

Aus der Klinik für Innere Medizin  
Klinik für Hämatologie, Onkologie, Stammzelltransplantation, Palliativmedizin  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. F. Heidel  
der Universitätsmedizin der Universität Greifswald

## **Chimärismus nach allogener Stammzelltransplantation - Einflussfaktoren**

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung des akademischen

Grades

Doktor der Medizin  
(Dr. med.)

der

Universitätsmedizin

der

Universität Greifswald

2022

vorgelegt von:  
Katharina Sibylle Laudien  
geb. am: 11.03.1993  
in: Hamburg

Dekan: Herr Prof Dr. med. Karlhans Endlich

1.Gutachter: Herr Prof. Dr. med. William Krüger

2. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. Wolfgang Igor Blau

Ort, Raum: Greifswald, Seminarraum 1, P01.37 Klinik und Poliklinik, für Kinder- und Jugendmedizin F.- Sauerbruchstraße

Tag der Disputation: 25.11.2022

Meinen Eltern

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1	Die Stammzelltransplantation (SZT) .....	1
1.1.1	Definition .....	1
1.1.2	Geschichtlicher Hintergrund .....	2
1.1.3	Indikationen .....	3
1.1.4	Durchführung .....	6
1.1.5	Spenderauswahl .....	7
1.1.5.1	Hierarchie der Merkmale .....	7
1.1.5.2	Humane Leukozyten Antigene (HLA) .....	7
1.1.5.3	Cytomegalievirus-Serostatus .....	8
1.1.5.4	Spenderalter .....	8
1.1.5.5	Geschlechterkonstellation .....	9
1.1.5.6	Blutgruppenkompatibilität .....	9
1.2	Die Konditionierung .....	9
1.3	Die Spender-gegen-Wirt-Krankheit (GvHD) .....	11
1.3.1	Die GvHD .....	11
1.3.2	Akute GvHD.....	12
1.3.3	Chronische GvHD .....	13
1.4	Der Chimärismus .....	15
1.5	Aktueller Stand der Wissenschaft: Einflussfaktoren der allogenen SZT auf den Chimärismus .....	16
1.6	Zielsetzung der Arbeit.....	18
<b>2</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>19</b>
2.1	Studie und Patientenkollektiv .....	19
2.2	Studienaufbau .....	19
2.3	Chimärismus .....	20
2.4	Transplantationseigenschaften und -biologie von Empfänger und Spender .....	21
2.4.1	HLA Kompatibilität .....	22
2.5	Konditionierung und Transplantation .....	22
2.5.1	Konditionierung .....	22

2.5.2	Antikörpergabe .....	23
2.5.3	CD 34+ Zellzahl .....	23
2.6	Leukozytenengraftment .....	23
2.7	Akute und chronische GvHD .....	24
2.8	Remissionsstatus .....	24
2.9	Rezidiv und Progress .....	24
2.10	Statistische Auswertung .....	24
<b>3</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>27</b>
3.1	Daten der Kohorte von Tag 57 .....	27
3.2	Daten der Kohorte von Tag 1287 .....	28
3.3	Chimärismus .....	28
3.4	Transplantationseigenschaften und -biologie von Empfänger und Spender der Kohorten von Tag 57 und Tag 1287 .....	30
3.4.1	Geschlecht .....	30
3.4.2	Spendertyp .....	30
3.4.3	Alter .....	31
3.4.4	Cytomegalievirus-Serostatus .....	31
3.4.5	Blutgruppe .....	32
3.5	HLA Kompatibilität .....	32
3.6	Konditionierung und Transplantation .....	33
3.6.1	Konditionierung .....	33
3.6.2	Antikörpergabe .....	33
3.6.3	CD34+ Zellen .....	34
3.7	Leukozytenengraftment .....	34
3.8	GvHD .....	35
3.9	Remissionsstatus .....	36
3.10	Rezidiv oder Progress .....	36
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>37</b>
4.1	Transplantationsbiologie von Empfänger und Spender .....	37
4.1.1	Geschlecht .....	37
4.1.2	Spendertyp .....	37
4.1.3	Alter .....	38

4.1.4	Cytomegalievirus-Serostatus .....	39
4.1.5	Blutgruppe .....	40
4.1.6	HLA Kompatibilität .....	41
4.2	Konditionierung und Transplantation .....	41
4.2.1	Konditionierung .....	41
4.2.2	Antikörper .....	44
4.2.3	CD34+ Zellen .....	44
4.3	Leukozytenengraftment .....	45
4.4	GvHD .....	46
4.5	Remissionsstatus .....	46
4.6	Rezidiv oder Progress .....	47
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>49</b>
<b>6</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>50</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>52</b>
<b>8</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>59</b>
<b>9</b>	<b>Eidesstattliche Erklärung .....</b>	<b>64</b>
<b>10</b>	<b>Lebenslauf .....</b>	<b>65</b>
<b>11</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>66</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Die Stammzelltransplantation (SZT)

### 1.1.1 Definition

Die Stammzelltransplantation (SZT) ist eine Übertragung hämatopoetischer Stammzellen von einem Spender auf einen Empfänger. Dieses Verfahren stellt für viele ansonsten unheilbare hämatologische Krankheiten eine potenziell kurative Therapieoption dar und findet sowohl für maligne als auch nicht maligne Erkrankungen des hämatopoetischen Systems Anwendung [1–3]. Grundsätzlich werden zwei Typen der SZT unterschieden.

- 1) Autologe SZT: Bei dieser Form liegt das therapeutische Wirkprinzip in der Zytotoxizität der Hochdosischemotherapie, die dem Patienten verabreicht wird. Die anschließende Transplantation bzw. Re-Transfusion eigener Stammzellen hat im Wesentlichen die Wiederherstellung der Hämatopoese zum Ziel. Entsprechend hat das Transplantat keinen direkten therapeutischen Effekt auf die Grunderkrankung [4].
- 2) Allogene SZT: Bei dieser komplexeren Form der Behandlung erhält der Patient Stammzellen eines gesunden Spenders. Der Stammzellspender kann ein verwandtes Familienmitglied oder ein unverwandter Fremdspender sein. Zusätzlich gibt es die Möglichkeit, Stammzellen aus Nabelschnurblutpräparaten zu gewinnen, um diese anschließend zu transplantieren [3]. Als präparatives Regime vor der SZT wird eine Konditionierung in Form einer Chemotherapie durchgeführt und ggf. mit einer Ganzkörperbestrahlung (engl. *total-body irradiation*, TBI) kombiniert [5]. Anschließend erfolgt die intravenöse Übertragung der hämatopoetischen Stammzellen. Nach einer erfolgreichen SZT führt das Anwachsen der transplantierten Zellen im Knochenmark zur Regeneration der Hämatopoese im Empfänger [6]. Bei der allogenen Transplantationsform können Spenderzellen für die Entstehung eines sogenannten Transplantat-versus-Tumor-Effektes (engl. *graft-versus-tumor effect*) sorgen. Dieser wirkt möglichen Resttumorzellen und gleichzeitig einem möglichen Relaps entgegen [3].

Da nach einer SZT zahlreiche Komplikationen auftreten können, sind im Vorfeld Evaluationen des Allgemeinzustandes, der Organfunktionen und der persönlichen Einstellung des Transplantationsempfängers gegenüber einer Transplantation sowie der Wahrscheinlichkeit, durch die Transplantation eine Heilung erzielen zu können, dringend erforderlich [2]. Diese Arbeit konzentriert sich im Weiteren ausschließlich auf die allogene SZT.

### 1.1.2 Geschichtlicher Hintergrund

Die Entwicklung der allogenen SZT begann mit der Forschung zur Behandlung von Strahlungsschäden, die sich nach den Atombombenexplosionen von Hiroshima und Nagasaki ergab [7]. 1949 entdeckten Lorenz *et al.* [8] den Schutz vor Ganzkörperstrahlung im Mausmodell, indem sie die Milz der Tiere mit Blei abschirmten. Zwei Jahre später berichteten Jacobsen *et al.* [8] über Strahlenschutz durch Infusion von Markzellen bei Mäusen und Meerschweinchen. Bei weiteren Tierversuchen an Mäusen in den Fünfzigerjahren, konnte durch Übertragung von syngenen Knochenmark (Knochenmark einer genetisch identischen Maus), eine Markaplasie erfolgreich behandelt werden [3]. Diese Versuche führten zu der Erkenntnis, dass ein Schutz vor letaler Bestrahlung durch die Gabe von Spenderzellen herbeigeführt werden konnte, was als ein Meilenstein in der Entwicklung der hämatopoetischen Stammzelltransplantation gilt [7]. Barnes *et al.* [6] transplantierten 1956 zwei Gruppen eines Mäusestamms syngenes bzw. allogenes Knochenmark. Zuvor waren den Tieren leukämische Zellen injiziert worden und eine Woche danach erhielten sie eine Ganzkörperbestrahlung. Bei der syngen transplantierten Versuchsgruppe wurde dabei deutlich häufiger ein Rezidiv beobachtet, als bei der allogenen transplantierten Versuchsgruppe. Nach den Beobachtungen von Barnes *et al.* beschrieben Mathé *et al.* [9, 10] 1965 das Prinzip der Behandlung der Leukämie durch allogene, immunkompetente Zellen, die gegen die leukämischen Zellen des Empfängers vorgingen. Im Verlauf prägten die Autoren für dieses Phänomen den Begriff Transplantat-versus-Leukämie-Effekt (engl. *graft-versus-leukemia-effect*, GvL). Im Mausmodell wurde eine Krankheit beobachtet, die durch immunreaktive Zellen des Spenders ausgelöst wurde, welche sich gegen den Empfänger richteten. Man bezeichnete sie als Spender-gegen-Wirt-Krankheit (engl. *graft-versus-host-disease*, GvHD). Auch diese Beobachtung macht einen der wesentlichen Faktoren aus, die von Bedeutung für das heutige Konzept der allogenen SZT sind [7]. Im Jahr 1965



behandelten Mathé *et al.* [8] einen Leukämiepatienten mittels TBI und anschließender Knochenmarkgabe von sechs Verwandten. Das Stammzelltransplantat eines Bruders konnte sich im Empfängerorganismus etablieren. Der Patient erlangte eine Remission, verstarb jedoch schließlich an einer GvHD. Bortin *et al.* [7] veröffentlichten 1973 einen Bericht über mehr als 200 zwischen 1950 und 1962 durchgeführte allogene SZTs, deren Ergebnisse weitestgehend wirkungslos ausfielen: Bei 125 Patienten erfolgte kein Anwachsen des Transplantats, bei lediglich elf Patienten konnte ein zumindest partielles Anwachsen des Transplantats bestätigt werden, und nur drei Patienten waren zum Zeitpunkt der Berichterstattung noch am Leben. Fehlende Kenntnisse über die Konditionierung, die Gewebetypisierung bzw. das Humane Leukozytenantigen- (engl. *human leukocyte antigen*, HLA) System und die GvHD waren Grund für diese Ergebnisse. Den hohen Stellenwert der Gewebetypisierung konnten Epstein *et al.* [11] 1968 in Hunderversuchen beweisen, bei denen sie zeigten, dass sich eine passende Gewebetypisierung positiv auf das Resultat einer Transplantation auswirkt. Auch Thomas *et al.* [8] bestätigten 1975 die Wichtigkeit der Histokompatibilität von Spender und Empfänger zur Reduktion von GvHD und Transplantatabstoßungen. Auch diese Beobachtungen stellen einen Meilenstein in der Entwicklung der allogenen SZT dar [7]. Im Jahr 1979 berichteten Thomas *et al.* [12] über 19 an Akuter Myeloischer Leukämie (*acute myeloid leukemia*, AML) erkrankte Patienten, die in erster Remission eine SZT mit Zellen HLA-kompatibler Geschwister erhielten. Zum Zeitpunkt des Berichtes waren 12 von 19 Transplantierten in Remission. 1990 erhielt Thomas den Nobelpreis für Physiologie und Medizin für seine Forschung auf dem Gebiet der allogenen SZT [8]. Ab den Achtzigerjahren etablierte sich die Gabe von Ciclosporin A, meist im Verbund mit Methotrexat, zur Prophylaxe der GvHD, als weiterer Meilenstein zur Verminderung der transplantationsassoziierten Mortalität (TRM) [13, 7]. Die erste erfolgreiche SZT mit Zellen eines unverwandten Spenders wurde 1980 durchgeführt [8]. Um die Auswahl an unverwandten Stammzellspendern zu erweitern wurden Register eingeführt, die heute insgesamt über 30 Millionen HLA typisierte, potenzielle Spender weltweit aufweisen [8].

### 1.1.3 Indikationen

Die allogene SZT ist indiziert, wenn hinsichtlich des Therapieerfolges gegenüber alternativen Behandlungsmaßnahmen eine bessere Prognose besteht. Es muss eine Nutzen-Risiko-Abwägung stattfinden, bei der neben einer potenziellen

Lebensverlängerung sowohl die Lebensqualität, als auch mögliche Spätfolgen einer SZT evaluiert werden. Faktoren wie Komorbiditäten und Patientenalter, sowie die Spenderkompatibilität haben ebenfalls Einfluss auf die Indikationsstellung [14]. Im Folgenden werden die verschiedenen hämatologischen Indikationen für eine allogene SZT (Tab. 1) gemäß Empfehlung der European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) aufgelistet und der aktuelle Stand der Forschung hinsichtlich Indikationskategorien und Evidenzgraden aufgeführt. In welche Kategorie die jeweilige Erkrankung fällt, ist vor allem vom Remissionsstatus, bzw. der Risikosituation der Grunderkrankung abhängig [15, 14].

**Tab. 1:** Indikationen zur allogenen SZT. Modifiziert nach Duarte *et al.*, 2019.

Krankheit	Krankheitsstatus	MSD	MUD	MMUD
AML	CR1 (niedriges Risiko, MRD-)*	GNR/II	GNR/II	GNR/II
	CR1 (niedriges Risiko, MRD+)*	CO/II	CO/II	CO/II
	CR1 (intermediäres Risiko)*	S/II	CO/II	CO/II
	CR1 (hohes Risiko)*	S/II	S/II	S/II
	CR2	S/II	S/II	S/II
	APL molekulare CR2	S/II	CO/II	GNR/III
	Relaps oder refraktär	CO/II	CO/II	CO/II
ALL	Ph-, CR1 (Standardrisiko, MRD-)*	GNR/II	GNR/II	GNR/III
	Ph-, CR1 (Standardrisiko, MRD+)*	CO/II	CO/II	CO/II
	Ph-, CR1 (hohes Risiko)*	S/II	S/II	CO/II
	Ph+, CR1 (MRD-)	S/II	S/II	CO/II
	Ph+, CR1 (MRD+)	S/II	S/II	S/II
	CR2	S/II	S/II	S/II
	Relaps oder refraktär	CO/II	CO/II	CO/II
CML	CP1, Versagen TKI 2.- oder 3.-Linie	S/II	S/II	CO/III
	akzelerierte Phase, Blastenkrise oder >CP1	S/II	S/II	CO/II
Myelofibrose	primär/ sekundär (DIPSS intermediär/hoch)	S/II	S/II	S/III
MDS	RA, RCMD oder RAEB I/II	S/II	S/II	S/II
	sAML, CR1/2	S/II	S/II	S/II
	fortgeschrittene Stadien	S/II	S/II	S/II
CLL	hohes Risiko, nicht transformiert	S/II	S/II	CO/III
	Richter Transformation	S/III	S/III	CO/III
DLBCL	CR1 (IPI bei Diagnose intermediär/hoch)	GNR/III	GNR/III	GNR/III
	chemosensitiver Relaps, ≥CR2	CO/II	CO/II	D/III
	chemosensitiver Relaps, Versagen autologe SZT	S/II	S/II	CO/III

	refraktär	CO/II	CO/II	CO/III
	primäres ZNS Lymphom	GNR/III	GNR/III	GNR/III
FL	CR1, nicht transformiert	GNR/III	GNR/III	GNR/III
	CR1, transformiert zu hochgradigem Lymphom	GNR/III	GNR/III	GNR/III
	chemosensitiver Relaps, $\geq$ CR2	CO/III	CO/III	GNR/III
	$\geq$ CR2, Versagen autologe SZT	S/II	S/II	D/III
	refraktär	CO/II	CO/II	CO/III
MCL	CR1	GNR/III	GNR/III	GNR/III
	CR/PR >1, ohne autologe SZT	CO/III	CO/III	D/III
	CR/PR >1, nach autologe SZT	S/II	S/II	CO/III
	refraktär	CO/II	CO/II	D/III
MW	CR1	GNR/III	GNR/III	GNR/III
	chemosensitiver Relaps, $\geq$ CR2	GNR/III	GNR/III	GNR/III
	hohes Risiko	CO/II	CO/II	D/III
PTCL	CR1	CO/II	CO/II	GNR/III
	chemosensitiver Relaps, $\geq$ CR2	S/II	S/II	CO/III
	refraktär	CO/II	CO/II	CO/III
HL	CR1	GNR/III	GNR/III	GNR/III
	chemosensitiver Relaps, ohne autologe SZT	D/III	D/III	GNR/III
	chemosensitiver Relaps, nach autologer SZT	S/II	S/II	CO/III
	refraktär	D/II	D/II	D/III
MM	Standardrisiko	CO/II	CO/II	GNR/III
	hohes Risiko	S/III	S/III	CO/II
	chemosensitiver Relaps, nach autologer SZT	CO/II	CO/II	CO/II
erworbene SAA	neu diagnostiziert	S/II	CO/II	GNR/III
	refraktär oder rezidivierend	S/II	S/II	CO/II

#### Abkürzungen

ALL = akute lymphatische Leukämie, AML = akute myeloische Leukämie, APL = akute Promyelozyten Leukämie, CLL = chronische lymphatische Leukämie, CML = chronische myeloische Leukämie, CP = chronische Phase, CR 1/2 = erste/zweite komplette Remission, DIPSS = *Dynamic International Prognostic Score System*, DLBCL = diffus großzelliges B- Zell Lymphom, FL = Follikuläres Lymphom, HL = Hodgkin Lymphom, IPI = *International Prognostic Index*, MCL = Mantelzelllymphom, MDS = myelodysplastisches Syndrom, MM = Multiples Myelom, MMUD = teilkompatibler Fremdspender (engl. *mismatched unrelated donor*), MRD = Messbare Resterkrankung, MSD = kompatibler Geschwisterspender (engl. *matched sibling donor*), MUD = kompatibler Fremdspender (engl. *matched unrelated donor*), MW = Morbus Waldenström, Ph = Philadelphia-Chromosom, PR = Partielle Remission, RA = Refraktäre Anämie, RAEB = refraktäre Anämie mit Blastenexzess, RCMD = refraktäre Zytopenie mit multilineärer Dysplasie, sAML = sekundäre akute myeloische Leukämie, SAA = schwere aplastische Anämie, TKI = tyrosin kinase inhibitor, ZNS = zentrales Nervensystem

#### Indikationskategorien

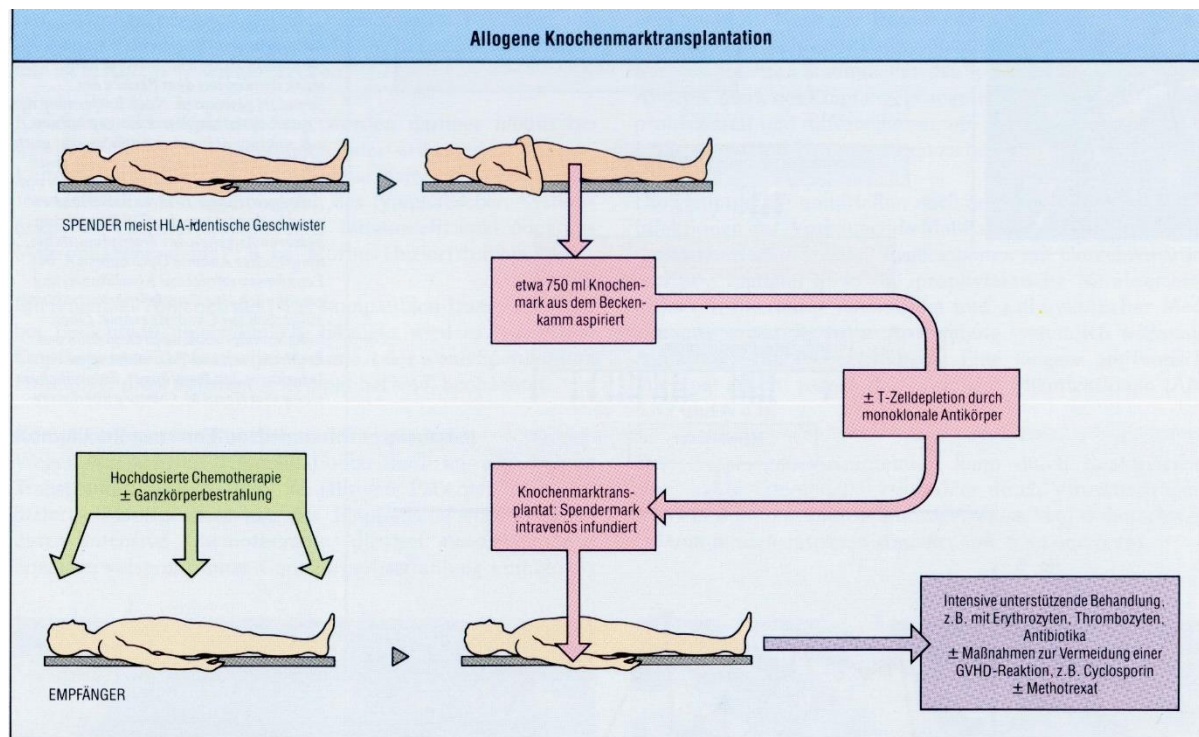
S = Standardindikation (evidenzbasierte, routinemäßige Behandlungsoption), CO = klinische Option (engl. *clinical option*; potenzielle Behandlungsoption nach Nutzen-Risiko-Abwägung), D = in der Entwicklung (engl. *developmental*; unklare Behandlungsoption mit limitierter klinischer Erfahrung, weitere Studien erforderlich), GNR = generell nicht empfohlen

### Evidenzgrade

Grad I = Evidenz aus mindestens einer gut konzipierten, randomisierten Studie, Grad II = Evidenz aus mindestens einer gut konzipierten, nicht-randomisierten Studie (Kohorten- oder Fallkontrollierte analytische Studien; Zeitreihenstudien oder eindruckliche Ergebnisse aus unkontrollierten Experimenten), Grad III = Evidenz aus Meinungen angesehener Autoritäten (beruhend auf klinischen Erfahrungen, deskriptiven Studien oder Berichten von Expertengremien)

\* Kategorien basieren auf Leukozytenzahl, Zytogenetik und molekularen Markern bei Diagnose, sowie der erwarteten Dauer, um eine Remission zu erreichen.

