campath and Thymoglobulin as part of the conditioning before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Eur J Haematol, 2010. **86**(1): p. 57-66.

186. Busemann C, Neumann T, Schulze M, Klenner A, Thiele A, Greinacher A, Dölken G, Krüger WH: Low-dose alemtuzumab vs. standard policy for prevention of graft-versus-host disease in unrelated and related allogeneic stem cell transplantation-a matched pair analysis. Ann Hematol. 2013. **92**(7): p. 945-952

187. Martin PJ, Hansen JA, Buckner CD, Sanders JE, Deeg J, Stewart P, Appelbaum FR, Clift R, Fefer A, Witherspoon RP, Kennedy MS, Sullivan KM, Flournoy N, Storb R, Thomas ED. Effects of in vitro depletion of T cells in HLA-identical allogeneic marrow grafts. Blood, 1985. **66**(3): p. 664-672

188. Borne von dem PA,Starrenburg CW, Halkes SJ, Marijt WA, Fibbe WE, Falkenburg JH, Willemze R: Reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation with donor T-cell depletion using alemtuzumab added to the graft ('Campath in the bag'). Curr Opin Oncol, 2009. Suppl 1: p. 27-29

189. Hale G, Cobbold S, Waldmann H (1988): T cell depletion with Campath-1 in allogeneic bone marrow transplantation. Transplantation **45**(4): p. 753-759

190. Bunjes D: T cell depletion of allogeneic stem cell grafts with anti-CD 52 monoclonal antibodies: the Ulm experience from 1983-1999. Transfus Sci **23**(2): p. 151-162

191. Bertz H, Spyridonidis A, Wasch R, Grullich C, Egger M, Finke J. A novel GvHD-prophylaxis with low-dose alemtuzumab in allogeneic sibling or

unrelated donor hematopoetic cell transplantation: the feasibility of deescalation. Biol Blood Marrow Transplant 2009, **15**(12): p. 1563-1570

192. Hale G: Alemtuzumab in stem cell transplantation. Med. Oncol 2002 **19**: p. 33-47

193. Apperley JF, Jones L, Hale G, Waldmann H, Hows J, Rombos Y, Tsatalas C, Goldman JM. Bone marrow transplantation for patients with chronic myeloid leukemia: T-cell depletion with Campath-1 reduces the incidence of graft-versus-host disease but may increase the risk of leukemia relapse. Bone Marrow Transplant, 1986. **1**(1): p. 53-66

194. Hale G. The CD52 antigen and development of the Campath antibodies. Cytotherapy, 2001. **3:** p. 137-143

195. Rodig SJ, Abramson JS, Pinkus GS (2006):Heterogeneous CD 52 expression among hematologic neoplasms: Implications for the use of alemtuzumab (Campath-1H). Clin Cancer Res , 2006. **12**: p. 7174-7179

196. Ambrose LR, Morel A-S, Warrens A N: Neutrophils express CD52 and exhibit complement-mediated lysis in the presence of alemtuzumab. Brief report Blood, 2009. **114**(14): p. 3052-3055

197. Dodero A, Carrabba M, Milani R, Rizzo E, Raganato A, Montefusco V et al: Reduced-intensity conditioning containing low-dose alemtuzumab before allogenic peripheral blood stem cell transplantation: graft versus-host disease is decreased but T-cell reconstitution is delayed. Exp Hematol 2005; **33**: p. 920-927

198. Devetten M, Loberiza F, Weisenborn R, Bunner P, Brewer J, Ericson S: Low dose Alemtuzumab (Campath 1H) prior to allogeneic stem cell transplantation is associated with low incidence of acute and chronic GvHD but protacted immune recovery. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts) 2005 106: Abstract 5376

199. Spyridonidis M, Liga M, Triantafyllou E, Themeli M, Marangos M, Karakantza M, Zoumbos N: Pharmacokinetics and clinical activity of very low-dose alemtuzumab in transplantation for acute leukemia. Bone Marrow Transplantation , 2011.**46**(10): p. 1363-1368

200. Ho A, Pagliuca A, Kenyon M, Parker J, Mijovic A, Devereux S, Mufti G. Reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with multilineage

dysplasia using fludarabine, busulphan, and alemtuzumab (FBC) conditioning. Blood, 2004. **104**: p. 1616-1623

201. Novitzky N, Davison G, Abdulla R, Mowla S: Definition of the variables affecting efficacy of immunodepletion ex vivo of peripheral blood progenitor cells graft by alemtuzumab (Campath in the bag). Biol Blood Marrow Transplant, 2013. **19**: p. 1753-1759
202. Morris E, Thomson K, Craddock C, Mahendra P, Milligan D, Cook G, Smith GM, Parker A, Schey S, Chopra R, Hatton C, Tighe J, Hunter A, Peggs K, Linch D, Goldstone A, Mackinnon S: Outcomes after alemtuzumab-containing reduced-intensity allogeneic transplantation regimen for relapsed and refractory non-Hodgkin lymphoma. Blood, 2004. 1**04**: p. 3865-3871
203. Chakrabarti S, Avivi I, MacKinnon S, Ward K, Kottaridis PD, Osman H, Waldmann H, Hale G, Fegan CD, Yong K, Goldstone A, Linch DC, Milligan DW. Respiratory virus infections in transplant recipients after reduced-intensity conditioning with Campath-1H: high incidence but low mortality. Br J Haematol, 2002. **119**(4): p. 1125-1132
204. Park SH, Choi SM, Lee DG, Choi JH, Yoo JH, Kim SH, Kim HJ, Cho SG, Eom KS, Lee JW, Min WS, Shin WS, Kim CC: Infectious complications associated with alemtuzumab use for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: comparison with anti-thymocyte globulin. Transpl Infect Dis, 2009. 413-423
205. Thomson K, Peggs K, Morris E, Khwaja A, Linch D, Goldstone A, Mackinnon S: Allogeneic stem cell transplantation for high-risk acute myeloid leukemia: Blood (ASH Annual Meeting Abstracts) 2005. **106**: Abstract 2053
206. Zander AR, Berger C, Kröger N, Stockschläder M, Krüger W, Horstmann M, Grimm J, Zeller W, Kabisch H, Erttmann R, Schönrock P, Kuse R, Braumann D, Illiger HJ, Fiedler W, Hossfeld KD, Weh HD. High dose chemotherapiy with busulfan, cyclophosphamide, and etoposide as conditioning regimen for allogeneic bone marrow transplantation for patients with acute myeloid leukemia in first remission. Clin Cancer Res, 1997. **3**(12 Pt 2): p. 2671-2675
207. Maris MB, Sandmaier BM; Storer BE, Chauncey T, Stuart MJ, Maziarz RT, Aqura E, Langston AA, Pulsipher M, Storb R, Maloney DG. Allogeneic hematopoietic cell transplantation after fludarabine and 2 Gy total body irradiation for relapsed and refractory mantle cell lymphoma. Blood, 2004. **104**(12): p. 3535-3542