## 1.1.4 Durchführung



**Abb. 1:** Durchführung der allogenen SZT anhand des Beispiels einer Transplantation mit Knochenmark als Stammzellquelle[16].

Zur Durchführung der SZT (Abb. 1) [16] wird dem Spender, vorzugsweise einem HLA-kompatiblen Geschwisterspender, ursprünglich Knochenmark aus dem Beckenkamm entnommen. Statt Knochenmark dienen heutzutage überwiegend periphere Blutstammzellen als Transplantat, die nach Mobilisierung aus dem Knochenmark über eine Leukapherese, ein Verfahren das gezielt Leukozyten vom restlichen Blut separiert, gewonnen werden. Da hämatopoetische Stammzellen CD34 auf ihrer Oberfläche exprimieren, gilt die Anzahl der CD34+ Zellen im Transplantatmaterial als Indikator für den Gehalt von hämatopoetischen Stammzellen. Die Mobilisierung der Stammzellen aus dem Knochenmark ins periphere Blut erfolgt über hämatopoetische Wachstumsfaktoren, wie beispielsweise den Granulozyten-

Kolonie-stimulierenden Faktor (G-CSF). Nach erfolgreicher Konditionierung mittels einer Hochdosis-Chemotherapie, ggf. in Kombination mit einer TBI, wird dem Empfänger das Stammzelltransplantat nun intravenös transfundiert [17, 18]. Es schließt sich eine supportive Therapie an, die möglicherweise Transfusionen (z.B. Thrombozyten, Erythrozyten), eine GvHD Prophylaxe (Methotrexat Cyclosporin A), antimikrobielle Prophylaxen und Bedarfsmedikationen umfasst [19, 7, ,2].

### 1.1.5 Spenderauswahl

#### 1.1.5.1 Hierarchie der Merkmale

Was die Hierarchie der einzelnen Merkmale zur Spenderauswahl betrifft, so stellt laut EBMT Handbuch die HLA Kompatibilität das wichtigste Auswahlkriterium bei unverwandten Stammzellspendern dar, gefolgt vom Spenderalter und dem Cytomegalievirus- (CMV-) Serostatus [20]. Es folgt die Geschlechterkonstellation von Empfänger und Spender. Von weniger Bedeutung für das Ergebnis der SZT und somit von geringerer Relevanz für die Spenderauswahl, ist eine Übereinstimmung der Blutgruppen [20]. Im Folgenden sind die jeweiligen Merkmale in der genannten Reihenfolge näher erläutert.

#### 1.1.5.2 Humane Leukozyten Antigene (HLA)

HLAs wurden erstmals 1958 von Jean Dausset, Jon van Rood, und Rose Payne beschrieben [21]. Auf Grund von serologischen Tests, bei denen Antikörper viele, aber nicht alle Leukozyten agglutinierten, wurde auf ein polymorphes Antigen System auf den Leukozyten geschlossen, was zu dem Begriff HLAs führte [22]. Die HLAs spielen durch immunologische Mechanismen eine Rolle beim Prozess des Anwachsens oder einer Abstoßung eines Transplantats [23]. Die Übereinstimmung der Spender und Empfänger HLAs beeinflussen diese Mechanismen wesentlich und sind somit entscheidend für das Ergebnis der SZT. Jedes Elternteil vererbt einen Haplotyp HLA Allele. [21, 20] Diese HLA Gene liegen alle auf dem Chromosom 6 und werden somit jeweils zusammen vererbt [23]. Die Wahrscheinlichkeit für zwei Geschwister, übereinstimmende HLAs zu haben, liegt also bei 25% [20]. Zur Beurteilung der HLA-Übereinstimmung zwischen Spender und Empfänger werden gegenwärtig 5 HLA-

Gene (HLA-A, HLA-B, HLA-CW, HLA-DR und HLA-DQ) untersucht. Bei zwei Allelen sind es also insgesamt 10 Merkmale. Stimmen Spender und Empfänger in beiden Allelen dieser untersuchten HLA-Gene überein, so liegt eine HLA- Kompatibilität vor [20, 24].

Bevorzugt werden HLA kompatible Geschwister (engl. *matched related donor*, MRD) als Stammzellspender gewählt. [20]. Bei der Familienspendersuche werden die HLA-Merkmale der Geschwister untersucht. Gilt es einen nicht-verwandten Spender ausfindig zu machen, so werden die nationalen und internationalen Register zur Suche eingesehen [24]. Bei unverwandten Spendern, also Fremdspendern, gibt es zum einen die HLA kompatiblen Fremdspender (engl. *matched unrelated donor*, MUD). Zum anderen gibt es ab einem Mismatch die teilkompatiblen Fremdspender (engl. *mismatched unrelated donor*, MMUD) [24, 20]. In Abhängigkeit vom Erkrankungsstadium werden Spender mit bis zu zwei Mismatches akzeptiert [24].

#### 1.1.5.3 Cytomegalievirus-Serostatus

Auch die Kombination des CMV Serostatus von Spender und Empfänger hat Einfluss auf das Transplantationsergebnis, weshalb eine Übereinstimmung des CMV-Serostatus empfohlen wird. So führt insbesondere die Konstellation eines CMV seropositiven (+) Empfängers und eines seronegativen (-) Spenders zu häufigen CMV Reaktivierungen mit konsekutiven Problemen [25].

#### 1.1.5.4 Spenderalter

Bei Transplantationen mit unverwandten Spendern ist das Spenderalter ebenso ein relevantes Kriterium. Volontäre, die im Spenderpool registriert sind, dürfen ein Alter von 60 Jahren nicht überschreiten. Spenderzentren suchen vermehrt nach jüngeren Volontären für Stammzellspenden, da ein jüngeres Spenderalter mit einem besseren Überleben nach der SZT assoziiert ist [26, 27]. Beispielsweise zeigte sich in einer Studie von Wang *et al.* [20], die das 2-Jahres-Überleben von Stammzellempfängern beobachtete, ein 3% besseres Überleben von Patienten, bei denen ein 10 Jahre jüngerer Spender gewählt worden war.

#### 1.1.5.5 Geschlechterkonstellation

Auch die Geschlechterkonstellation von Empfänger und Spender ist von Bedeutung für die Spenderauswahl. So wird es vermieden, einem männlichen Empfänger die Zellen einer weiblichen Spenderin zu transplantieren. Der Grund hierfür besteht in der Allo- Immunisierung, also der Bildung von Antikörpern, in diesem Fall gegen fetale Minor Histokompatibilitätsantigene (spezifische Zielstrukturen, die von HLAs präsentiert werden) bei Frauen nach einer zurückliegenden Schwangerschaft. Dies wiederum begünstigt die Entwicklung einer GvHD [28].

#### 1.1.5.6 Blutgruppenkompatibilität

Eine Transplantation mit ABO Inkompatibilität zwischen Empfänger und Spender kann je nach Konstellation zu verschiedenen klinischen Folgen führen. Sind Empfänger Antikörper gegen Spender Erythrozyten vorhanden, so kann es potenziell zur akuten Hämolyse der Erythrozyten im Transplantat, sowie einem verzögerten Engraftment der Erythrozyten kommen. Eine mögliche Prophylaxe besteht hier in der Erythrozytendepletion des Transplantats. Im Falle von bestehenden Spender Antikörpern gegen die Erythrozyten des Empfängers, kann das mit infundierte Spenderplasma eine hämolytische Reaktion der Empfänger Erythrozyten verursachen. In diesem Szenario kann zur Prävention eine Plasmareduktion des Transplantats erfolgen [29]. In den letzten Jahren hat sich die Komplikationsrate verringert. Heute ist der Einfluss von ABO Blutgruppen Kompatibilität in der SZT als moderat einzustufen. Es wird vermutet, dass dies mit dem abnehmenden Gebrauch von Knochenmark als Stammzellquelle zusammenhängt [30, 31, 29, 20]. Sollte Knochenmark als Stammzellquelle dienen und eine ABO Inkompatibilität zwischen Empfänger und Spender vorliegen, bei der Antikörper gegen die Blutgruppe des Spenders im Empfängerplasma bestehen, ist nach heutigem Vorgehen eine Reduktion der Erythrozyten im Transplantat indiziert [18, 29].

### 1.2 Die Konditionierung

Die Konditionierung ist die der SZT unmittelbar vorausgehende Behandlung. Konditionierungen unterscheiden sich sowohl in Zusammensetzung und Intensität der

Therapeutika als auch in der Dauer der Verabreichung. Typischerweise besteht die Konditionierung aus einer Chemotherapie oder einer Ganzkörperbestrahlung ggf. auch in einer Kombination dieser beiden Behandlungsmethoden [5]. Durch die Konditionierung soll Folgendes erreicht werden:

- 1) Die Eradikation des hämatologischen Malignoms, vorausgesetzt es liegt eine maligne Grunderkrankung als Indikation zur allogenen SZT vor.
- 2) Die Gewährleistung einer ausreichenden Immunsuppression, um sowohl die Abstoßung des Transplantats oder eine GvHD zu verhindern, als auch das Engraftment zu ermöglichen (unter Engraftment versteht man den Prozess des Anwachsens sowie der Proliferation und Differenzierung der transplantierten Stammzellen. Dieses Anwachsen erfolgt in sog. Stammzellnischen (engl. *stem cell niche*) im Knochenmark).
- 3) Die Bereitstellung von Stammzellnischen im Knochenmark des Empfängers für die neuen Stammzellen.

Ob der dritte Punkt notwendig bzw. maßgeblich für ein erfolgreiches Engraftment ist, wird allerdings kontrovers diskutiert [5, 1, 32]. Die Wirkung der Konditionierungsprotokolle ist ursprünglich myeloablativer Natur. Von Nachteil ist, dass myeloablative Konditionierungsregime mit hoher Organ- und transplantationsbezogener Toxizität einhergehen. Dies limitiert den Einsatz der allogenen SZT bei älteren Patienten mit reduziertem Allgemeinzustand. In den letzten zwei Jahrzehnten wurden sowohl nicht-myeloablative als auch intensitätsreduzierte Konditionierungsschemata entwickelt. Bei den erwähnten Schemata handelt es sich um relativ verträgliche Substanzkombinationen, deren primäres Ziel nicht in der vollständigen Eradikation der Empfängerhämatopoese (Myeloablation), sondern in einer ausreichenden Immunsuppression liegt, die ein Engraftment der transplantierten Zellen ermöglicht. Hierdurch soll insgesamt eine anti-maligne Wirkung, bzw. der GvL-Effekt gewährleistet und gleichzeitig die organ- und transplantationsassoziierte Toxizität verringert werden, um älteren Patienten und Patienten mit reduziertem Allgemeinzustand eine allogene SZT zu ermöglichen [1]. Die Konditionierung wird risikoadaptiert, mit individuell angepasster Intensität durchgeführt [5].

Zur Einteilung der Intensität der Konditionierungsregime besteht eine Arbeitsdefinition, welche zwischen den folgenden Kategorien unterscheidet:



- 1) Myeloablative Konditionierung: Bei dieser Form werden Chemotherapeutika eingesetzt, teils in Kombination mit Ganzkörperbestrahlung. Diese Art der Konditionierung zerstört das Knochenmark irreversibel. Sie verursacht tiefgreifende Zytopenien, die bis zu 21 Tage andauern und eine SZT zur Genesung erforderlich machen. Ein Beispiel für diese Konditionierungsform ist das Konditionierungsschema aus Busulfan und Cyclophosphamid (Bu, Cy). Die myeloablative Konditionierung wird bei aggressiven Neoplasien unter dem Ziel einer optimalen Krankheitskontrolle bei geeigneten Patienten eingesetzt. Wird eine Ganzkörperbestrahlung verabreicht, so ist es wichtig, diese zu fraktionieren und eine Obergrenze von maximal 12 Gray (Gy) einzuhalten [1, 5].
- 2) Nicht-myeloablative Konditionierung: Diese Form der Konditionierung zeichnet sich durch minimale Hämatotoxizität und somit sehr geringer Zytopenie des Knochenmarks aus. Ein Beispiel für diese Konditionierungsform ist das Konditionierungsschema aus Ganzkörperbestrahlung mit 2 Gy und Fludarabin (TBI 2Gy, Flu). Diese Konditionierung hat keinen wesentlichen antineoplastischen Effekt und eine geringe Organtoxizität. Trotz der geringen Intensität ermöglichen die Regime das Anwachsen von Spender-Stammzellen und die komplette Ersetzung des hämatopoetischen Systems des Empfängers [1, 5].
- 3) Intensitätsreduzierte Konditionierung: Sie fällt weder in die Kategorie der myeloablativen, noch in die der nicht-myeloablativen Regime. In dieser Kategorie sollte die Chemo- bzw. Bestrahlungstherapie im Vergleich zu der myeloablativen Konditionierung um mindestens 30% verringert sein. Ein Beispiel für diese Konditionierungsform ist das Konditionierungsschema Fludarabin und Melphalan (Flu, Mel) [33, 5, 1].

### 1.3 Die Spender-gegen-Wirt-Krankheit (GvHD)

#### 1.3.1. Die GvHD

Die GvHD stellt eine potenziell lebensbedrohliche Komplikation der allogenen SZT dar. Sie ist eine führende Ursache für die Nicht-Rezidiv-assoziierte Mortalität und geht mit einer hohen Morbidität einher, welche die Lebensqualität intensiv beeinträchtigen kann [34, 35]. Bei der GvHD erkennen immunkompetente T Zellen des Spenders das Empfängergewebe und schädigen es. Die GvHD äußert sich in

heterogenen Symptomen und kann verschiedene Organsysteme betreffen [36, 37]. Die zwei Formen der GvHD werden in den folgenden Abschnitten näher erläutert.

### 1.3.2 Akute GvHD

Laut der EBMT tritt die klassische Form der aGvHD innerhalb der ersten 100 Tage nach der Transplantation auf [38]. Besteht oder beginnt eine aGvHD nach Tag 100, so handelt es sich um eine persistierende, wiederkehrende oder „late onset“ aGvHD [38]. Die aGvHD betrifft in der Regel die Haut, den Darm und die Leber in Form verschiedener klinischer Manifestationen (Tab. 2) [38, 39].

**Tab. 2:** Übersicht über Organmanifestationen der aGvHD. Modifiziert nach Holler *et al.*, 2019.

Organ	Klinische Manifestation
Haut	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erythematöser, makulopapulöser Ausschlag</li> <li>• Initial häufig die Handflächen und Fußsohlen betreffend</li> <li>• Möglicherweise über die gesamte Körperoberfläche fortschreitend, pruritisch und/oder dolent</li> <li>• In schweren Fällen Bullae-bildend, die zu Hautschuppung führen</li> </ul>
Leber	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cholestase mit/ohne Ikterus</li> <li>• Cholestatische Enzyme vergleichsweise stärker gestört als Transaminasen</li> </ul>
Gastrointestinaltrakt (GI)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anorexie, Übelkeit und Erbrechen</li> <li>• Durchfall, typischerweise grün und wässrig</li> <li>• In schweren Fällen Hämatochezie (blutiger Durchfall), Bauchkrämpfe und gelegentlich paralytischer Ileus</li> </ul>

Die aGvHD präsentiert sich in den verschiedensten Ausprägungen. Sie variiert von leichten Symptomen bis zu potenziell tödlicher Manifestation. Durch die komplexe medizinische Beeinträchtigung der allogenen Transplantierten kann es schwierig sein, die aGvHD von anderen Komplikationen, wie z.B. einer Infektion oder Folgen von Substanztoxizität, abzugrenzen. Daher ist in der Regel eine Biopsie der betroffenen Organe zur Diagnosestellung erforderlich [38]. Die Einteilung der organspezifischen Schweregrade der aGvHD reicht von Grad 0 bis 4 (Tab. 3) [38]. Der Gesamtschweregrad, der von Grad I-IV reicht, ergibt sich aus der Ausprägung und der Kombination der Organmanifestationen (Tab. 4) [38].

**Tab. 3:** Einteilung des Schweregrades der aGvHD, organspezifisch. Modifiziert nach Glucksberg *et al.*, 1974.

<b>Schweregrad</b>	<b>Haut</b> (Ausprägung gemessen am makulopapulösen Ausschlag)	<b>Leber</b> (Ausprägung gemessen am Bilirubinanstieg)	<b>Gastrointestinaltrakt</b> (Ausprägung gemessen an der Stuhlmenge)
1	< 25% Hautoberfläche	34-50 µmol/L	500-1000 mL
2	25-50% Hautoberfläche	51-102 µmol/L	1001-1500 mL
3	Generalisierte Erythrodermie	103-255 µmol/L	>1500 mL
4	Generalisierte Erythrodermie mit Bullae und Hautschuppung	>255 µmol/L	Starke abdominelle Schmerzen mit/ohne Ileus

**Tab. 4:** Einteilung des Gesamtschweregrades der aGvHD. Modifiziert nach Glucksberg *et al.*, 1974.

<b>Gesamtschweregrad</b>	<b>Betroffene Organe</b>
I	Haut 1-2
II	Haut 1-3, GI und/oder Leber 1 Milde Minderung des Allgemeinzustandes
III	Haut 2-3, GI und/oder Leber 2-3 Deutliche Minderung des Allgemeinzustandes
IV	Haut 2-4, GI und/oder Leber 2-4 Extreme Minderung des Allgemeinzustandes

### 1.3.3 Chronische GvHD

Zum anderen gibt es die chronische GvHD (cGvHD). Obwohl ein früherer Beginn möglich ist, setzt die cGvHD in der Regel zwischen 3 Monaten und zwei Jahren nach der allogenen SZT ein [40]. Entwickelt sie sich direkt aus einer akuten GvHD, dann liegt ein sogenanntes ‚overlap syndrome‘ vor, bei dem unter Therapie eine schlechtere Prognose beobachtet wurde, als bei der de-novo cGvHD [38, 41]. Die cGvHD stellt die häufigste Langzeitkomplikation nach allogener SZT dar und führt zu erhöhter Langzeitmorbidity und Mortalität [42]. Bis zu 50% der allogenen Transplantierten erkranken an einer cGvHD [40]. Neben den häufigsten Manifestationen, die in Form vielfältiger Symptome vorrangig die Haut, Augen, Mundschleimhaut, Leber, GI Trakt, Genitalien, Lunge, Gelenken und Faszien betreffen (Tab. 5), kann die cGvHD beinahe jede Autoimmunkrankheit imitieren, unter anderem Myasthenia gravis. Diagnostiziert wird die cGvHD auf Grundlage der Symptome der in Tabelle 5 genannten Organe, außerdem in Zusammenschau mit Lungenfunktionstests und Laborwerten (für hepatische Manifestationen) [40].