208. Casper J, Knauf W, Kiefer T, Wolff D, Steiner B, Hammer U, Wegener R, Kleine HD, Wilhelm S, Knopp A, Hartung G, Dölken G, Freund M. Treosulfan and fludarabine: a new toxicity-reduced conditioning regimen for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Blood, 2004. **103**(2): p. 725-731
209. Kroger N, Perez-Simon JA, Myint H, Klingemann H, Shimoni A, Nagler A, Martino R, Alegre A, Tomas JF, Schwerdtfeger R, Kiehl M, Fauser A, Sayer HG, Leon AI, Beyer J, Zabelina T, Ayuk F, San Miguel JF, Brand R, Zander AR. Relapse to prior autograft and chronic graft-versus-host disease are the strongest prognostic factors for outcome of melphalan/fludarabine-based dose-reduced allogeneic stemm cell transplantation in patients with multiple myeloma. Biol Blood Marrow Transplant 2004;10(10):698-708
210. Hale G. Alemtuzumab in stem cell transplantation. Med. Oncol, 2002. **19**: p. 33-47
211. Thomas ` Hematopoietic Cell Transplantation. 4 ed. Chichester: Wiley-Blackwell, 2010 p. 183
212. Weiden PL,Doney K, Storb R, Thomas ED. Anti-human thymocyte globulin (ATG) for prophylaxis and treatment of graft-versus-host disease in recipients of allogeneic marrow grafts. Transplant Proc, 1978. **10**(1): p. 213-6
213. Storek J, Mohty M, Boelens JJ.Rabbit Anti-T Cell Globulin in Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. Biol Blood Marrow Transplant, 2014. **5**(14): p. 10
214. Waldmann H, Cobbold S, Wilson A,Clark M, Watt S, Hale G, Tighe H. Rat monoclonal antibodies for bone marrow transplantation--the Campath series. Adv Exp Med Biol, 1986: p. 869-75
215. Waldmann H, Hale G. Campath: from concept to clinic. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2005. **360**(1461): p. 1707-1711
216. Frampton JE, Wagstaff AJ. Alemtuzumab. Drugs.2003; **63**(12): p. 1229-1243
217. Scheinberg P, Nunez O, Weinstein B, Scheinberg P, Biancotto A, Wu CO, Young NS. Horse versus rabbit antithymocyte globulin in acquired aplastic anemia. N Engl J Med, 2011. **365**(5): p. 430-438
218. Ballen K. New trends in transplantation: the use of Thymoglobulin. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2009. **5**(3): p. 351-355
219. Poire X, van Besien K. Alemtuzumab in allogeneic hematopoetic stem cell ransplantation. Expert Opin Biol Ther, 2011. **11**(8): p. 1099-111

220. Eiermann TH, Lambrecht P, Zander AR. Monitoring anti-thymocyte globulin (ATG) in bone marrow recipients. Bone Marrow Transplant, 1999. **23**(8): p. 779-81

221. Gartner F, Hieke S, Finke J, Bertz H. Lowering the alemtuzumab dose in reduced intensity conditioning allogeneic hematopoietic cell transplantation is associated with a favorable early intense natural killer cell recovery. Cytotherapy, 2013. **15**(10): p. 1237-1244

222. Kroger N, Shaw B, Iacobelli S, Zabelina T, Peggs K, Shimoni A, Nagler A, Binder T, Eiermann T, Madrigal A, Schwerdtfeger R, Kiehl M, Sayer HG, Beyer J, Bornhauser M, Ayuk F, Zander AR, Marks DI. Comparison between antithymocyte globulin and alemtuzumab and the possible impact of KIR-ligand mismatch after dose-reduced conditioning and unrelated stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. Br J Haematol, 2005. **129**(5): p. 631-643

223. Holtick U, Albrecht M, Chemnitz JM, Theurich S, Shimabukuro-Vornhagen A, Skoetz N, Scheid C, von Bergwelt-Baildon M. Comparison of bone marrow versus peripheral blood allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies in adults-a systematic review and meta-analysis. Crit Rev Oncol Hematol , 2015. **94**(2): p. 179-188

224. Wagner HJ, Cheng YC, Huls MH, Gee AP, Kuehnle I, Krance RA, Brenner MK, Rooney CM, Heslop HE. Prompt versus preemptive intervention for EBV lymphoproliferative disease. Blood, 2004. **103**(10): p. 3979-3981

225. Reusser P, Einsele H, Lee J, Volin L, Rovira M, Engelhard D, Finke J, Cordonnier C, Link H, Ljungman P. Randomized multicenter trial of foscarnet versus ganciclovir for preemptive therapy of cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. Blood 2002. **99**(4): p. 1159-1164