**Tab. 5:** Übersicht der Organmanifestationen der cGvHD. Modifiziert nach Wolff *et al.*, 2019.

<b>Organ</b>	<b>Manifestation</b>
Haut	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Am häufigsten beteiligtes Organ</li> <li>• Erythem, makulopapulöser Ausschlag, Juckreiz (Überschneidung mit Symptomen der aGvHD)</li> <li>• Vielzählige (nicht-)sklerotische Phänotypen, welche bekannte chronische Entzündungs- und Autoimmunerkrankungen imitieren</li> </ul>
Auge	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Keratitis sicca (Atrophie der Tränendrüse)</li> <li>• Blepharitis der Meibomdrüsen und Augenlider</li> <li>• Fibrotische Veränderungen der Bindehaut und chronisch persistierende Entzündung mit Erythem</li> </ul>
Mundschleimhaut	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erythem oder lichenoiden Veränderungen, sowie Ulzera und Mukozelen der Mundschleimhaut</li> <li>• Sicca Symptome durch Zerstörung der Speicheldrüsen</li> <li>• Langfristig ggf. Gingivitis, Parodontitis, vermehrt Karies und Zahnverlust</li> </ul>
Leber	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cholestase, ggf. der primär biliären Zirrhose ähnelnd</li> <li>• hepatitische Formen mit hohen Transaminasen möglich</li> </ul>
Gastrointestinaltrakt	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dysphagie, Übelkeit und Erbrechen</li> <li>• Chronischer Durchfall und Malabsorptionssyndrom</li> <li>• Gelegentlich Manifestation als immunvermittelte Pankreatitis</li> </ul>
Genitalien	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Symptome ähneln dem genitalen Lichen Planus</li> <li>• Ggf. vaginale Synechien, Ulzerationen und Fissuren</li> </ul>
Lunge	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Progressive, irreversible Obstruktion (Bronchiolitis obliterans)</li> <li>• Seltener lymphozytäre Alveolitis mit interstitieller Fibrose oder Bronchiolitis obliterans mit organisierender Pneumonie</li> </ul>
Gelenke und Faszien	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eingeschränkte Gelenkbeweglichkeit durch Fasziiitis oder tiefe kutane Sklerose (ggf. Assoziation mit rheumatoiden Beschwerden)</li> </ul>

Der Gesamtschweregrad der cGvHD wird in mild, moderat und stark eingeteilt. Diese Einteilung wird anhand der Anzahl der betroffenen Organe und des Schweregrads ihrer Beteiligung berechnet. So ist bei einer Beteiligung von bis zu zwei Organen von einer milden Form der cGvHD auszugehen. Ab drei betroffenen Organen handelt es sich abhängig vom Schweregrad der Organmanifestationen um eine moderate oder starke cGvHD (Tab. 6) [40].

**Tab. 6:** Einteilung des Gesamtschweregrades der cGVHD. Modifiziert nach Wolff *et al.*, 2019.

<b>Gesamtschweregrad</b>	<b>mild</b>	<b>moderat</b>	<b>stark</b>
Anzahl betroffener Organe	1-2	≥3	≥3
Schweregrad der betroffenen Organe	Mild (außer Lunge)	Mild-moderat (Lunge: Nur mild)	Schwer (Lunge: Moderat-schwer)

Neben dem Schaden, den die cGvHD verursacht, hat sie auch einen protektiven Effekt, da Patienten mit cGVHD teilweise geringere Rezidivraten ihrer bösartigen Grunderkrankung haben. Das Gesamtüberleben von Patienten, die wegen maligner Erkrankungen allogent transplantiert wurden, und anschließend eine leichte cGvHD entwickeln, ist daher besser als das von Patienten ohne cGVHD [40]. Dieser Effekt, bei dem eine Immunkontrolle der verbliebenen malignen Zellen eintritt, wird graft-versus-leukaemia- (GvL-) Effekt genannt [21].

#### 1.4 Der Chimärismus

Im Zusammenhang mit der Transplantation wurde der Begriff „Chimäre“ erstmals 1956 von Ford verwendet [43]. Der Begriff stammt ursprünglich aus der griechischen Mythologie und beschreibt ein feuerspuckendes Monster mit dem Körper einer Ziege, dem Kopf eines Löwen und dem Schwanz einer Schlange [44]. Im medizinischen Kontext beschreibt der Begriff „Chimäre“ heute einen Organismus, der die DNA zweier verschiedener Lebewesen in sich trägt, wie es zum Beispiel der Fall nach allogener SZT ist [45].

Um zu ermitteln, ob der Genotyp der Hämatopoese nach erfolgter Transplantation überwiegend der DNA des Spenders oder Empfängers zuzuordnen ist, wird die Analyse des Chimärismus durchgeführt. Lange Zeit war man der Überzeugung, es müsse eine komplette Spender Hämatopoese vorhanden sein, um das Engraftment nach erfolgter allogener SZT aufrechtzuerhalten. Später verstand man, dass dies auch unter koexistierender Spender- und Empfänger-Hämatopoese der Fall sein kann. Diese Koexistenz der Zellen wird als „gemischter Chimärismus“ bezeichnet. Wenn alle Zellen dem Spender zugeordnet werden können, so ist dies ein „kompletter Chimärismus“. Der Chimärismus kann sich mit der Zeit verändern. So kann beispielsweise ein kompletter Chimärismus in einen gemischten Chimärismus übergehen und andersherum [44, 32]. Es gibt noch weitere Formen des Chimärismus,

die sich nach einer Transplantation entwickeln können. Tabelle 7 gibt einen Überblick über die verschiedenen Varianten [45].

**Tab. 7:** Formen des Chimärismus. Modifiziert nach Bader *et al.*, 2016.

<b>Form des Chimärismus</b>	<b>Zellzusammensetzung</b>
kompletter Chimärismus	Sämtliche Zellen des blutbildenden Systems entstammen dem Spender.
Chimärismusverlust	Vollständiger Verlust eines zuvor zumindest teilweise vorhandenen Spenderchimärismus.
stabiler gemischter Chimärismus	Ein sich stabil haltender Chimärismus mit koexistierender Hämatopoese von Spender und Empfänger.
progressiver gemischter Chimärismus	Ein gemischter Chimärismus mit konstant abnehmendem Spenderanteil.
Splitchimärismus	Sämtliche Zellen des blutbildenden Systems entstammen dem Spender mit Ausnahme einer Zellreihe des Spenders.

### 1.5 Aktueller Stand der Wissenschaft: Einflussfaktoren der allogenen SZT auf den Chimärismus

Im folgenden Kapitel wird ein Überblick über den aktuellen Stand der Literatur bezüglich der Einflussfaktoren der allogenen SZT auf den Chimärismus gegeben. Mehrere Autoren beobachteten, dass ein kompletter Spenderchimärismus häufiger vorkam, wenn die Stammzellen von einem unverwandten Spender stammten, bzw., dass ein größerer Anteil der Patientenkohorte mit prädominanten Empfängerchimärismus die Stammzellen von einem Geschwisterspender erhalten hatte [46, 47]. Diverse Arbeitsgruppen untersuchten einen eventuellen Einfluss des Geschlechts des Empfängers auf den Chimärismus, konnten jedoch keinen Zusammenhang zwischen den beiden Faktoren finden [48–50]. Eine Studie von Levrat *et al.* [49] erkannte die Kombination aus einem weiblichen Spender und männlichen Empfänger als einen Faktor, der zu einem geringeren Vorkommen von gemischtem Chimärismus führte. Sellar *et al.* [51] berichteten über Unterschiede im Chimärismus, abhängig von der CMV Serostatuskonstellation. Sie führten einen Vergleich des Chimärismus zwischen verschiedenen CMV Konstellationen durch und fanden heraus, dass ein höherer Empfängerchimärismus tendenziell bei der Konstellation eines CMV positiven Empfängers und eines CMV negativen Spenders vorhanden war. Ansonsten

ist die Studienlage zum Einfluss des CMV Status auf den Chimärismus zurzeit unzureichend. Über fehlende Zusammenhänge zwischen dem Chimärismus und Komponenten wie dem Alter des Empfängers, der Blutgruppenkompatibilität von Empfänger und Spender und dem Vorliegen von HLA Mismatch(es), berichteten diverse Autoren [48, 49, 46, 50, 52]. Rezvani *et al.* [53] untersuchten den Zusammenhang zwischen Spenderalter und Chimärismus, wobei sie zu keinem signifikanten Ergebnis kamen. Ansonsten ist die Studienlage zu diesem Thema derzeit unzureichend. In den Studien, die sich mit dem Einfluss des Konditionierungsregimes auf den Chimärismus aller Zellreihen befassten, wurden Konditionierungsregime verschiedener Intensität verglichen. Das Ergebnis war einheitlich: Die Patienten mit der jeweils intensiveren Konditionierung erreichten in der Regel eher einen kompletten Spenderchimärismus bzw. wurde bei den Patienten mit den Behandlungsregimen mit der geringeren Intensität häufiger ein gemischter Chimärismus festgestellt [54, 55]. Lediglich eine Studie, in der ausschließlich Patienten mit nicht-malignen Erkrankungen eingeschlossen wurden, zeigte vorrangig einen kompletten Spenderchimärismus bei vorhergegangener Behandlung mit intensitätsreduziertem Konditionierungsregime gegenüber der Verwendung eines myeloablativen Regimes [56]. Wieder andere Arbeitsgruppen, die den Chimärismus einzelner Zellreihen untersuchten, fanden keinen Unterschied hinsichtlich der Ausbildung eines kompletten oder gemischten Chimärismus und den jeweils verglichenen Konditionierungsintensitäten [49, 57]. Bezüglich der Anzahl der verabreichten CD34+ Zellen und dem Zusammenhang zum Chimärismus gibt es sowohl Studien, die eine positive Korrelation zwischen der Anzahl an CD34+ Zellen und dem Spenderchimärismus beschreiben, als auch solche, die keinen Zusammenhang zwischen beiden Faktoren sahen [56, 58]. Hinsichtlich der Regeneration bzw. des Engraftments der Leukozyten stellte eine Studie, die jeweils das Engraftment der neutrophilen Granulozyten untersuchte fest, dass ein schnelleres Engraftment in den Gruppen mit komplettem Spenderchimärismus eintrat [56]. Eine aGvHD oder cGvHD trat laut Studienlage häufiger im Zusammenhang mit einem kompletten bzw. höherem Level an Spenderchimärismus auf. Dies ergaben sowohl Studien, die den Chimärismus aller Zellreihen untersuchten als auch solche, die spezifisch den T-Zellchimärismus betrachteten [59]. Ein gemischter Chimärismus ging im Gegenzug mit einem geringeren Vorkommen von aGvHD oder cGvHD einher [60]. Zwei weitere Studien wiederum konnten keinen Zusammenhang zwischen dem T-Zell Chimärismus Level und dem Auftreten einer aGVHD oder cGVHD finden [47, 61].

Inwiefern der Chimärismus mit dem Rezidivrisiko zusammenhängt, beschrieben einige Autoren, die hierzu speziell den T-Zell Chimärismus untersuchten und zu dem Grundkonsens kamen, dass ein höherer T-Zell Spenderchimärismus gleichzeitig ein geringeres Rezidivrisiko bedeutete bzw. ein besseres progressionsfreies Überleben [59]. Mit diesen Beobachtungen stimmten auch Arbeiten von Autoren überein, die statt des T-Zell Chimärismus den Chimärismus aller Zellreihen untersuchten. Auch hier ereigneten sich in den jeweiligen Studien bei höherem Spenderchimärismus weniger Rezidive [60, 48].

#### 1.6 Zielsetzung der Arbeit

Diese Arbeit untersucht die Korrelation zwischen Daten der allogenen SZT und dem Chimärismus. Der Einfluss der einzelnen Transplantationseigenschaften auf den Chimärismus ist bereits Gegenstand diverser Studien. Mit ihren Ergebnissen soll diese Arbeit einen ergänzenden Beitrag zu zukünftigen Transplantationsstrategien leisten.



## 2 Material und Methoden

### 2.1 Studie und Patientenkollektiv

Die vorliegende wissenschaftliche Arbeit ist eine retrospektive Datenanalyse, mit dem Titel „Chimärismus nach allogener Stammzelltransplantation - Einflussfaktoren“. Ziel dieser Arbeit war es, herauszufinden, ob und in welcher Form bestimmte Parameter mit dem Chimärismus korrelieren.

Im Rahmen dieser Studie an der Medizinischen Fakultät der Universität Greifswald wurden die Daten aller Patienten erfasst, die zwischen März 1999 und Dezember 2015 in der Klinik für Hämatologie und Onkologie der Universitätsmedizin Greifswald aufgrund einer hämatoonkologischen Erkrankung (siehe Anhang 8.1) stammzelltransplantiert wurden. Bis März 1999 reicht die systematische Dokumentation der SZT-Patienten zurück, die Gegenstand dieser Studie sind. Ferner wurden sämtliche SZTs bis einschließlich Dezember 2015 inkludiert, um bei allen Patienten einen ausreichenden Zeitraum zur Beobachtung von Aspekten wie beispielsweise dem Auftreten einer cGvHD nach der Transplantation zu schaffen. Die Daten der Nachbeobachtung wurden bis einschließlich Dezember 2016 in die Auswertung mit einbezogen. Hieraus ergab sich initial ein Kollektiv von 257 Patienten. Abschließend erfolgte die Exklusion unvollständiger Datensätze, sowie der Datensätze von Patienten, bei denen ab Tag 57 keine Chimärismussmessungen vorlagen, sodass das Patientenkollektiv insgesamt 137 Patienten umfasste.

### 2.2 Studienaufbau

Systematisch wurden die in Tabelle 8 aufgeführten Daten aus den archivierten Akten, den Ambulanzakten und den Arztbriefen in einer Excel-Tabelle zusammengefasst. Sowohl die Daten der allogenen transplantierten Empfänger, als auch die der Stammzellspender wurden erfasst. Bei einer Verwandtschaft zwischen Spender und Empfänger waren die relevanten Daten durch die Universitätsklinik Greifswald erhoben worden. Für nicht verwandte Stammzellspender wurden die Unterlagen der jeweiligen nationalen, teilweise internationalen Entnahmezentren eingesehen (z.B. Deutsche Knochenmarksspenderkartei, DKMS). Fehlende Daten der Patienten wurden durch direkte Nachfrage bei weiterbehandelnden Ärzten ergänzt.

Die in Tabelle 8 angegebenen Variablen werden im weiteren Verlauf des Kapitels näher erläutert.

**Tab.8:** Erhobene Variablen

Kovariate	Ausprägungen
Geschlecht Empfänger	männlich; weiblich
Geschlecht Spender	männlich; weiblich
Alter Empfänger	Jahre
Alter Spender	Jahre
Blutgruppe Empfänger	A; B; AB; 0
Blutgruppenkompatibilität Empfänger und Spender (beide 0, beide A, beide B oder beide AB)	ja; nein
CMV Serostatus Konstellation Empfänger und Spender	E-/S-; E-/S+; E+/S-; E+/S+
Spendertyp	verwandt; unverwandt
HLA Mismatch	ja; nein
Konditionierungsregime	myeloablativ; intensitätsreduziert; nicht-myeloblativ
Antikörper	Alemtuzumab, ATG Fresenius (Grafalon®), ATG Genzyme (Thymoglobuline®), keine Antikörpergabe
CD34+ Zellzahl	Zellzahl x 10 <sup>6</sup> /kg KG
Dauer bis zum Leukozyten Engraftment	Tage
Vorkommen aGvHD	ja; nein
Vorkommen cGvHD	ja; nein
Bestes Remissionsergebnis nach SZT	CR, PR, SD, PD
Vorkommen Rezidiv oder Progress	ja; nein

## 2.3 Chimärismus

Die Chimärismusanalyse erfolgte mit dem AmpFISTR® Identifier® PCR Amplification Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), einem STR (Short Tandem Repeats) Multiplex-Assay. Ein Multiplex-Assay kann simultan mehrere DNA Regionen amplifizieren [62]. Es erfolgte also eine Polymerase-Kettenreaktion (engl. *polymerase chain reaction*, PCR) basierte Vervielfältigung der STRs [44]. Daraufhin wurde eine Elektrophorese der PCR Produkte mit dem 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) mit anschließender Auswertung durch die Gene

Mapper Software 5 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) durchgeführt [63]. Durch dieses Prozedere war die Angabe des Spenderchimärismus in Prozent der analysierten Referenz-DNA möglich. Die Chimärismusanalysen erfolgten meist mehrmals, jeweils an verschiedenen (nicht einheitlichen) Zeitpunkten nach der allogenen SZT. Alle im zeitlichen Verlauf verfügbaren Chimärismusanalysen wurden in die Auswertung mit einbezogen.

Ein Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  wurde als ein kompletter Chimärismus, und ein Spenderchimärismus von  $< 95\%$  als ein gemischter Chimärismus definiert [64]. Nach dieser Definition wurden die Ergebnisse in zwei Kategorien aufgeteilt. Für die späteren Berechnungen war also von Relevanz, ob das Zielereignis eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  erreicht worden war oder nicht.

## 2.4 Transplantationseigenschaften und -biologie von Empfänger und Spender

Alter, Geschlecht und Blutgruppe von Empfänger und Spender zum Zeitpunkt der Transplantation wurden aus den archivierten Daten entnommen und in die Excel Tabelle eingefügt. Außerdem wurde dokumentiert, ob der Stammzellspender verwandt oder nicht verwandt mit dem Empfänger war. Durch Einsicht der Patientendaten der Mikrobiologie der Universitätsmedizin Greifswald und, im Falle eines unverwandten Spenders, der Unterlagen der jeweiligen Entnahmezentren, wurde der CMV-Immunglobulin G-Status für Empfänger und Spender ermittelt. Dieser Serostatus wurde bereits vor der Transplantation erhoben und diente als Hinweis auf eine stattgehabte CMV-Infektion. Ein positiver Nachweis von CMV- IgG- Antikörpern wird als CMV- seropositiv ein fehlender Nachweis von CMV-IgG-Antikörpern als CMV-seronegativ bezeichnet. Bei der SZT ergaben sich für den CMV-Serostatus entsprechend vier Konstellationen:

- 1) CMV-seronegativer Empfänger und -seronegativer Spender (E-/S-)
- 2) CMV-seronegativer Empfänger und -seropositiver Spender (E-/S+)
- 3) CMV-seropositiver Empfänger und -seronegativer Spender (E+/S-)
- 4) CMV-seropositiver Empfänger und -seropositiver Spender (E+/S+)

## 2.4.1 HLA Kompatibilität

Zur Bestimmung der HLA Kompatibilität wurden die HLA-Merkmale HLA-A, B, CW, DQB1 und DRB1 bzw. deren Antigen- und Allelausprägungen betrachtet, und es wurde vermerkt, ob sie bei Empfänger und Spender übereinstimmten, oder ob ein Mismatch bestand. Da jedes HLA-Merkmal bei jedem Menschen zweimal vorliegt, wird eine Übereinstimmung in 10 von 10 Merkmalen als Vollkompatibilität bezeichnet. Als Mismatch bezeichnet man eine fehlende Übereinstimmung in mindestens einem der untersuchten Merkmale. Da bei weiter zurückliegenden Transplantationen das Merkmal HLA-CW noch nicht in die Typisierung mit einbezogen wurde, wurde hier entsprechend eine Übereinstimmung von 8 Merkmalen als Vollkompatibilität gewertet.

## 2.5 Konditionierung und Transplantation

### 2.5.1 Konditionierung

Die verwendeten Konditionierungsprotokolle wurden notiert und in eine Excel-Tabelle übertragen. Es wurden drei Arten von Konditionierungsregimen anhand ihrer Intensität unterschieden (Tab. 9).

**Tab. 9:** Konditionierungsschemata (Anmerkung: Die Busulfan-Dosis ist für die intravenöse Gabe angegeben. Die Äquivalentdosis bei oraler Gabe betrug  $4 \times 4$  mg/kg, gegeben in 16 Einzeldosen bei den betreffenden Patienten)

Schema	Radiochemotherapie
myeloablativ	<b>Bu</b> 3,2 mg/kg/d (für 4 d) + <b>Cy</b> 60 mg/kg/d (für 2 d)
	<b>Bu</b> 3,2 mg/kg/d (für 4 d) + <b>Cy</b> 60 mg/kg/d (für 2 d) + <b>VP 16</b> 30 mg/kg (für 1 d)
	<b>Cy</b> 60 mg/kg/d (für 2 d) + <b>TBI 12 Gy</b> 2x2 Gy/d (für 3 d)
	<b>Cy</b> 60mg/kg/d (für 2 d) + <b>VP 16</b> 60 mg/kg/d (für 1 d) + <b>TBI 12 Gy</b> 2x2 Gy + 2x 4 Gy (für 4 d)
intensitätsreduziert	<b>Bu</b> 3,2 mg/kg/d (für 2 d) + <b>Flu</b> 30 mg/m <sup>2</sup> /d (für 6 d)
	<b>Bu</b> 3,2 mg/kg/d (für 1 d) + <b>Flu</b> 50 mg/m <sup>2</sup> (für 3 d) + <b>Thiotepa</b> 5 mg/kg (für 2 d)
	<b>Flu</b> 30 mg/m <sup>2</sup> /d (für 4 d) + <b>Cy</b> 300 mg/m <sup>2</sup> /d (für 4 d)
	<b>Flu</b> 30 mg/m <sup>2</sup> (für 3 d) + <b>Mel</b> 140 mg/m <sup>2</sup> (für 1 d)
	<b>Flu</b> 30 mg/m <sup>2</sup> (für 5 d) + <b>Mel</b> 70 mg/m <sup>2</sup> /d (für 2 d) + <b>Treosulfan (Treo)</b> 14g/m <sup>2</sup> /d (Für 2 d)

	<b>Flu</b> 30 mg/m <sup>2</sup> /d (für 5 d) + <b>Treo</b> 12 g/m <sup>2</sup> /d (für 3 d)
	<b>Treo</b> 12 g/m <sup>2</sup> /d (für 3 d) + <b>Cy</b> 60 mg/kg/d (für 2 d) + <b>VP 16</b> 30 mg/ kg (für 1 d)
	<b>Flu</b> 30 mg/m <sup>2</sup> /d (für 4 d), <b>Cy</b> 60 mg/kg/d (für 2 d), <b>TBI</b> 2x2 Gy/d (für 1 d), <b>AraC</b> 2g/m <sup>2</sup> /d (für 4 d), <b>Amsacrine</b> 100 mg/m <sup>2</sup> /d (für 4 d)
nicht-myeloablativ	<b>Flu</b> 30 mg/m <sup>2</sup> /d (für 4 d), <b>TBI</b> 2x2 Gy/d (für 2 d)
<u>Abkürzungen</u> mg = Milligramm, kg = Kilogramm, d = Tag(e), m <sup>2</sup> = Quadratmeter Körperoberfläche	

### 2.5.2 Antikörpergabe

Die Antikörpergabe erfolgte vor allogener Stammzelltransplantation als Bestandteil der Konditionierung unter dem Ziel der in-vivo T-Zelldepletion des Empfängers und des Spendertransplantats. Zwei wesentliche Dinge sollten hierdurch erreicht werden. Zum einen die Immunsuppression des Empfängers und somit ein besseres Anwachsen des Transplantats, und zum anderen die Risikoreduktion einer GvHD, durch die Reduktion der T-Zellen des (kurze Zeit später infundierten) Stammzelltransplantats [28]. Es wurden die verabreichten Antikörper notiert und in die Tabelle übertragen. Wir unterschieden hierbei zwischen ATG Genzyme (Thymoglobuline<sup>®</sup>), ATG Fresenius (Grafalon<sup>®</sup>), Alemtuzumab und „keiner Antikörpergabe“.

### 2.5.3 CD34+ Zellzahl

Die Transplantationsprotokolle wurden eingesehen, um die Zellzahl der transplantierten CD34+ Zellen zu ermitteln. Erfolgte die Gabe der Zellen über mehrere Tage, so wurden die einzelnen Zelldosen zum Erhalt der Gesamtzellzahl addiert. Die Angabe erfolgt als CD34+ Zellen pro kg Körpergewicht des Empfängers.

### 2.6 Leukozytenengraftment

Das Leukozytenengraftment bezeichnet den ersten von drei konsekutiven Tagen, an welchen eine Leukozytenzahl  $\geq 1$  Giga-Partikel pro Liter (Gpt/l) im peripheren Blut gemessen wurde. Die Angabe erfolgt als Anzahl von Tagen nach der erstmaligen Transplantation allogener Stammzellen (der sogenannte Tag 0). Fiel die Zahl der Leukozyten nie unter 1 Gpt/l, so wurde als Engraftment Zeitpunkt Tag 0

vermerkt. Blieb das Engraftment bis zur Klinikentlassung aus, so wurde als Engraftment Zeitpunkt Tag 40 vermerkt [65].

## 2.7 Akute und chronische GvHD

Durch Einsicht in die Verlaufsdokumentation wurde ermittelt, ob der jeweilige Patient zu irgendeinem Zeitpunkt von einer aGvHD betroffen war oder nicht. Auf Grund der retrospektiven Natur der Studie, konnten die Kriterien für die aGvHD Stadieneinteilung teilweise nicht mehr vollständig nachvollzogen werden, weshalb von einer Einbeziehung derselben in die Analyse abgesehen werden musste. Auch bezüglich der cGvHD wurde vermerkt, ob im Verlauf eine solche aufgetreten oder ausgeblieben war. Hier erfolgte keine Dokumentation der jeweils einzelnen Stadien, da sich die Stadieneinteilung der cGVHD im untersuchten Zeitraum geändert hatte.

## 2.8 Remissionsstatus

Der Remissionsstatus wurde entsprechend den zum Zeitpunkt der Erkrankung gültigen Leitlinien kategorisiert in komplette Remission (engl. *complete remission*, CR), partielle Remission (engl. *partial remission*, PR) sowie stabile Erkrankung (engl. *stable disease*, SD) und auch progressive Erkrankung (engl. *progressive disease*, PD). Durch Einsicht in die Verlaufsdokumentationen nach der Transplantation wurde das beste erreichte Ergebnis vor der SZT ermittelt und dokumentiert.

## 2.9 Rezidiv und Progress

Durch Einsicht in die Verlaufsdokumentation wurde überprüft, ob bei dem jeweiligen Patienten nach der Transplantation ein Rezidiv oder ein Progress der Erkrankung aufgetreten war und vermerkt, ob dies zutraf oder nicht.

## 2.10 Statistische Auswertung

**Tab. 10:** Übersicht der drei Modelle der statistischen Auswertung.

	Patienten	Kovariatenanzahl
Modell 1	137	17
Modell 2	137	16
Modell 3	50	13

Die statistische Auswertung der Studiendaten erfolgte hinsichtlich der Wahrscheinlichkeit für Patienten, einen Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  zu erreichen. Sie wurde anhand einer multiplen logistischen Regression mit verschiedenen Kovariaten (Tab. 8) in drei unterschiedlichen Modellen (Modell 1, Modell 2, Modell 3) (Tab. 10) durchgeführt. Für alle drei Modelle besagte die Nullhypothese, dass keine Assoziation zwischen den Kovariaten und der Zielvariable, also einem Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  besteht.

Für die Analyse der Modelle 1 und 2 wurde das Erreichen eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  an Tag 57 nach SZT als Zielvariable definiert. Tag 57 wurde gewählt, da an diesem Zeitpunkt die maximale Anzahl an Messwerten im Datensatz vorlag. In Modell 2, im Vergleich zu Modell 1, wurde die Blutgruppe der Empfänger als Kovariate ausgeschlossen, um die Blutgruppenkompatibilität von Spender und Empfänger isoliert zu betrachten.

Für Modell 3 wurde der Verlauf des Spenderchimärismus jeweils an Tag 57, 350, 650, 950 und 1287 nach SZT analysiert. In diesem Modell galt bei einem konstanten Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  zu den jeweiligen Messzeitpunkten die Zielvariable als erreicht. In dieses Modell wurden lediglich Patienten eingeschlossen bei denen Chimärismussmesswerte bis mindestens Tag 1287 nach SZT vorlagen. Die Exklusion von Patienten, bei denen am Tag 1287 oder darauffolgend keine weiteren Messwerte dokumentiert waren, führte zu einem reduzierten Patientenkollektiv ( $n = 50$ ) für dieses Modell. Zwischen den Messzeitpunkten fehlende bzw. von den festgelegten Messzeitpunkten zeitlich abweichende Chimärismuswerte wurden unter der Annahme einer nahezu linearen Funktion durch lineare Interpolation näherungsweise ermittelt und ergänzt. Ferner wurden im Modell 3 einige Kovariaten (Antikörper, Remissionsstatus nach SZT, CMV Kompatibilität von Spender und Empfänger) auf Grund der geringen Anzahl bestimmter Ausprägungen der Variablen nicht berücksichtigt.

Die Aufarbeitung der Daten und die Durchführung der Datenanalyse wurde mit der Statistiksoftware R und deren Entwicklungsumgebung R Studio Version sowie mit der Statistiksoftware SAS Version 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) realisiert. Anwendungsvoraussetzungen für die binäre logistische Regression wurden mit der Statistiksoftware IBM SPSS Statistics 25 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) getestet. Bei der Durchführung der logistischen Regressionsanalyse wurden die Regressionskoeffizienten der Kovariaten durch den Algorithmus der Maximum-

Likelihood-Methode geschätzt und anhand der Wald-Statistik hinsichtlich der Signifikanz überprüft. Das Signifikanzniveau wurde bei 0,05 festgelegt. Bei der aufgestellten Hypothese handelte es sich um eine zweiseitige Hypothese. Es wurde mit einer zweiseitigen Irrtumswahrscheinlichkeit getestet. Für die deskriptive Statistik wurden Kennwerte wie die absolute Häufigkeit, Minimum, Maximum, Median, sowie Standardabweichung ermittelt. Die Abbildungen und Grafiken wurden mit der Statistiksoftware R oder der Tabellenkalkulationssoftware Microsoft Excel Office 2016 (Microsoft Corp. Seattle, Washington, USA) erstellt. Eine ausführliche Zusammenfassung der Ergebnisse der Regressionsanalyse für die drei Modelle findet sich im Anhang (siehe Anhang 8.2-4).



### 3 Ergebnisse

Insgesamt wurden die Datensätze von 137 Patienten anhand der Modelle 1 und 2 (Patienten mit Chimärismuswerten von Tag 57 (Kohorte Tag 57)) (Tab. 11), sowie entsprechend 50 Patienten in Modell 3 (Patienten mit Chimärismuswerten bis Tag 1287 (Kohorte Tag 1287)) (Tab. 12) analysiert.

#### 3.1 Daten der Kohorte von Tag 57

**Tab. 11:** Ergebnisse der Kohorte von Tag 57.

Kovariaten	Ausprägung (in n oder Median)
(Patientenkollektiv)	137
Geschlecht Empfänger	83 = männlich; 54 = weiblich
Alter Empfänger	53 Jahre (Median)
Geschlecht Spender	81 = männlich; 56 = weiblich
Alter Spender	36 Jahre (Median)
Blutgruppe Empfänger	43 = 0; 69 = A; 20 = B; 5 = AB
Spendertyp	26 = verwandt; 111 = unverwandt
HLA Mismatch	95 = nein; 42 = ja
Zellzahl CD34+	6,27 x 10 <sup>6</sup> /kg KG (Median)
Leukozytenengraftment	15 Tage (Median)
aGvHD	96 = nein; 41 = ja
cGvHD	85 = nein; 52 = ja
Rezidiv/Progress	84 = nein; 53 = ja
bestes Remissionsergebnis nach SZT	118 = CR; 12 = PR; 0 = SD; 7 = PD
Konditionierungsregime	56 = myeloablativ 54 = nicht-myeloablativ 27 = intensitätsreduziert
Antikörper	5 = entfällt 9 = ATG Fresenius (Grafalon®) 27 = ATG Genzyme (Thymoglobuline®) 96 = Alemtuzumab
CMV Status Empfänger/ Spender	30 = E-/S- 19 = E+/S- 9 = E-/S+ 79 = E+/S+
Blutgruppenkompatibilität Empfänger/ Spender	64 = ja; 73 =nein

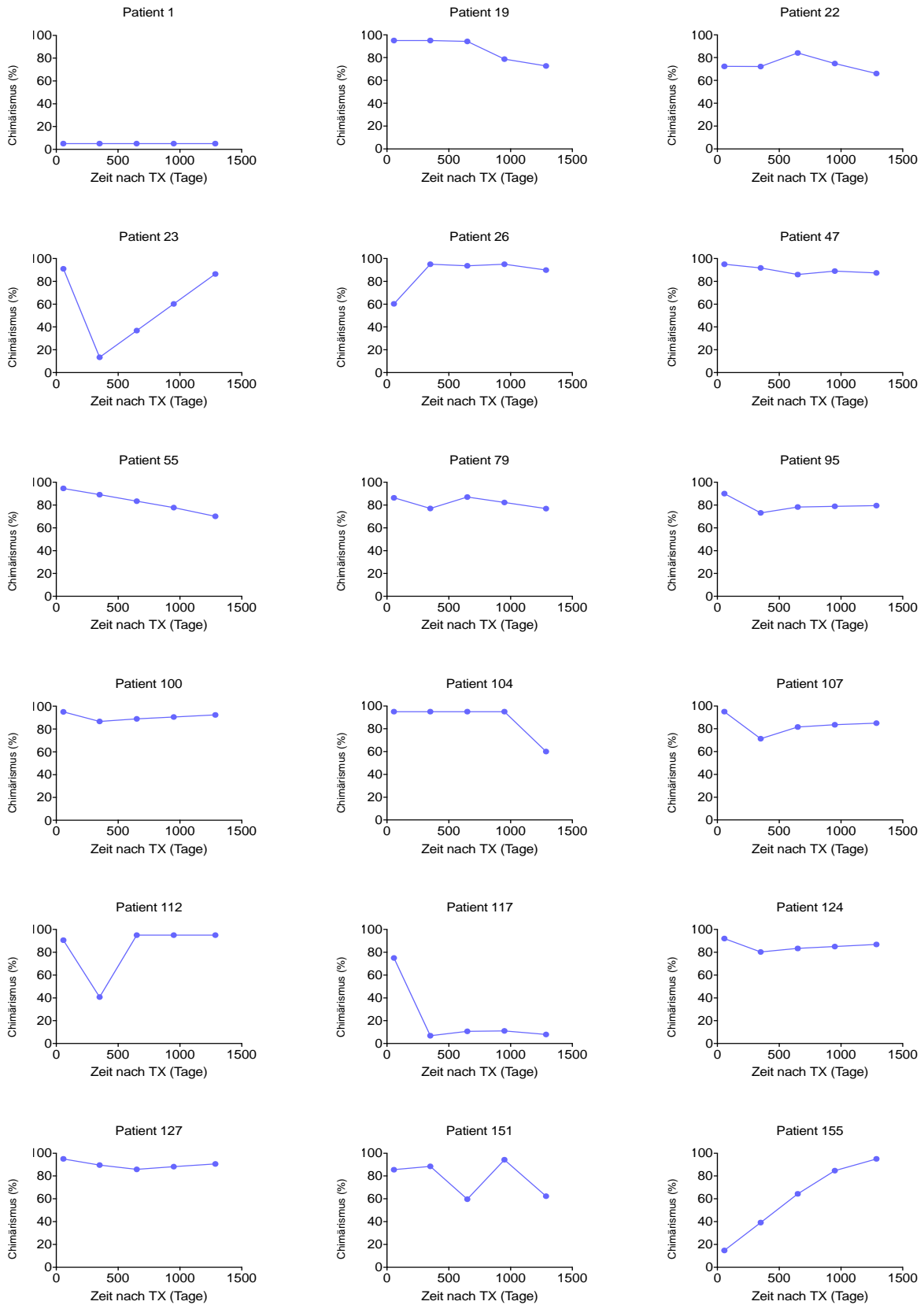
### 3.2 Daten der Kohorte von Tag 1287

**Tab. 12:** Ergebnisse der Kohorte von Tag 1287.

Kovariaten	Ausprägung (in n oder Median)
Geschlecht Empfänger	31 = männlich; 19 = weiblich
Alter Empfänger	55 Jahre (Median)
Geschlecht Spender	34 = männlich; 16 = weiblich
Alter Spender	35,5 Jahre (Median)
Spendertyp	10 = verwandt; 40 = unverwandt
HLA Mismatch	33 = nein; 17 = ja
Zellzahl CD34+	6,8 x 10 <sup>6</sup> /kg KG (Median)
Leukozytenengraftment	14 Tage (Median)
aGvHD	38 = nein; 12 = ja
cGvHD	33 = nein; 17 = ja
Rezidiv/Progress	41 = nein; 9 = ja
bestes Remissionsergebnis nach SZT	<i>nicht berücksichtigt</i>
Konditionierungsregime	17 = myeloablativ 8 = intensitätsreduziert 25 = nicht-myeloablativ
Antikörper	<i>nicht berücksichtigt</i>
CMV Status Empfänger/ Spender	<i>nicht berücksichtigt</i>
Blutgruppenkompatibilität Empfänger/ Spender	18 = ja; 32 = nein

### 3.3 Chimärismus

In der Kohorte von Tag 57 hatte die deutliche Mehrheit des Patientenkollektivs (n = 102/137) an Tag 57 nach der SZT einen Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  erreicht. In der Kohorte von Tag 1287 wurden die Daten derjenigen Patienten analysiert, bei denen eine Chimärismusmessung bis einschließlich an Tag 1287 vorlag (siehe Anhang 8.5). Bei 32/50 Patienten hielt sich der Spenderchimärismus konstant bei  $\geq 95\%$ . Die restlichen 18/50 Patienten zeigten heterogene Chimärismusverläufe mit unterschiedlich stark ausgeprägten Schwankungen (Abb. 2). Die stärksten Diskrepanzen fielen bei Patient 23 und Patient 117 auf. Patient 1 hatte über den gesamten Messzeitraum einen konstanten Chimärismus von 5%.



**Abb. 2:** Eine Patientenauswahl zur Verdeutlichung heterogener Chimärismusverläufe bis Tag 1287

### 3.4 Transplantationseigenschaften und -biologie von Empfänger und Spender der Kohorten von Tag 57 und Tag 1287

#### 3.4.1 Geschlecht

In der Kohorte von Tag 57 waren 83 Patienten männlich und 54 Patienten weiblich. Beim Vergleich der Gruppen weiblicher und männlicher Empfänger wurde kein signifikanter Unterschied bezüglich des Erreichens eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  gefunden; weder in Modell 1 ( $p = 0,219$ ) noch in Modell 2 ( $p = 0,075$ ). Auch beim Vergleich der Gruppen, welche die Stammzellen eines männlichen Stammzellspenders respektive einer weiblichen Stammzellspenderin ( $n = 81/137$  bzw.  $n = 56/137$ ) erhielten, ergab sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Spenderchimärismus. Dies galt sowohl für das Modell 1 ( $p = 0,110$ ) als auch für das Modell 2 ( $p = 0,292$ ).

In der Kohorte von Tag 1287 waren 31 Empfänger männlich und 19 weiblich, sowie 34 Spender männlich und 16 weiblich. Bezüglich des Geschlechts, sowohl von Empfängern ( $p = 0,433$ ) als auch Spendern ( $p = 0,916$ ) ergaben sich in der Auswertung der Datensätze keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Erreichens bzw. Aufrechterhaltens eines Spenderchimärismus  $\geq 95\%$  im zeitlichen Verlauf bis Tag 1287.