226. Williams Hematology. 6 ed. New York: McGraw-Hill; 2001 p.1912

227. Slichter SJ, Kaufman RM, Assmann SF, McCullough J, Triulzi DJ, Strauss RG, Gernsheimer TB, Ness PM, Brecher ME, Josephson CD, Konkle BA, Woodson RD, Ortel TL, Hillyer CD, Skerrett DL, McCrae KR, Sloan SR, Uhl L, George JN, Aquino VM, Manno CS, McFarland JG, Hess JR, Leissinger C, Granger S. Dose of prophylactic platelet transfusions and prevention of hemorrhage. N Engl J Med, 2010. **362**(7): p. 600-613

228. Wandt H, Schaefer-Eckart K, Wendelin K, Pilz B, Wilhelm M, Thalheimer M, Mahlknecht U, Ho A, Schaich M, Kramer M, Kaufmann M, Leimer L, Schwerdtfeger R, Conradi R, Dolken G, Klenner A, Hanel M, Herbst R, Junghanss C, Ehninger G. Therapeutic platelet transfusion versus routine prophylactic transfusion in patients with haematological malignancies: an open-label, multicentre, randomised study. Lancet, 2012. **380**(9850): p. 1309-1316
229. Beatty PG, Clift RA, Mickelson EM, Nisperos BB, Flournoy N, Martin PJ, Sanders JE, Stewart P, Buckner CD, Storb R . Marrow transplantation from related donors other than HLA-identical siblings. N Engl J Med, 1985. **313**(13): p. 765-771
230. Chae YS, Sohn SK, Kim JG, Cho YY, Moon JH, Yang DH, Lee JJ, Kim YK, Kim HJ, Shin HJ, Chung JS, Cho GJ. Impact of alemtuzumab as conditioning regimen component on transplantation outcomes in case of CMV-seropositive recipients and donors. Am J Hematol, 2008. **83**(8): p. 649-653
231. Chakrabarti S, Osman H, Collingham K, Milligan DW. Polyoma viruria following T-cell-depleted allogeneic transplants using Campath-1H: incidence and outcome in relation to graft manipulation, donor type and conditioning. Bone Marrow Transplant, 2003. **31**(5): p. 379-86
232. Chakrabarti S, Milligan DW, Pillay D, MacKinnon S, Holder K, Kaur N, McDonald D, Fegan CD, Waldmann H, Hale G, Rickinson A, Steven N. Reconstitution of the Epstein-Barr virus-specific cytotoxic T-lymphocyte response following T-cell-depleted myeloablative and nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation. Blood, 2003 . **102**(3): p. 839-842
233. Chakrabarti S, Avivi I, MacKinnon S, Ward K, Kottaridis PD, Osman H, Waldmann H, Hale G, Fegan CD, Yong K, Goldstone AH, Linch DC, Milligan DW. Respiratory virus infections in transplant recipients after reduced-intensity conditioning with Campath- 1H: high incidence but low mortality. Br J Haematol, 2002. **119**(4): p. 1125-1132
234. Kruger WH, Bohlius J, Cornely OA, Einsele H, Hebart H, Massenkeil G, Schuttrumpf S, Silling G, Ullmann AJ, Waldschmidt DT, Wolf HH. Antimicrobial prophylaxis in allogeneic bone marrow transplantation. Guidelines of the

Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Haematology and Oncology. Ann Oncol , 2005. **16**(8): p. 1381-1390

235. Kruger WH, Kiefer T, Daeschlein G, Steinmetz I, Kramer A, Dolken G. Aminoglycoside-free interventional antibiotic management in patients undergoing haemopoietic stem cell transplantation. GMS Krankenhhyg Interdiszip, 2010. **5**(2): Doc06

236. Waldmann H, Cobbold S, Hale G. Leukaemic relapse after Campath 1-treated bone-marrow transplantation for leukaemia. Lancet, 1987.**1**(8523): p. 44

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst habe und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät, keiner anderen wissenschaftlichen Einrichtung vorgelegt worden.

Ich erkläre, dass ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass eine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades nicht vorliegt.

Heringsdorf, den 28.07.2016 Meike Schulze