#### 3.4.2 Spendertyp

Es überwogen in der Kohorte von Tag 57 deutlich die Durchführungen von SZTs mit Stammzellen von Fremdspendern gegenüber SZTs mit Stammzellen von Familienspendern ( $n = 111/137$  vs.  $n = 26/137$ ). Im Vergleich zeigten diese beiden Gruppen weder in Modell 1 ( $p = 0,729$ ) noch in Modell 2 ( $p = 0,759$ ) einen signifikanten Unterschied hinsichtlich des Erreichens eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$ .

Auch in der Kohorte von Tag 1287 überwogen die Transplantationen mit Zellen von Fremdspendern im Gegensatz zu denen von Familienspendern ( $n = 40/50$  vs.  $n = 10/50$ ). Auch hier ergab sich kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,314$ ) zwischen den beiden Gruppen hinsichtlich des Erreichens oder des Aufrechterhaltens eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$ .

### 3.4.3 Alter

Der Median des Patientenalters respektive Spenderalters der Kohorte von Tag 57 lag bei 53,0 bzw. 36,0 Jahren. Während sich in beiden Modellen kein signifikanter Einfluss des Patientenalters auf die Entwicklung eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  zeigte (Modell 1  $p = 0,921$ ; Modell 2  $p = 0,738$ ), ergab die Regressionsanalyse, dass sich die Wahrscheinlichkeit für einen Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  mit steigendem Spenderalter signifikant verringerte (Modell 1  $p = 0,032$ ; Modell 2  $p = 0,027$ ). Im Modell 1 verringerte sich diese Wahrscheinlichkeit jeweils um den Faktor 0,930, wenn sich das Alter des Spenders um je eine Einheit (ein Jahr) erhöhte. Im Modell 2 verringerte sie sich jeweils um den Faktor 0,931. Der jüngste Spender in der betrachteten Kohorte war 19 Jahre, der älteste Spender war 67 Jahre alt.

In der Kohorte von Tag 1287 betrug das mediane Alter der Patienten respektive Spender 55,0 bzw. 35,5 Jahre. Weder das Empfängeralter ( $p = 0,831$ ) noch das Spenderalter ( $p = 0,514$ ) zeigten einen signifikanten Zusammenhang mit dem Erreichen bzw. Aufrechterhalten eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$ .

### 3.4.4 Cytomegalievirus-Serostatus

Die verschiedenen Kombinationen des CMV-Serostatus ergaben sich aus den Möglichkeiten, den Empfängerserostatus („E“) oder den Spenderserostatus („S“), sowie ein positives („+“) oder negatives („-“) Ergebnis des Serostatus zu beschreiben und lagen mit folgender absteigender Häufigkeit vor: E+/S+; E-/S-; E+/S-; sowie E-/S+ (n = 79; 30; 19 und 9). Für die Regressionsanalyse wurde die Gruppe, in der sowohl Empfänger als auch Spender einen negativen Serostatus aufwiesen, als Referenzgruppe gewählt.

Für die jeweiligen Kombinationen (E+/S+; E+/S-; E-/S+) ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Erreichens eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  an Tag 57 (Modell 1  $p = 0,161$  vs.  $p = 0,800$  vs.  $p = 0,695$  und Modell 2  $p = 0,125$  vs.  $p = 0,767$  vs.  $p = 0,431$ ).

Der CMV Status wurde in der Kohorte von Tag 1287 wegen einer zu geringen Ausprägung der jeweiligen CMV-Konstellationen nicht berücksichtigt.

### 3.4.5 Blutgruppe

In der Kohorte von Tag 57 war unter den Blutgruppen der Patienten vorrangig die Blutgruppe A ( $n = 69$ ) vertreten, gefolgt von 0 ( $n = 43$ ), B ( $n = 20$ ) und letztlich AB ( $n = 5$ ). Die Blutgruppe 0 wurde als Referenzgruppe definiert. Bei 64 SZTs stimmten die Blutgruppen von Empfänger und Spender überein, wohingegen dies bei 73 SZTs nicht der Fall war. Im Modell 1 wurde die Signifikanz knapp verpasst ( $p = 0,053$ ) dahingehend, dass ein Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  mit einer um den Faktor 3,672 erhöhten Wahrscheinlichkeit eintrat, wenn die Blutgruppen von Spender und Empfänger nicht übereinstimmten. Die Regressionsanalyse von Modell 1 ergab zusätzlich, dass Patienten mit der Blutgruppe A mit einer um den Faktor 6,211 erhöhten Wahrscheinlichkeit einen Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  erreichten, als Empfänger mit der Blutgruppe 0 ( $p = 0,022$ ). Beim Vergleich der Blutgruppen AB ( $p = 0,887$ ) und B ( $p = 0,270$ ) mit der Blutgruppe 0 zeigte sich kein signifikantes Ergebnis. Im Modell 2, in dem die Patientengruppen, die eine Blutgruppenkompatibilität bzw. -inkompatibilität mit dem Spender aufwiesen miteinander verglichen wurden, ergab sich kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,137$ ) hinsichtlich des Erreichens eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$ .

Ob die Blutgruppe von Empfänger und Spender übereinstimmte, hatte in dem Modell 3 der Kohorte von Tag 1287 keinen signifikanten Einfluss auf das Erreichen oder die Aufrechterhaltung eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  bis Tag 1287 ( $p = 0,201$ ).

### 3.5 HLA Kompatibilität

Während in der Kohorte von Tag 57 bei 95 SZTs eine komplette Übereinstimmung der HLAs bestand, lag bei 42 SZTs mindestens ein Mismatch vor. Ein Vergleich der Patientengruppen, die Stammzellen von einem Spender ohne bzw. mit mindestens einem Mismatch erhalten hatten, ergab keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Erreichens eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$ ; weder in Modell 1 ( $p = 0,725$ ) noch in Modell 2 ( $p = 0,949$ ).

In der Kohorte von Tag 1287 zeigte sich bei 33 Patienten eine komplette Übereinstimmung mit den HLAs der Spender. Bei den restlichen 17 Patienten war mindestens ein Mismatch zwischen Empfänger und Spender detektiert worden.

Zwischen diesen beiden Gruppen bestand kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,450$ ), was das Erreichen bzw. Aufrechterhalten eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  betraf.

### 3.6 Konditionierung und Transplantation

#### 3.6.1 Konditionierung

Der Großteil der Patienten der Kohorte von Tag 57 ( $n = 56/137$ ) wurde mit einem myeloablativen Konditionierungsregime behandelt. Die myeloablativ behandelte Gruppe wurde als Referenzgruppe gewählt. 27/137 Patienten erhielten eine intensitätsreduzierte- und 54/137 Patienten eine nicht-myeloablativ Konditionierung. Beim Vergleich der Konditionierungsgruppen zeigte sich, dass die Wahrscheinlichkeit, einen Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  zu erreichen in der Patientengruppe, die eine intensitätsreduzierte Konditionierung erhalten hatte, in beiden Modellen signifikant geringer war (Modell 1  $p = 0,016$ ; Modell 2  $p = 0,024$ ) als in der Gruppe, die eine myeloablativ Konditionierung erhalten hatte. In Modell 1 war die Wahrscheinlichkeit in der intensitätsreduzierten Konditionierungsgruppe im Verhältnis zu der myeloablativ konditionierten Gruppe um den Faktor 0,085 und in Modell 2 um den Faktor 0,122 verringert. Beim Vergleich der myeloablativ und der nicht-myeloablativ transplantierten Gruppe zeigte sich diesbezüglich kein signifikanter Unterschied; weder in Modell 1 ( $p = 0,834$ ) noch in Modell 2 ( $p = 0,507$ ).

In der Kohorte von Tag 1287 hatten 17/50 Patienten eine myeloablativ, 8/50 Patienten eine intensitätsreduzierte und 25/50 Patienten eine nicht-myeloablativ Konditionierung erhalten. Die myeloablativ behandelte Gruppe wurde auch hier als Referenzgruppe bestimmt. Hinsichtlich des Erreichens bzw. des Aufrechterhaltens eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  fand sich weder ein signifikanter Unterschied zwischen der myeloablativ und der intensitätsreduziert konditionierten Gruppe ( $p = 0,118$ ) noch zwischen der myeloablativ und der nicht-myeloablativ konditionierten Gruppe ( $p = 0,596$ ).

#### 3.6.2 Antikörpergabe

Aus der Kohorte von Tag 57 wurden 5/137 Patienten vor der Transplantation keine T-Zell-depletierenden Antikörper verabreicht. Die Gruppe dieser Patienten

wurde als Referenzgruppe definiert. Dagegen erhielten 96/137 Patienten Alemtuzumab, 27/137 ATG Genzyme (Thymoglobuline<sup>®</sup>) und 9/137 ATG Fresenius (Grafalon<sup>®</sup>). Beim Vergleich der Gruppen stellte sich heraus, dass die Patienten, die mit ATG Fresenius (Grafalon<sup>®</sup>) behandelt worden waren, eine um den Faktor 0,002 geringere Wahrscheinlichkeit für das Erlangen eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  hatten als Patienten, die keinen Antikörper erhalten hatten. In Modell 2 war dieses Ergebnis signifikant ( $p = 0,036$ ), und in Modell 1 wurde die Signifikanz knapp verpasst ( $p = 0,059$ ) (Wahrscheinlichkeit hier um den Faktor 0,001 vermindert). In den Kohorten, die mit ATG Genzyme (Thymoglobuline<sup>®</sup>) (Modell 1  $p = 0,205$ ; Modell 2  $p = 0,141$ ) oder Alemtuzumab (Modell 1  $p = 0,221$ ; Modell 2  $p = 0,172$ ) therapiert wurden, zeigten sich keine signifikanten Unterschiede gegenüber der Referenzgruppe.

In der Kohorte von Tag 1287 gab es eine zu geringe Ausprägung der jeweils verschiedenen Antikörpergruppen, sodass diese Merkmale nicht in die Berechnung mit einbezogen wurden.

### 3.6.3 CD34+ Zellen

Die mediane Stammzelldosis für die Patienten der Kohorte von Tag 57 betrug  $6,27 \times 10^6$  CD-34+/kg KG. Es wurde kein Zusammenhang zwischen der Anzahl der transplantierten CD34+ Zellen (Modell 1  $p = 0,87$ ; Modell 2  $p = 0,723$ ) und des Erreichens eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  gefunden.

In der Kohorte von Tag 1287 dagegen betrug die mediane Stammzelldosis  $6,8 \times 10^6$  CD-34+/kg KG, wobei auch hier kein Zusammenhang zwischen der Anzahl der CD34+ Zellen und des Erreichens oder Aufrechterhaltens eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  gefunden werden konnte ( $p = 0,17$ ).

### 3.7 Leukozytenengraftment

Der Median bis zum Erreichen des Leukozytenengraftments der Kohorte von Tag 57 betrug 15 Tage. Es gab einen Patienten, dessen Leukozyten zu keinem Messzeitpunkt unter 1 Gpt/l gemessen wurden, sodass dieser folglich 0 Tage für das Engraftment benötigte. Zuvor hatte er eine nicht-myeloablative Konditionierung (Flu/TBI 2Gy) erhalten. Unter den beobachteten Fällen entsprach die maximale Engraftmentdauer eines Patienten insgesamt 40 Tagen. Es zeigte sich, dass sich die



Wahrscheinlichkeit, einen Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  zu erreichen, mit zunehmender Dauer des Leukozytenengraftments in beiden Modellen signifikant verringerte (Modell 1  $p = 0,015$ ; Modell 2  $p = 0,013$ ). Wenn sich die Dauer des Leukozytenengraftments sukzessiv um einen Tag erhöhte, verringerte sich die Wahrscheinlichkeit jeweils im Modell 1 um den Faktor 0,832 und im Modell 2 um den Faktor 0,837.

In der Kohorte von Tag 1287 betrug der Median bis zum Leukozytenengraftment lediglich 14 Tage. Die Wahrscheinlichkeit des Erreichens bzw. des Aufrechterhaltens eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  wurde in Abhängigkeit der Engraftmentdauer berechnet. Wie auch in der ersten Kohorte, verringerte sich die Wahrscheinlichkeit hierfür mit steigender Anzahl der benötigten Tage bis zum Leukozytenengraftment signifikant ( $p = 0,050$ ) um den Faktor 0,725 pro Tag.

### 3.8 GvHD

Im Verlauf zeigte sich in der Kohorte von Tag 57 bei 41/137 Patienten eine aGvHD und bei 52/137 Patienten eine cGvHD. Bezüglich der aGvHD ergab Modell 1 kein signifikantes Ergebnis ( $p = 0,082$ ). Modell 2 zeigte, dass das Erreichen eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  bei Patienten signifikant ( $p = 0,043$ ) höher war, die im Verlauf eine aGvHD erlitten. Die entsprechende Wahrscheinlichkeit war im Vergleich zu den Patienten, die im Verlauf keine aGvHD entwickelten, um den Faktor 5,667 erhöht. Betrachtete man die cGvHD, so zeigte sich in beiden Modellen eine signifikant höhere Wahrscheinlichkeit für das Erreichen eines Spenderchimärismus  $\geq 95\%$  bei Patienten, die im Verlauf an einer cGvHD erkrankt waren, gegenüber denjenigen, die keine cGvHD entwickelt hatten. (Modell 1  $p = 0,004$ ; Modell 2  $p = 0,009$ ). In Modell 1 und Modell 2 waren die Wahrscheinlichkeiten jeweils um den Faktor 10,287 respektive 6,627 erhöht.

In der Kohorte von Tag 1287 entwickelten 12/50 Patienten eine aGvHD und 17/50 Patienten eine cGvHD im Verlauf. Hinsichtlich eines möglichen Zusammenhangs zwischen dem Auftreten einer aGvHD und dem Erreichen bzw. Aufrechterhalten eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  kam es zu keinem signifikanten Ergebnis ( $p = 0,252$ ). Bei den Patienten, die im Verlauf eine cGvHD erlitten, war die Wahrscheinlichkeit für das Bestehen eines Spenderchimärismus von

≥ 95% gegenüber denjenigen, die frei von einer cGvHD blieben um den Faktor 331,167 erhöht ( $p = 0,020$ ).

### 3.9 Remissionsstatus

Als bestes Remissionsergebnis erreichten in der Kohorte von Tag 57 nach der SZT 118/137 Patienten eine CR. 12/137 Patienten erreichten eine PR und lediglich 7/137 Patienten litten nach der Transplantation unter einem PD. Gegenüber der Patientengruppe, die eine CR erzielte und als Referenzgruppe definiert wurde, zeigte sich in der PR-Gruppe eine signifikant verringerte Wahrscheinlichkeit, einen Spenderchimärismus von ≥95% zu erreichen (Modell 1  $p = 0,002$ ; Modell 2  $p = 0,003$ ) mit einer um den Faktor 0,012 respektive 0,022 verminderten Wahrscheinlichkeit. Beim Vergleich der CR- und PD-Gruppen zeigte Modell 1 keine signifikanten Unterschiede ( $p = 0,125$ ), wohingegen in Modell 2 die Signifikanz knapp verpasst wurde ( $p = 0,059$ ), was implizierte, dass PD-Patienten im Vergleich zur Referenzgruppe mit einer um den Faktor 0,085 erniedrigten Wahrscheinlichkeit einen Spenderchimärismus ≥95% erreichten.

Auf Grund der zu geringen Ausprägung der verschiedenen Remissionsstadien in der Patientenkohorte von Tag 1287 wurde diese Kovariate in Modell 3 nicht berücksichtigt.

### 3.10 Rezidiv oder Progress

Ein Rezidiv oder Progress blieb bei der Mehrheit der Stammzellempfänger ( $n = 84/137$ ) der Kohorte von Tag 57 aus. Dagegen erlitten 53/137 Personen im Verlauf mindestens ein Rezidiv oder einen Progress der Erkrankung. Hinsichtlich des Vorhandenseins eines Spenderchimärismus von ≥95% an Tag 57 zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Patientengruppe, die ein Rezidiv oder einen Progress erlitt und der Gruppe, die rezidiv- und progressfrei blieb (Modell 1  $p = 0,823$ ; Modell 2  $p = 0,947$ ).

In der Kohorte von Tag 1287 erlitten 9/50 Patienten ein Rezidiv oder einen Progress der Erkrankung, während 41/50 Patienten rezidiv- bzw. progressfrei blieben. Was die Entwicklung eines Spenderchimärismus bzw. dessen Aufrechterhaltung betraf, ergab sich kein signifikanter Unterschied ( $p = 0,103$ ).

## 4 Diskussion

### 4.1 Transplantationseigenschaften und -biologie von Spender und Empfänger

#### 4.1.1 Geschlecht

Hinsichtlich der Entwicklung eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  an Tag 57, respektive dessen Aufrechterhaltung bis zum Tag 1287 erbrachte die vorliegende Studie keinen signifikanten Einfluss des Geschlechts; weder der Empfänger noch der Spender.

Mit diesen Beobachtungen übereinstimmend, berichteten mehrere Autoren über den fehlenden Zusammenhang von Empfänger und Spender Geschlecht und dem Chimärismus [48–50]. Die Langzeitstudie von Levrat *et al.* [49], welche zusätzlich den Zusammenhang zwischen den Geschlechterkonstellationen des Empfängers bzw. Spenders und dem Chimärismus untersuchte, beobachtete, dass nach allogener SZT eine signifikant geringere Inzidenz eines gemischten Chimärismus spezifischer Zellreihen auftrat, wenn die Konstellation weiblicher Spenderinnen und männlicher Empfänger bestand. Diese Ergebnisse entbehren der Vergleichbarkeit mit denen unserer Studie, in der die Geschlechter des Empfängers und Spenders isoliert betrachtet wurden. Jedoch könnte der Ansatz von Levrat *et al.* eventuell richtungsweisend sein, sich eher auf die Geschlechterkonstellationen als auf die Geschlechter separat zu konzentrieren.

#### 4.1.2 Spendertyp

Beim Vergleich der Chimärismusergebnisse zwischen SZTs mit verwandten und unverwandten Spendern zeigte sich in unserer Studie weder ein statistisch signifikantes Ergebnis bezüglich des Erreichens eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  an Tag 57, noch hinsichtlich dessen Aufrechterhaltung im Verlauf bis Tag 1287 nach der SZT.

Konträr zu diesen Beobachtungen fanden mehrere Autoren signifikante Unterschiede des Chimärismus in Abhängigkeit davon, ob die Stammzellen einem verwandten oder unverwandten Spender entstammten. Eine Studie von Kinsella *et al.* [47] ( $n = 144$ ), die den Einfluss der Stammzellen verwandter respektive unverwandter

Stammzellspender auf den T-Zell Chimärismus nach allogener SZT untersuchte, stellte den Einsatz eines HLA-übereinstimmenden, unverwandten Spenders als einen eigenständigen Prädiktor für das Erreichen eines kompletten Spenderchimärismus heraus ( $p = 0,043$ ). Die Analyse der Einflussfaktoren auf den T-Zell Chimärismus bei Patienten nach allogener SZT von Mohammedbhai *et al.* [46] ( $n = 152$ ) ergab, dass ein größerer Anteil des Patientenkollektivs, welcher einen prädominanten Empfängerchimärismus aufwies, mit Stammzellen eines verwandten Spenders transplantiert worden war. In der Literatur scheint eine Verwandtschaft zwischen Spender und Empfänger folglich zur Reduktion des Spenderchimärismus zu führen, was durch unsere Analyse nicht bestätigt werden konnte. Da in beiden zuerst aufgeführten Studien der Chimärismus einzelner Zellreihen betrachtet wurde, ist von einer eingeschränkten Vergleichbarkeit mit unserer Studie, die den Chimärismus aller Zellreihen untersuchte, auszugehen.

#### 4.1.3 Alter

Neben der entscheidenden Spender-Empfänger-HLA Kompatibilität gilt das Spenderalter mittlerweile als eines der relevantesten Merkmale, insbesondere hinsichtlich der Überlebensrate von Patienten bei unverwandten SZTs [20, 27]. Die Analysen dieses Studienkollektivs ergaben, dass sich die Wahrscheinlichkeit eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  an Tag 57 mit zunehmendem Spenderalter signifikant verringerte. In der Analyse des Spenderchimärismusverlaufes bis Tag 1287 bestand diesbezüglich jedoch keine Signifikanz.

Insgesamt ist die Studienlage zur Korrelation von Chimärismus und Spenderalter unzureichend. Es liegt lediglich eine Studie von Rezvani *et al.* [53] vor, die den Einfluss des Spenderalters auf den Chimärismus untersuchte, jedoch keinen signifikanten Zusammenhang demonstrieren konnte. In der genannten Studie wurden spezifische Altersgruppen verglichen (Spender  $\geq 60$  bzw.  $< 60$  Jahren). In der älteren Spendergruppe konnte eine längere Dauer für das Erreichen eines Neutrophilenengraftments beobachtet werden. Diese Ergebnisse suggerieren, dass sich ein jüngeres Immunsystem des Spenders prinzipiell vorteilhaft auf das Engraftment der Spenderzellen auswirken könnte.

Weitere Studien befassten sich mit anderen Einflussfaktoren des Spenderalters. Kollmann *et al.* [27] zeigten, dass sich die Gesamtmortalität pro Dekade

der Zunahme des Spenderalters um 5,5% erhöhte. Shaw *et al.* [31] fanden bei der Betrachtung von Empfängern und Spendern mit Übereinstimmungen in 8/8 HLA-Merkmalen heraus, dass Patienten mit jüngeren gegenüber älteren Stammzellspendern ein um 3% erhöhtes 2-Jahres-Überleben hatten. Als einen Erklärungsansatz nannte der Autor die Reduzierung von Immunzellen durch die Thymusinvolution, welche bei fortschreitendem Alter in einer kompensatorischen Vermehrung der Antigen-erfahrenen Zellen resultiere. Diese wiederum führe im Endeffekt zu einer verminderten Toleranz gegenüber den Empfänger-Antigenen. Laut der genannten Arbeitsgruppe könnte dies wiederum das vermehrte Auftreten einer GvHD nach Transplantationen mit älteren Spendern erklären, das teilweise, nicht aber kontinuierlich, beobachtet wurde [31, 38]. Welchen Einfluss das Spenderalter auf den Spenderchimärismus hat, sollte weiter untersucht werden. Da dieser Zusammenhang in unserer Studie nur in der Kohorte von Tag 57 bestand, nicht aber in der Kohorte, in der der Chimärismusverlauf bis Tag 1287 untersucht wurde, könnte ein niedrigeres Spenderalter insbesondere in der frühen Posttransplantationsphase mit Verminderung der Letalität von therapeutischer Bedeutung sein.

Das Empfängeralter hingegen zeigte in unserer Studie weder Einfluss auf das Erreichen eines kompletten Spenderchimärismus an Tag 57, noch auf dessen Aufrechterhalten bis zum Tag 1287. Auch die Arbeitsgruppe von Ting *et al.* [50] und Lamba *et al.* [48] konnten keinen Zusammenhang zwischen dem Empfängeralter und dem Chimärismus finden, sodass hinsichtlich des Chimärismus aktuell von keiner Altersbeschränkung für die Berücksichtigung eines Empfängers zur SZT auszugehen ist. Für das Auftreten potenziell tödlicher Komplikationen wie der aGvHD und cGvHD, wird ein steigendes Patientenalter in der Literatur jedoch als Risikofaktor beschrieben [38, 40]. Zudem sind im Alter zunehmende Komorbiditäten sowie ein reduzierter allgemeiner Gesundheitszustand, laut Literatur Faktoren, die zu transplantatassoziierten Morbidität und Mortalität führen können [66]. Hierdurch ergeben sich also Einschränkungen, die eine gründliche Evaluation der Indikation für eine SZT notwendig machen.

#### 4.1.4 Cytomegalievirus-Serostatus

Während die vorliegenden Studienergebnisse keinen signifikanten Unterschied zwischen den Konstellationen des CMV-Serostatus von Empfänger und Spender

zeigten, was das Erreichen eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  an Tag 57 betraf, demonstrierten Sellar *et al.* [51] im Jahr 2015 signifikante Unterschiede bei der Gegenüberstellung zweier verschiedener CMV-Serostatus-Konstellationen. Hierbei wurde der T-Zell-Empfängerchimärismus nach der Transplantation bei E-/S+ und E+/S- untersucht und ein signifikant höherer Empfängerchimärismus für E+/S- registriert ( $p = 0,005$ ). Diese Ergebnisse ließen sich durch Vergleichsmodelle der Patientenkohorte sowohl unter Ausschluss von Patienten, die an einer GvHD erkrankt waren ( $p < 0,0001$ ), als auch unter Limitation der Kohorte auf Patienten, die Stammzellen von Geschwisterspendern erhalten hatten, bestätigen. Diese Studie ist erneut nur bedingt mit unserer Studie vergleichbar, da sie auf die Untersuchung des Chimärismus einer Zelllinie limitiert ist.

#### 4.1.5 Blutgruppe

Im Modell 1 wurde die Signifikanz knapp verpasst dahingehend, dass ein Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  an Tag 57 wahrscheinlicher eintrat, wenn die Blutgruppen von Spender und Empfänger nicht übereinstimmten. Modell 1 ergab zusätzlich, dass Patienten mit der Blutgruppe A mit höherer Wahrscheinlichkeit einen Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  an Tag 57 erreichten als Patienten mit der Blutgruppe 0. Bezüglich des Aufrechterhaltens eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  bis Tag 1287 ergab sich kein Unterschied zwischen der Kohorte, bei der die Blutgruppen von Empfänger und Spender übereinstimmten und der Kohorte, in der sie sich unterschieden.

Im Modell 2 dagegen, ergab sich zwischen der Kohorte, in der die Blutgruppen von Empfänger und Spender übereinstimmten und derjenigen, in der sie nicht übereinstimmten, hinsichtlich des Erreichens eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  an Tag 57 kein Unterschied.

Zu dem Einfluss der Blutgruppen auf den Chimärismus ist die Studienlage insgesamt unzureichend. Eine Studie von Faraci *et al.* [52], welche 101 Patienten nach allogener Stammzelltransplantation beobachtete, fand keine Assoziation zwischen einer Blutgruppenkompatibilität oder Inkompatibilität und dem Chimärismus. Allerdings wurden in der genannten Studie lediglich Kinder mit nicht-malignen Erkrankungen betrachtet, was die Vergleichbarkeit mit unserer Studie reduziert.

#### 4.1.6 HLA Kompatibilität

Die Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe zur HLA Kompatibilität von Empfänger und Spender in Zusammenhang mit dem Erreichen eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  stimmten mit den Ergebnissen der aktuellen Literatur überein.

So zeigte sich hinsichtlich des beobachteten Ereignisses in keinem der Modelle unserer Studie ein signifikanter Unterschied zwischen den Patienten, die das Transplantat eines vollständig kompatiblen Spenders (Übereinstimmung in 8/8 bzw. 10/10 HLA-Merkmalen) und denen, welche die Stammzellen eines Spenders mit mindestens einem HLA-Mismatch erhalten hatten. Auch die Arbeitsgruppen von Lamba *et al.* [48], Levrat *et al.* [49] und Mohamedbhai *et al.* [46] fanden keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der HLA Kompatibilität von Empfänger und Spender und dem Chimärismus. Gegensätzlich dazu waren die Ergebnisse von Reshef *et al.* [67]. Sie beobachteten ein höheres T-Zell Spenderchimärismuslevel an Tag 30 nach der Transplantation bei Patienten, die Stammzellen von einem HLA inkompatiblen Spender erhalten hatten, wobei bei einer Anzahl von  $n = 19$  Patienten, welche ein HLA inkompatibles Transplantat erhielten, die Aussagekraft dieser Beobachtung eingeschränkt sein könnte. Der hohe Stellenwert der HLA Kompatibilität in Bezug auf das Gesamtüberleben (engl. *overall survival*), sowie das krankheitsfreie Überleben (engl. *disease-free survival*) der allogenen SZT wurde durch eine Studie von Lee *et al.* [68] beschrieben. Sie zeigten außerdem eine Reduktion des 1-Jahres Überlebens (engl. *1-year survival*) um 9-10 % pro HLA Mismatch.

### 4.2 Konditionierung und Transplantation

#### 4.2.1 Konditionierung

Das myeloablative Konditionierungsregime wurde mit dem intensitätsreduzierten und dem nicht-myeloablativen Regime verglichen. Es zeigte sich, dass die Patienten, die mit einem intensitätsreduzierten Konditionierungsschema behandelt worden waren, eine signifikant geringere Wahrscheinlichkeit hatten, einen Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  an Tag 57 zu erreichen, als solche die mit einem myeloablativen Schema konditioniert worden waren. Bei dem Vergleich von Patienten, die eine nicht-myeloablative Konditionierung erhalten hatten und denjenigen, die

myeloablative transplantiert worden waren, zeigte sich kein signifikanter Unterschied, was das Erreichen eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  an Tag 57 betraf. Für die Tatsache, dass der Unterschied zwischen der intensitätsreduzierten und der myeloablative Konditionierung signifikant war, nicht aber der zwischen der nicht-myeloablative und myeloablative Konditionierung, hat unsere Arbeitsgruppe trotz vergleichbarer Gruppengrößen der jeweiligen Konditionierungsregime keine plausible Erklärung. Die Analyse der unterschiedlichen Konditionierungsregime in Zusammenhang mit dem Chimärismusverlauf bis Tag 1287 ergab für beide Vergleiche keine Signifikanz.

Die Beobachtungen, die für die Tag 57 Kohorte gemacht wurden, entsprachen den Ergebnissen diverser anderer Arbeitsgruppen, wie beispielweise der von Wiedemann *et al.* [54]. Diese erhob Daten von  $n = 75$  Patienten, die an einer AML erkrankt waren. Die Patienten wurden allogene transplantiert, nachdem  $n = 36/75$  mit einer myeloablative und  $n = 39/75$  mit einer intensitätsreduzierten Konditionierung therapiert worden waren. Es zeigte sich, dass es bei den Patienten, die eine myeloablative Konditionierung erhalten hatten, früher zu einem kompletten Spenderchimärismus kam, als bei denjenigen Patienten, die im Vorfeld eine intensitätsreduzierte Konditionierung erhalten hatten. Mehrere andere Autoren, deren Beobachtungen in der Studie von Wiedemann *et al.* [54] skizziert wurden, beschrieben übereinstimmende Ergebnisse. Hier wurde anhand von Untersuchungen von Stammzellempfängern, welche an einer AML erkrankt waren gezeigt, dass ein intensitätsreduziertes Konditionierungsregime, häufig erst zu einem gemischten Chimärismus führte, bevor sich ein kompletter Spenderchimärismus entwickelte. Die Substanzkombinationen, die in den von Wiedemann *et al.* dargestellten Studien für das intensitätsreduzierte und für das myeloablative Konditionierungsregime verwendet wurden, unterschieden sich von den in unserer Studie verwendeten Medikamenten. Dies führt zu einer verminderten Vergleichbarkeit. Außerdem wurden in den Studien von Wiedemann *et al.* lediglich Patienten mit einer AML eingeschlossen. Zwar stellte die AML in unserer Studie die häufigste Diagnose dar, auf Grund derer die Patienten transplantiert wurden, jedoch war das Diagnosespektrum der Patienten insgesamt wesentlich breiter (siehe Anhang 8.1), was die Vergleichbarkeit der beiden Studien erschwert. Auch die Ergebnisse der Untersuchungen von Banna *et al.* [55], in denen sie Daten von  $n = 1484$  Patienten aus insgesamt 39 Studien zusammenfassten, entsprachen der Beobachtung, dass das intensivere Konditionierungsregime häufiger



zu einem stabilen Spenderchimärismus führt, nur dass in der genannten Studie die Auswirkungen des intensitätsreduzierten Konditionierungsregimes mit denen des nicht-myeloablativen verglichen wurden. Die Substanzkombinationen, die in den insgesamt 39 Studien verwendet wurden, überschneiden sich ebenfalls nicht gänzlich mit den Medikamenten aus unserer Studie, was auch hier zu einer verminderten Vergleichbarkeit führt.

Insgesamt kann man aus diesen Ergebnissen schließen, dass eine zunehmende Intensität der Konditionierungstherapie mit einem früheren Erreichen sowie einer höheren Rate eines kompletten Spenderchimärismus einhergeht. Banna *et al.* [55] erklärten in ihrem Review ein insgesamt verzögertes Erreichen eines kompletten Spenderchimärismus im Rahmen der intensitätsreduzierten und nicht-myeloablativen Konditionierung am ehesten mit der fehlenden Myeloablation.

Gegensätzliche Ergebnisse präsentierten Choi *et al.* [56]. Sie zeigten, dass mehr Patienten aus der Gruppe mit komplettem Chimärismus vorher mit einem intensitätsreduzierten Konditionierungsregime behandelt worden waren, als mit einem myeloablativen Regime. Hierzu sei jedoch erwähnt, dass Choi *et al.* in ihrer Studie lediglich Patienten mit nicht-malignen Erkrankungen erfassten (n = 56), was somit nur eine minimale Überschneidung mit dem Patientenkontext unserer Studie ergibt, welches vorrangig unter malignen Erkrankungen litt. Dies resultiert in einer verminderten Vergleichbarkeit. Welche Substanzen für die jeweiligen Konditionierungsregime eingesetzt wurden, war in der beschriebenen Studie nicht aufgeführt.

Sowohl Levrat *et al.* [49], als auch Ringden *et al.* [57], die beide den Chimärismus in einzelnen Zellreihen untersuchten, kamen zu dem Ergebnis, dass es zwischen den Patientengruppen, die mit einem myeloablativen und denjenigen, die mit einem intensitätsreduzierten Konditionierungsregime behandelt worden waren, keine Unterschiede bezüglich des Spenderchimärismuslevels gab. Da unsere Arbeitsgruppe jedoch Augenmerk auf den Chimärismus aller Zellreihen legte, könnte dies die Vergleichbarkeit einschränken. Welche Substanzkombinationen die jeweiligen Konditionierungsgruppen enthielten, war in der Studie von Levrat *et al.* nicht aufgeführt. Das Erkrankungsspektrum der Patienten von Levrat *et al.* war mit dem unserer Arbeitsgruppe zu vergleichen. In der Studie von Ringden *et al.* wurden lediglich Patienten mit myeloischen Leukämien eingeschlossen, die auch in unserer Studie den größten Teil der Erkrankungen ausmachten. Die Literatur zeigt also keine

homogenen Beobachtungen bezüglich des Zusammenhangs zwischen Konditionierung und Chimärismus, wobei die meisten Studien mit unserer Analyse übereinstimmen.

#### 4.2.2 Antikörper

In den Ergebnissen wurde die Signifikanz knapp verpasst, was zeigte, dass Patienten, die ATG Fresenius (Grafalon®) erhalten hatten, eine verringerte Wahrscheinlichkeit aufwiesen, einen Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  an Tag 57 zu erreichen, als Patienten, die keinen Antikörper erhalten hatten. Jedoch sei hierzu angemerkt, dass die Anzahl der Patienten in unserer Studie, die mit ATG Fresenius (Grafalon®) therapiert wurden, lediglich  $n = 9/137$  entsprach, was die Aussagekraft dieses Ergebnisses reduzieren könnte.

In der Literatur fand sich zu dieser Thematik lediglich eine Studie von Toze *et al.* [69], die zeigte, dass das Erreichen eines kompletten Spenderchimärismus negativ durch die Gabe von Alemtuzumab vor der Transplantation beeinflusst wurde. Diese Beobachtungen bedürfen eventuell weiterer Untersuchung mit einem größeren Studienkollektiv, um die Aussagekraft der Ergebnisse einordnen zu können.

#### 4.2.3 CD34+ Zellen

Unsere Arbeitsgruppe fand keine Korrelation zwischen der Anzahl der verabreichten CD34+ Zellen (Median  $6,27 \times 10^6$  /kg KG) und dem Erreichen eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  an Tag 57. Auch die Analyse des Chimärismus bis Tag 1287 nach der Transplantation ergab kein signifikantes Ergebnis hinsichtlich der Anzahl der verabreichten CD34+ Zellen (Median  $6,8 \times 10^6$  /kg KG).

Mit diesen Beobachtungen stimmte auch die Studie von Holtan *et al.* [58] überein. Sie untersuchte 50 Patienten, die nach intensitätsreduzierter Konditionierung eine allogene SZT erhalten hatten und fanden heraus, dass das Erlangen eines kompletten Spenderchimärismus nicht mit der Dosis der CD34+ Zellen zusammenhing. Choi *et al.* [56] zeigten wiederum eine positive Korrelation zwischen der Anzahl der infundierten CD34+ Zellen und dem Grad des Spenderchimärismus. Die Arbeitsgruppe unterschied zwischen einem kompletten Spenderchimärismus, einem geringfügigen gemischten Chimärismus und einem hohen gemischten

Chimärismus. In der erstgenannten Gruppe war der Median der verabreichten Zelldosis  $4 \times 10^6$  /kg KG, in der zweiten Gruppe  $2,15 \times 10^6$  /kg KG und in der dritten Gruppe  $1,04 \times 10^6$  /kg KG. Dies sind insgesamt wesentlich geringere Zelldosen als sie in den beiden Kohorten unserer Arbeitsgruppe verabreicht wurden. Zum einen durch diese Tatsache und zum anderen durch das wesentlich geringere Durchschnittsalter und das betrachtete Krankheitsspektrum, welches lediglich nicht-maligne Erkrankungen umfasste, wird die Vergleichbarkeit mit unserer Studie eingeschränkt.

#### 4.3 Leukozytenengraftment

Je länger die Regeneration der Leukozyten andauerte, desto geringer war die Wahrscheinlichkeit, einen Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  zu erreichen. Dies galt sowohl für die Analyse hinsichtlich eines Erreichens des Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  an Tag 57, als auch für die Analyse der Entwicklung des Chimärismus bis Tag 1287.

Mit diesen Beobachtungen zum Einfluss des Engraftments stimmten die Ergebnisse von Choi *et al.* [56] überein, die das Engraftment von Neutrophilen beobachteten und herausfanden, dass dieses schneller in der Gruppe mit komplettem Spenderchimärismus eintrat, als in der Gruppe, die ein hohes gemischtes Chimärismuslevel aufwies. Eine limitierte Vergleichbarkeit ergibt sich durch das Erkrankungsspektrum der 56 Patienten in der beschriebenen Studie. Dieses bestand ausschließlich in nicht-malignen Erkrankungen, was somit nur eine minimale Überschneidung mit dem Patientenkontext unserer Arbeitsgruppe ergibt.

Konträr dazu zeigten Stikvoort *et al.* [70], dass in der Patientengruppe mit gemischtem Chimärismus eine schnellere Regeneration der Leukozyten stattfand, als in der Gruppe mit komplettem Spenderchimärismus, wobei die Autoren dieses Ergebnis nicht näher erläutern. Die geringe Fallzahl ( $n = 25$ ) in der erwähnten Studie schmälert jedoch eventuell die Aussagekraft dieses Ergebnisses. Hierzu kommt eine eingeschränkte Vergleichbarkeit dadurch, dass die Studie mit pädiatrischen Patienten durchgeführt wurde (medianes Alter 9,5 Jahre) und dass in der Studie lediglich nicht-maligne Krankheitsbilder eingeschlossen wurden, die in der Studie unserer Arbeitsgruppe nicht vorkommen. Angesichts der vorliegenden Beobachtungen unserer Arbeitsgruppe ist die Untersuchung des Zusammenhangs von Leukozytenengraftment und Chimärismus im Rahmen einer Studie mit größerem Probandenkollektiv von

Interesse. Sollten sich die getätigten Beobachtungen verifizieren lassen, so wären weitere Analysen zu Faktoren, die das Leukozytenengraftment beeinflussen, sinnvoll.

#### 4.4 GvHD

Hinsichtlich der aGvHD ergab unsere Studie, dass Patienten, die im Verlauf an einer solchen erkrankten, an Tag 57 eher einen Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  zeigten, als die Patienten, die nicht von einer aGvHD betroffen waren.

Für das Auftreten einer cGvHD, gegenüber dem Ausbleiben einer cGvHD, war das Erreichen eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  an Tag 57 signifikant erhöht. Dieses Ergebnis galt auch im Hinblick auf das Aufrechterhalten des Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  bis Tag 1287.

In der Literatur fanden sich die Ergebnisse unserer Studie weitestgehend bestätigt. So gab es Autoren, deren Analysen eine Korrelation zwischen einem gemischten Chimärismus und einem verminderten Vorkommen einer GVHD ergaben, bzw. zwischen geringerem Spenderchimärismus und vermindertem Vorkommen einer aGvHD oder cGvHD [60, 49, 59]. Entsprechend wurde auch die Korrelation zwischen steigendem Spenderchimärismus und dem Auftreten einer GvHD beschrieben, wobei es sich hier um den T-Zell Chimärismus handelte [71]. Auch über eine fehlende Korrelation zwischen verschiedenen T-Zellchimärismus Leveln und dem Vorkommen einer aGvHD und cGvHD wurde berichtet [47, 61]. Inwiefern sich diese Ergebnisse auf den Chimärismus aller Zellreihen übertragen lassen, den die Arbeitsgruppe unserer Studie beobachtete, ist fraglich. Denn es handelte sich bei diesen zuletzt dargestellten Studien um den Chimärismus einer bestimmten Zellreihe.

Es besteht die Beobachtung einiger Autoren, die aGvHD sei einer der Hauptgründe für die Mortalität innerhalb der ersten 100 Tage nach der Transplantation [72, 73, 38]. Da jedoch in unserer Arbeitsgruppe weder die Mortalität noch das Überleben speziell berücksichtigt wurden, lässt sich hierzu keine abschließende Aussage treffen.

#### 4.5 Remissionsstatus

Eine PR als bestes Remissionsergebnis nach der SZT war im Vergleich zu dem Ergebnis einer CR, mit einer verminderten Wahrscheinlichkeit für einen Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  an Tag 57 assoziiert. Im Modell 2 bestand eine

verminderte Wahrscheinlichkeit, einen Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  an Tag 57 zu erreichen, wenn das beste Ergebnis nach der SZT eine PD war im Vergleich zu einer CR als bestes Ergebnis (bei diesem Ergebnis wurde die Signifikanz knapp verpasst).

Da eine Fallverteilung von CR  $n = 118$ , PR  $n = 12$  und PD  $n = 7$  bestand, ist es möglich, dass die geringen Fallzahlen von PR und PD die Aussagekraft einschränken. In der Literatur beobachteten einige Autoren, dass zum Zeitpunkt einer CR oder PR als Ergebnis der Therapie generell ein kompletter Chimärismus vorlag [59]. Andere Autoren wiederum kamen zu dem Schluss, dass ein großer Anteil von Patienten beim Eintritt der kompletten Remission, einen gemischten Chimärismus hatte [59]. Uzunel *et al.* [74] fanden heraus, dass ein vollständiger T-Zell-Chimärismus wahrscheinlich nicht erforderlich war, um molekulare Remissionen zu erreichen. Diese gegensätzlichen Ergebnisse könnten dadurch beeinflusst sein, dass jeweils unterschiedliche Krankheitsentitäten betrachtet wurden. Bei den betrachteten Studien ist fraglich, inwiefern eine Vergleichbarkeit mit unserer Studie besteht, da lediglich der Chimärismus einer Zellreihe beobachtet wurde. Mehr Überschneidung, was die Krankheitsbilder betraf, fand sich mit den Studiengruppen, die bei Remission generell einen kompletten Chimärismus beobachteten. Da die Ausprägung der verschiedenen Remissionsstadien in unserer Studie durch zahlenmäßiges Ungleichgewicht auffiel, sind zur höheren Aussagekraft weitere Studien mit ausgewogener Ausprägung der Merkmale sinnvoll.

#### 4.6 Rezidiv oder Progress

Ein signifikanter Unterschied zwischen der Patientengruppe, die ein Rezidiv oder einen Progress erlitten hatte und der Gruppe, die rezidiv- bzw. progressfrei blieb, hinsichtlich des Vorhandenseins eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$ , zeigte sich weder mit Blick auf Tag 57 noch in Bezug auf den Verlauf des Chimärismus bis Tag 1287.

In der Literatur dagegen ergab sich das einheitliche Bild des Zusammenhangs zwischen dem Rezidiv- bzw. Progressvorkommen und dem Chimärismus. So zeigten Koreth *et al.* [60] und Lamba *et al.* [48] in ihren Studien, dass ein ausgeprägter Spenderchimärismus mit einer geringeren Rezidivrate einherging. Auch Reshef *et al.* [67] zeigten in ihrer Studie ein abnehmendes Risiko für einen Relaps bei zunehmendem Spenderchimärismus der T-Zellen. Mit diesen Beobachtungen

stimmten auch Arbeiten von Autoren überein, die im Review von Baron *et al.* [59] skizziert wurden. Statt des Chimärismus aller Zellreihen- untersuchten sie den T-Zell Chimärismus. Auch hier bedeutete ein höherer T-Zell Spenderchimärismus ein geringeres Vorkommen von Rezidiven bzw. eine größere Wahrscheinlichkeit für ein progressfreies Überleben. Die Vergleichbarkeit ist dadurch eingeschränkt, dass lediglich der Chimärismus einer Zellreihe beobachtet wurde. Die Kohorte, welche in unserer Studie beobachtet wurde, hatte bereits die ersten 57 Tage überlebt, weshalb hier nicht die Patienten mit eingefasst wurden, welche an Frührezidiven verstarben, was eventuell noch mehr interessante Zusammenhänge zwischen Rezidiven bzw. Progress und Chimärismus hätte bieten können. Dies könnte ein Grund dafür sein, dass die Ergebnisse unserer Studie nicht mit denen der Literatur übereinstimmen.

## 5 Zusammenfassung

Als wesentliche Faktoren, die mit dem Erreichen eines Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  korrelierten, wurden das Auftreten einer aGvHD oder cGvHD im Vergleich zum jeweiligen Ausbleiben beider Formen der GvHD, ebenso wie die Empfängerblutgruppe A im Vergleich zu 0 sowie eine fehlende Blutgruppenkompatibilität zwischen Empfänger und Spender im Vergleich zur Blutgruppenkompatibilität beider identifiziert (wobei bei letzterem Ergebnis die Signifikanz in einem Modell knapp verpasst wurde).

Im Gegenzug verringerte sich die Wahrscheinlichkeit, einen Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  zu erreichen mit steigendem Spenderalter, ebenso mit steigender Dauer des Engraftments der Leukozyten sowie bei einer PR im Vergleich zu einer CR als bestes Remissionsergebnis. Außerdem zeigten Patienten, die mit einem intensitätsreduzierten Konditionierungsregime behandelt worden waren, weniger wahrscheinlich einen Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$ , als diejenigen, die ein myeloablatives Konditionierungsschema erhalten hatten. Gleiches galt für Patienten, die mit dem Antikörper ATG Fresenius (Grafalon<sup>®</sup>) behandelt worden waren, im Vergleich zu den Patienten, die keinen Antikörper erhalten hatten.

Insgesamt wiesen an Tag 57 nach allogener SZT 102/137 der allogenen transplantierten Patienten einen Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  auf, wohingegen 32/50 Patienten einen konstanten Spenderchimärismus von  $\geq 95\%$  bis Tag 1287 behielten. Die signifikanten Ergebnisse hinsichtlich der Korrelation zwischen Chimärismus und Spenderalter, Blutgruppeninkompatibilität sowie dem Antikörper ATG Fresenius (Grafalon<sup>®</sup>) wurden nach dem Kenntnisstand unserer Arbeitsgruppe bisher noch nicht in der Literatur beschrieben, und können somit als neue Erkenntnisse auf diesem Forschungsgebiet gewertet werden.

## 6 Abkürzungsverzeichnis

aGvHD	=	Akute GvHD
AITL	=	Angioimmunoblastisches T-Zell Lymphom
ALL	=	Akute lymphatische Leukämie
AML	=	Akute myeloische Leukämie
APL	=	Akute promyelozyten Leukämie
BAL	=	Biphänotypische akute Leukämie
B-NHL	=	B-Zell-Non-Hodgkin-Lymphom
BU	=	Busulfan
cGvHD	=	Chronische GvHD
CLL	=	Chronisch lymphatische Leukämie
CML	=	Chronisch myeloische Leukämie
CMML	=	Chronische myelomonozytäre Leukämie
CMV	=	Cytomegalievirus
CO	=	Klinische Option (engl. <i>clinical option</i> )
CR	=	Komplette Remission (engl. <i>complete remission</i> )
CR1	=	Erste komplette Remission (engl. <i>first complete remission</i> )
CY	=	Cyclophosphamid
DIPSS	=	<i>Dynamic International Prognostic Scoring System</i>
DLBCL	=	Diffus großzelliges B-Zell-Lymphom (engl. <i>diffuse large B-cell lymphoma</i> )
EBMT	=	<i>European Society for Blood and Marrow Transplantation</i>
FL	=	Follikuläres Lymphom
FLU	=	Fludarabin
GI	=	Gastrointestinal
GNR	=	Generell nicht empfohlen (engl. <i>generally not recommended</i> )
Gpt/l	=	Giga-Partikel pro Liter
GvHD	=	Spender-gegen-Wirt-Erkrankung (engl. <i>graft-versus-host-disease</i> )
Gy	=	Gray
HL	=	Hodgkin Lymphom
HLA	=	Humane Leukozyten Antigene (engl. <i>human leukocyte antigens</i> )
MCL	=	Mantelzelllymphom (engl. <i>mantle cell lymphoma</i> )
MDS	=	Myelodysplastisches Syndrom



MEL	=	Melphalan
MM	=	Multiples Myelom
MMUD	=	Teilkompatibler unverwandter Spender (engl. <i>mismatched unrelated donor</i> )
MW	=	Morbus Waldenström
MUD	=	Kompatibler unverwandter Spender (engl. <i>matched unrelated donor</i> )
OMF	=	Osteomyelofibrose
PBL	=	Plasmoblastisches Lymphom
PCR	=	Polymerase-Kettenreaktion (engl. <i>polymerase chain reaction</i> )
PD	=	Progressive Erkrankung (engl. <i>progressive disease</i> )
PR	=	Partielle Remission (engl. <i>partial remission</i> )
PTCL	=	Peripheres T- Zell Lymphom (engl. <i>peripheral T-cell lymphoma</i> )
S	=	Standardindikation
SAA	=	Schwere Aplastische Anämie
SD	=	Stabile Erkrankung (engl. <i>stable disease</i> )
SZT	=	Stammzelltransplantation
TBI	=	Ganzkörperbestrahlung (engl. <i>total-body irradiation</i> )
TCL	=	T-Zell-Lymphom (engl. <i>T-cell lymphoma</i> )
T-NHL	=	T-Zell-Non-Hodgkin-Lymphom
T-PLL	=	T-Zell-Prolymphozytenleukämie
TREO	=	Treosulfan

## 7 Literaturverzeichnis

- [1] Nagler, A.; Shimoni, A.: Conditioning, in: Carreras, E.; Dufour, C.; Mohty, M.; Kröger, N. (Hrsg.): The EBMT Handbook, Cham: Springer International Publishing, 2019, S. 99–108
- [2] Carreras, E.; Rambaldi, A.: Evaluation and Counseling of Candidates, in: Carreras, E.; Dufour, C.; Mohty, M.; Kröger, N. (Hrsg.): The EBMT Handbook, Cham: Springer International Publishing, 2019, S. 77–86
- [3] Henig, I.; Zuckerman, T.: Hematopoietic Stem Cell Transplantation-50 years of Evolution and Future Perspectives, Rambam Maimonides Medical Journal 5 (2014), Nr. 4, e0028
- [4] Kröger, N.: DAG-KBT Leitlinien-Autologe Stammzelltransplantation Einführung, 2016, Online Quelle
- [5] Kröger, N.; Burchert, A.; Niederwieser, D.; Schmid, C.; Wulf, G.: DAG-KBT Leitlinien zur allogenen Stammzelltransplantation, Konditionierung, 2016
- [6] Barnes, D. W.; Corp, M. J.; Loutit, J. F.; Neal, F. E.: Treatment of Murine Leukaemia with X Rays and Homologous Bone Marrow; Preliminary Communication, British Medical Journal 2 (1956), Nr. 4993, S. 626–627
- [7] Zander, A. R.: Bausteine der hämatopoetischen Stammzelltransplantation, in: Kröger, N.; Zander, A. R. (Hrsg.): Allogene Stammzelltherapie - Grundlagen, Indikationen und Perspektiven, 3. Aufl., UNI-MED Science, Bremen: UNI-MED-Verl., 2011, S. 12–15
- [8] Storb, R. F.: HSCT: Historical Perspective, in: Carreras, E.; Dufour, C.; Mohty, M.; Kröger, N. (Hrsg.): The EBMT Handbook, Cham: Springer International Publishing, 2019, S. 3–10
- [9] Mathe, G.; Amiel, J. L.; Schwarzenberg, L.; Cattani, A.; Schneider, M.: Adoptive Immunotherapy of Acute Leukemia: Experimental and Clinical Results, Cancer Research 25 (1965), Nr. 9, S. 1525–1531
- [10] Mathe, G.; Amiel, J. L.; Schwarzenberg, L.; Cattani, A.; Schneider, M.; Devries, M. J.; Tubiana, M.; Lalanne, C.; Binet, J. L.; Papiernik, M.; Seman, G.; Matsukura, M.; Mery, A. M.; Schwarzmann, V.; Flaisler, A.: Successful allogeneic Bone Marrow Transplantation in Man: Chimerism, Induced Specific Tolerance and Possible Anti-Leukemic Effects, Blood 25 (1965), S. 179–196
- [11] Epstein, R. B.; Storb, R. F.; Ragde, H.; Thomas, E. D.: Cytotoxic Typing Antisera for Marrow Grafting in Littermate Dogs, Transplantation 6 (1968), Nr. 1, S. 45–58
- [12] Thomas, E. D.; Buckner, C. D.; Clift Reginald A.; Fefer Alexander; Johnson F. Leonard; Neiman Paul E.; Sale George E.; Sanders Jean E.; Singer Jack W.; Shulman, H.; Storb, R. F.; Weiden Paul L.: Marrow Transplantation for Acute Nonlymphoblastic Leukemia in First Remission, New England Journal of Medicine 301 (1979), Nr. 11, S. 597–599
- [13] Storb, R. F.; Deeg, H. J.; Whitehead, J.; Appelbaum, F. R.; Beatty, P.; Bensinger, W.; Buckner, C. D.; Clift, R. A.; Doney, K.; Farewell, V.; Hansen, J. A.; Hill, R.; Lum, L.; Martin, P.; McGuffin, R.; Sanders, J. E.; Stewart, P.; Sullivan, K.; Witherspoon, R.; Yee Gary; Thomas, E. D.: Methotrexate and Cyclosporine Compared with Cyclosporine Alone for Prophylaxis of Acute Graft versus Host Disease after Marrow Transplantation for Leukemia, The New England Journal of Medicine 314 (1986), Nr. 12, S. 729–735

- [14] Beelen, D. W.; Bornhäuser, M.; Dreger, P.; Einsele, H.; Kröger, N.; Passweg, J. R.; Zeiser, R.: DAG-KBT Leitlinien zur allogenen Stammzelltransplantation, Indikationen zur allogenen SZT, 2016, Online Quelle
- [15] Duarte, R. F.; Labopin, M.; Bader, P.; Basak, G. W.; Bonini, C.; Chabannon, C.; Corbacioglu, S.; Dreger, P.; Dufour, C.; Gennery, A. R.; Kuball, J.; Lankester, A. C.; Lanza, F.; Montoto, S.; Nagler, A.; Peffault de Latour, R.; Snowden, J. A.; Styczynski, J.; Yakoub-Agha, I.; Kröger, N.; Mohty, M.: Indications for haematopoietic stem cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2019, Bone Marrow Transplantation 54 (2019), Nr. 10, S. 1525–1552
- [16] Hoffbrand A. V.; Pettit, J. E.; Schmidt, R. W.: Sandoz Atlas; Klinische Hämatologie, Basel: Sandoz, 1989
- [17] Hübel, K.: Mobilization and Collection of HSC, in: Carreras, E.; Dufour, C.; Mohty, M.; Kröger, N. (Hrsg.): The EBMT Handbook, Cham: Springer International Publishing, 2019, S. 117–122
- [18] Kröger, N.: Knochenmark, in: Kröger, N.; Zander, A. R. (Hrsg.): Allogene Stammzelltherapie - Grundlagen, Indikationen und Perspektiven, 3. Aufl., UNI-MED Science, Bremen: UNI-MED-Verl., 2011, S. 25–26
- [19] Kröger, N.: Periphere Blutstammzellen, in: Kröger, N.; Zander, A. R. (Hrsg.): Allogene Stammzelltherapie - Grundlagen, Indikationen und Perspektiven, 3. Aufl., UNI-MED Science, Bremen: UNI-MED-Verl., 2011, S. 26–27
- [20] Ayuk, F.; Balduzzi, A.: Donor Selection for Adults and Pediatrics, in: Carreras, E.; Dufour, C.; Mohty, M.; Kröger, N. (Hrsg.): The EBMT Handbook, Cham: Springer International Publishing, 2019, S. 87–98
- [21] Spierings, E.; Fleischhauer, K.: Histocompatibility, in: Carreras, E.; Dufour, C.; Mohty, M.; Kröger, N. (Hrsg.): The EBMT Handbook, Cham: Springer International Publishing, 2019, S. 61–68
- [22] Thorsby, E.: A short history of HLA, Tissue Antigens 74 (2009), Nr. 2, S. 101–116
- [23] Eiermann, T.; Binder, T.: Humanes Leukozyten Antigen (HLA), in: Kröger, N.; Zander, A. R. (Hrsg.): Allogene Stammzelltherapie - Grundlagen, Indikationen und Perspektiven, 3. Aufl., UNI-MED Science, Bremen: UNI-MED-Verl., 2011, S. 16–23
- [24] Bornhäuser, M.; Bethge, W.; Einsele, H.; Kobbe, G.; Kröger, N.; Mielke, S.; Müller, C.; Mytilineos, J.; Ottinger, H.; Schönemann, C.: DAG-KBT Leitlinien zur allogenen Stammzelltransplantation, Spenderauswahl zur allogenen Stammzelltransplantation, 2016, Online Quelle
- [25] Shaw, B. E.; Mayor, N. P.; Szydlo, R. M.; Bultitude, W. P.; Anthias, C.; Kirkland, K.; Perry, J.; Clift, R. A.; Mackinnon, S.; Marks, D. I.; Pagliuca, A.; Potter, M. N.; Russell, N. H.; Thomson, K.; Madrigal, J. A.; Marsh, S. G. E.: Recipient/donor HLA and CMV matching in recipients of T-cell-depleted unrelated donor haematopoietic cell transplants, Bone Marrow Transplantation 52 (2017), Nr. 5, S. 717–725
- [26] Evseeva, I.; Foeken, L.; Madriga, A.: The Role of Unrelated Donor Registries in HSCT, in: Carreras, E.; Dufour, C.; Mohty, M.; Kröger, N. (Hrsg.): The EBMT Handbook, Cham: Springer International Publishing, 2019, S. 19–26
- [27] Kollman, C.; Spellman, S. R.; Zhang, M.-J.; Hassebroek, A.; Anasetti, C.; Antin, J. H.; Champlin, R. E.; Confer, D. L.; DiPersio, J. F.; Fernandez-Vina, M.; Hartzman, R. J.; Horowitz, M. M.; Hurley, C. K.; Karanes, C.; Maiers, M.; Mueller, C. R.; Perales, M.-A.; Setterholm, M.; Woolfrey, A. E.; Yu, N.; Eapen, M.: The effect of

- donor characteristics on survival after unrelated donor transplantation for hematologic malignancy, *Blood* 127 (2016), Nr. 2, S. 260–267
- [28] Panse, J.: GvHD Prophylaxe, in: Kröger, N.; Zander, A. R. (Hrsg.): *Allogene Stammzelltherapie - Grundlagen, Indikationen und Perspektiven*, 3. Aufl., UNI-MED Science, Bremen: UNI-MED-Verl., 2011, S. 101–111
- [29] Booth, G. S.; Gehrie, E. A.; Bolan, C. D.; Savani, B. N.: *Clinical Guide to ABO-Incompatible Allogeneic Stem Cell Transplantation*, *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 19 (2013), Nr. 8, S. 1152–1158
- [30] Green, J. S.; Shanley, R. M.; Brunstein, C. G.; Young, J.-A. H.; Verneris, M. R.: Mixed vs full donor engraftment early after hematopoietic cell transplant: Impact on incidence and control of cytomegalovirus infection, *Transplant Infectious Disease* 21 (2019), Nr. 3, e13070
- [31] Shaw, B. E.; Logan, B. R.; Spellman, S. R.; Marsh, S. G. E.; Robinson, J.; Pidala, J.; Hurley, C. K.; Barker, J.; Maiers, M.; Dehn, J.; Wang, H.; Haagenson, M.; Porter, D. L.; Petersdorf, E. W.; Woolfrey, A. E.; Horowitz, M. M.; Verneris, M. R.; Hsu, K. C.; Fleischhauer, K.; Lee, S. J.: Development of an Unrelated Donor Selection Score Predictive of Survival after HCT: Donor Age Matters Most, *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 24 (2018), Nr. 5, S. 1049–1056
- [32] Hutt, D.: Engraftment, Graft Failure, and Rejection, in: Kenyon, M.; Babic, A. (Hrsg.): *The European Blood and Marrow Transplantation Textbook for Nurses*, Cham (CH): Springer, S. 259-270
- [33] Bacigalupo, A.; Ballen, K.; Rizzo, D.; Giralto, S.; Lazarus, H.; Ho, V. T.; Apperley, J.; Slavin, S.; Pasquini, M.; Sandmaier, B. M.; Barrett, J.; Blaise, D.; Lowski, R.; Horowitz, M. M.: Defining the Intensity of Conditioning Regimens: Working Definitions, *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 15 (2009), Nr. 12, S. 1628–1633
- [34] Michonneau, D.; Socié, G.: GVHD Prophylaxis (Immunosuppression), in: Carreras, E.; Dufour, C.; Mohty, M.; Kröger, N. (Hrsg.): *The EBMT Handbook*, Cham: Springer International Publishing, 2019, S. 177–182
- [35] Murray, J.; Stringer, J.; Hutt, D.: Graft-Versus-Host Disease (GvHD), in: Kenyon, M.; Babic, A. (Hrsg.): *The European Blood and Marrow Transplantation Textbook for Nurses*, Cham (CH): Springer, S. 221–252
- [36] Ghimire, S.; Weber, D.; Mavin, E.; Wang, X. N.; Dickinson, A. M.; Holler, E.: Pathophysiology of GvHD and other HSCT-related Major Complications, *Frontiers in Immunology* 8 (2017), Artikel 79
- [37] Jamil, M. O.; Mineishi, S.: State-of-the-art acute and chronic GVHD treatment, *International Journal of Haematology* 101 (2015), Nr. 5, S. 452–466
- [38] Holler, E.; Greinix, H. T.; Zeiser, R.: Acute Graft-Versus-Host Disease, in: Carreras, E.; Dufour, C.; Mohty, M.; Kröger, N. (Hrsg.): *The EBMT Handbook*, Cham: Springer International Publishing, 2019, S. 323–330
- [39] Zeiser, R.; Dreger, P.; Finke, J.; Greinix, H. T.; Holler, E.; Luft, T.; Mielke, S.; Scheid, C.; Wolff, D.: *DAG-KBT Leitlinien zur allogenen Stammzelltransplantation, GvHD-Prophylaxe und Therapie*, 2016, Online Quelle
- [40] Wolff, D.; Lawitschka, A.: Chronic Graft-Versus-Host Disease, in: Carreras, E.; Dufour, C.; Mohty, M.; Kröger, N. (Hrsg.): *The EBMT Handbook*, Cham: Springer International Publishing, 2019, S. 331–346
- [41] Jagasia, M. H.; Savani, B. N.; Stricklin, G.; Engelhardt, B.; Kassim, A.; Dixon, S.; Chen, H.; Chinratanalab, W.; Goodman, S.; Greer, J. P.; Schuening, F.: Classic

- and overlap chronic graft-versus-host disease (cGVHD) is associated with superior outcome after extracorporeal photopheresis (ECP), *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 15 (2009), Nr. 10, S. 1288–1295
- [42] Grube, M.; Holler, E.; Weber, D.; Holler, B.; Herr, W.; Wolff, D.: Risk Factors and Outcome of Chronic Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Stem Cell Transplantation-Results from a Single-Center Observational Study, *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 22 (2016), Nr. 10, S. 1781–1791
- [43] Ford, C. E., Hamerton J. L., Barnes, D. W. H., & Loutit, J. F.: Cytological Identification of Radiation-Chimæras, *Nature* 177 (1956), Nr. 4506, 452–454
- [44] Bader, P.: Documentation of Engraftment and Chimerism After HSCT, in: Carreras, E.; Dufour, C.; Mohty, M.; Kröger, N. (Hrsg.): *The EBMT Handbook*, Cham: Springer International Publishing, 2019, S. 143–148
- [45] Bader, P.; Bornhäuser, M.; Grigoleit, U.; Kröger, N.: DAG-KBT Leitlinien, Monitoring nach allogener Stammzelltransplantation – Chimärisusanalyse und Bestimmung der minimalen Resterkrankung (MRD), 2016, Online Quelle
- [46] Mohamedbhai, S. G.; Edwards, N.; Morris, E. C.; Mackinnon, S.; Thomson, K. J.; Peggs, K. S.: Predominant or complete recipient T-cell chimerism following alemtuzumab-based allogeneic transplantation is reversed by donor lymphocytes and not associated with graft failure, *British Journal of Haematology* 156 (2012), Nr. 4, S. 516–522
- [47] Kinsella, F. A. M.; Inman, C. F.; Gudger, A.; Chan, Y. T.; Murray, D. J.; Zuo, J.; McIlroy, G.; Nagra, S.; Nunnick, J.; Holder, K.; Wall, K.; Griffiths, M.; Craddock, C.; Nikolousis, E.; Moss, P. A. H.; Malladi, R.: Very early lineage-specific chimerism after reduced intensity stem cell transplantation is highly predictive of clinical outcome for patients with myeloid disease, *Leukemia Research* 83 (2019), Artikel 106173
- [48] Lamba, R.; Abella, E.; Kukuruga, D.; Klein, J.; Savasan, S.; Abidi, M. H.; Mohamed, A.; Peres, E.: Mixed hematopoietic chimerism at day 90 following allogeneic myeloablative stem cell transplantation is a predictor of relapse and survival, *Leukemia* 18 (2004), Nr. 10, S. 1681–1686
- [49] Levrat, E.; Roosnek, E.; Masouridi, S.; Mohty, B.; Ansari, M.; Villard, J.; Passweg, J. R.; Chalandon, Y.: Very Long-Term Stability of Mixed Chimerism after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Patients with Hematologic Malignancies, *Bone Marrow Research* 2015 (2015), Artikel 176526
- [50] Ting, D. T.; Spitzer, T. R.; Chaudhary, A.; Muzikansky, A.; Colby, C.; Power, K.; McAfee, S.; Ballen, K.; Attar, E.; Saidman, S. L.; Preffer, F.; Sykes, M.; Dey, B. R.: Clinical outcomes of late rather than early full-donor chimerism in patients with advanced lymphomas receiving nonmyeloablative allogeneic hematopoietic SCT, *Bone Marrow Transplantation* 42 (2008), Nr. 5, S. 329–335
- [51] Sellar, R. S.; Vargas, F. A.; Henry, J. Y.; Verfuëth, S.; Charrot, S.; Beaton, B.; Chakraverty, R.; Quezada, S. A.; Mackinnon, S.; Thomson, K. J.; Peggs, K. S.: CMV promotes recipient T-cell immunity following reduced-intensity T-cell-depleted HSCT, significantly modulating chimerism status, *Blood* 125 (2015), Nr. 4, S. 731–739
- [52] Faraci, M.; Bagnasco, F.; Leoni, M.; Giardino, S.; Terranova, P.; Subissi, L.; Di Duca, M.; Di Martino, D.; Lanino, E.: Evaluation of Chimerism Dynamics after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children with Nonmalignant Diseases, *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 24 (2018), Nr. 5, S. 1088–1093

- [53] Rezvani, A. R.; Storer, B. E.; Guthrie, K. A.; Schoch, H. G.; Maloney, D. G.; Sandmaier, B. M.; Storb, R. F.: Impact of Donor Age on Outcome after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation, *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 21 (2015), Nr. 1, S. 105–112
- [54] Wiedemann, B.; Klyuchnikov, E.; Kröger, N.; Zabelina, T.; Stahl, T.; Zeschke, S.; Badbaran, A.; Ayuk, F.; Alchalby, H.; Wolschke, C.; Bokemeyer, C.; Fehse, B.; Zander, A. R.; Bacher, U.: Chimerism studies with quantitative real-time PCR in stem cell recipients with acute myeloid leukemia, *Experimental Hematology* 38 (2010), Nr. 12, S. 1261–1271
- [55] Banna, G. L.; Aversa, S.; Sileni, V. C.; Favaretto, A.; Ghiotto, C.; Monfardini, S.: Nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation (NST) after truly nonmyeloablative and reduced intensity conditioning regimens, *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 51 (2004), Nr. 3, S. 171–189
- [56] Choi, Y. B.; Lee, J. W.; Sung, K. W.; Koo, H. H.; Kim, H.-J.; Yoo, K. H.: Impact of Day 14 Peripheral Blood Chimerism after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Bone Transplantation on the Treatment Outcome of Non-Malignant Disease, *Journal of Korean Medical Science* 34 (2019), Nr. 6, e46
- [57] Ringden, O.; Erkers, T.; Aschan, J.; Garming-Legert, K.; Le Blanc, K.; Hägglund, H.; Omazic, B.; Svenberg, P.; Dahllöf, G.; Mattsson, J.; Ljungman, P.; Remberger, M.: A prospective randomized toxicity study to compare reduced-intensity and myeloablative conditioning in patients with myeloid leukaemia undergoing allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, *Journal of Internal Medicine* 274 (2013), Nr. 2, S. 153–162
- [58] Holtan, S. G.; Hogan, W. J.; Elliott, M. A.; Ansell, S. M.; Inwards, D. J.; Porrata, L. F.; Johnston, P. B.; Micallef, I. N.; Lacy, M. Q.; Gastineau, D. A.; Litzow, M. R.: CD34+ cell dose and establishment of full donor chimerism at day +100 are important factors for survival with reduced-intensity conditioning with fludarabine and melphalan before allogeneic hematopoietic SCT for hematologic malignancies, *Bone Marrow Transplantation* 45 (2010), Nr. 12, S. 1699–1703
- [59] Baron, F.; Sandmaier, B. M.: Chimerism and outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation following nonmyeloablative conditioning, *Leukemia* 20 (2006), Nr. 10, S. 1690–1700
- [60] Koreth, J.; Kim, H. T.; Nikiforow, S.; Milford, E. L.; Armand, P.; Cutler, C. S.; Glotzbecker, B.; Ho, V. T.; Antin, J. H.; Soiffer, R. J.; Ritz, J.; Alyea, E. P.: Donor chimerism early after reduced-intensity conditioning hematopoietic stem cell transplantation predicts relapse and survival, *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 20 (2014), Nr. 10, S. 1516–1521
- [61] Lee, H. C.; Saliba, R. M.; Rondon, G.; Chen, J.; Charafeddine, Y.; Medeiros, L. J.; Alatrash, G.; Andersson, B. S.; Popat, U.; Kebriaei, P.; Ciurea, S. O.; Oran, B.; Shpall, E. J.; Champlin, R. E.: Mixed T Lymphocyte Chimerism after Allogeneic Hematopoietic Transplantation Is Predictive for Relapse of Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes, *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 21 (2015), Nr. 11, S. 1948–1954
- [62] Butler, J. M.: Constructing STR Multiplex Assays, in: Carracedo, A. (Hrsg.): *Methods in Molecular Biology*, Bd. 297, Gaithersburg, 2005, S. 53–66
- [63] Life Technologies Corporation: Workflow overview, AmpFISTR® Identifiler® PCR Amplification Kit User Guide (2012), S. 15–16
- [64] Marsh, R. A.; Rao, M. B.; Gefen, A.; Bellman, D.; Mehta, P. A.; Khandelwal, P.; Chandra, S.; Jodele, S.; Myers, K. C.; Grimley, M.; Dandoy, C.; El-Bietar, J.; Kumar,

- A. R.; Leemhuis, T.; Zhang, K.; Bleesing, J. J.; Jordan, M. B.; Filipovich, A. H.; Davies, S. M.: Experience with Alemtuzumab, Fludarabine, and Melphalan Reduced-Intensity Conditioning Hematopoietic Cell Transplantation in Patients with Nonmalignant Diseases Reveals Good Outcomes and That the Risk of Mixed Chimerism Depends on Underlying Disease, Stem Cell Source, and Alemtuzumab Regimen, *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 21 (2015), Nr. 8, S. 1460–1470
- [65] Neumann, T.; Schneidewind, L.; Thiele, T.; Schulze, M.; Klenner, A. F.; Busemann, C.; Pink, D.; Greinacher, A.; Dölken, G.; Krüger, W. H.: Reduced platelet transfusions and earlier platelet engraftment using alemtuzumab-based conditioning regimen in allogeneic stem cell transplantation, *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 142 (2016), Nr. 5, S. 1091–1097
- [66] Duarte, R. F.; Sánchez-Ortega, I.: HSCT in Elderly Patients, in: Carreras, E.; Dufour, C.; Mohty, M.; Kröger, N. (Hrsg.): *The EBMT Handbook*, Cham: Springer International Publishing, 2019, S. 499–503
- [67] Reshef, R.; Hexner, E. O.; Loren, A. W.; Frey, N. V.; Stadtmauer, E. A.; Luger, S. M.; Mangan, J. K.; Gill, S. I.; Vassilev, P.; Lafferty, K. A.; Smith, J.; van Deerlin, V. M.; Mick, R.; Porter, D. L.: Early Donor Chimerism Levels Predict Relapse and Survival after Allogeneic Stem Cell Transplantation with Reduced-Intensity Conditioning, *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 20 (2014), Nr. 11, S. 1758–1766
- [68] Lee, S. J.; Klein, J.; Haagenson, M.; Baxter-Lowe, L. A.; Confer, D. L.; Eapen, M.; Fernandez-Vina, M.; Flomenberg, N.; Horowitz, M. M.; Hurley, C. K.; Noreen, H.; Oudshoorn, M.; Petersdorf, E. W.; Setterholm, M.; Spellman, S. R.; Weisdorf, D.; Williams, T. M.; Anasetti, C.: High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation, *Blood* 110 (2007), Nr. 13, S. 4576–4583
- [69] Toze, C. L.; Dalal, C. B.; Nevill, T. J.; Gillan, T. L.; Abou Mourad, Y. R.; Barnett, M. J.; Broady, R. C.; Forrest, D. L.; Hogge, D. E.; Nantel, S. H.; Power, M. M.; Song, K. W.; Sutherland, H. J.; Smith, C. A.; Narayanan, S.; Young, S. S.; Connors, J. M.; Shepherd, J. D.: Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukaemia: outcome in a 20-year cohort, *British Journal of Haematology* 158 (2012), Nr. 2, S. 174–185
- [70] Stikvoort, A.; Gertow, J.; Sundin, M.; Remberger, M.; Mattsson, J.; Uhlin, M.: Chimerism Patterns of Long-Term Stable Mixed Chimeras Posthematopoietic Stem Cell Transplantation in Patients with Nonmalignant Diseases: Follow-up of Long-Term stable Mixed Chimerism Patients, *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 19 (2013), Nr. 5, S. 838–844
- [71] Antin, J. H.; Childs, R.; Filipovich, A. H.; Giral, S.; Mackinnon, S.; Spitzer, T. R.; Weisdorf, D.: Establishment of Complete and Mixed Donor Chimerism after Allogeneic Lymphohematopoietic transplantation: Recommendations from a Workshop at the 2001 Tandem Meetings of the International Bone Marrow Transplant Registry and the American Society of Blood and Marrow Transplantation, *Biology of Blood and Marrow transplantation* 7 (2001), Nr. 9, S. 473–485
- [72] Ferrara, J. L. M.; Levine, J. E.; Reddy, P.; Holler, E.: Graft-versus-Host Disease, *Lancet* 373 (2009), Nr. 9674, S. 1550–1561

- [73] Teshima, T.; Reddy, P.; Zeiser, R.: Acute Graft-versus-Host Disease: Novel Biological Insights, *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 22 (2016), Nr. 1, S. 11–16
- [74] Uzunel, M.; Mattsson, J.; Brune, M.; Johansson, J.-E.; Aschan, J.; Ringdén, O.: Kinetics of minimal residual disease and chimerism in patients with chronic myeloid leukemia after nonmyeloablative conditioning and allogeneic stem cell transplantation, *Blood* 101 (2003), Nr. 2, S. 469–472



## 8 Anhang

### 8.1 Diagnosen des Patientenkollektivs.

Erkrankung	n	%
AML	55	40,9
ALL	13	9,5
MDS	10	7,3
T-NHL	8	5,8
CLL	7	5,1
DLBCL	7	5,1
CML	6	4,4
FL	6	4,4
MCL	5	3,6
BAL	3	2,2
CMML	3	2,2
OMF	3	2,2
MM	2	1,5
PBL	2	1,5
AITL	1	0,7
FL/DLBCL	1	0,7
MDS/OMF	1	0,7
SAA	1	0,7
T-PLL	1	0,7
B-NHL	1	0,7

### 8.2 Übersichtstabelle der Ergebnisse der Regressionsanalyse für Modell 1 (Kohorte an Tag 57)

Anzahl	Variable	Ausprägungen		p-Wert	Odds	95% Konfidenzintervall	
		Referenz	Ausprägung			unten	oben
1	Geschlecht Empfänger	Männer	Frauen	0,21908	0,424	0,108	1,665
2	Alter Empfänger	n.a.	n.a.	0,92052	1,004	0,936	1,077
3	Geschlecht Spender	Männer	Frauen	0,10954	0,301	0,069	1,310
4	Alter Spender	n.a.	n.a.	0,03249	0,930	0,870	0,994
5	CD34+ Zellzahl	n.a.	n.a.	0,87846	0,978	0,736	1,300
6	Leukozytenengraftment	n.a.	n.a.	0,01508	0,832	0,717	0,965
7	Spendertyp	verwandt	unverwandt	0,72938	1,434	0,186	11,050
8	Mismatch	nein	ja	0,725	0,769	0,178	3,316
9	aGvHD	nein	ja	0,08166	4,716	0,823	27,029
10	cGvHD	nein	ja	0,00401	10,287	2,103	50,335
11	CMV-Status	E(-); S(-)	E+S(+)	0,16072	0,217	0,026	1,836
			E(-); S(+)	0,69516	0,359	0,002	60,329
			E(+); S(-)	0,80038	0,806	0,152	4,277
12	Blutgruppe Empfänger	0	A	0,02163	6,211	1,307	29,517
			B	0,27017	3,047	0,421	22,071
			AB	0,88746	0,785	0,027	22,448
13	Blutgruppenkompatibilität	ja	nein	0,05299	3,672	0,983	13,714
14	Rezidiv/Progress	nein	ja	0,82271	1,176	0,285	4,844
15	Bestes Remissionsergebnis	CR	PR	0,00163	0,012	0,001	0,185
			PD	0,12459	0,118	0,008	1,803
16	Konditionierung	myeloablative	intensitätsreduziert	0,01569	0,085	0,011	0,628
			nicht-myeloablative	0,83417	0,843	0,171	4,158
17	Antikörper	n.a.	ATG Fresenius	0,05988	0,001	0,000	1,326
			ATG Genzyme	0,20487	0,015	0,000	10,037
			Alemtuzumab	0,22052	0,019	0,000	10,770

n.a. = nicht anwendbar; E = Empfänger; S = Spender; a/cGvHD = akute/chronische Graft-versus-Host-Reaktion; (+) = positiv; (-) = negativ; CR = komplette Remission; PR = partielle Remission; PD = progressive Erkrankung

### 8.3 Übersichtstabelle der Ergebnisse der Regressionsanalyse für Modell 2 (Kohorte an Tag 57)

Anzahl	Variable	Ausprägungen		p-Wert	Odds	95% Konfidenzintervall	
		Referenz	Ausprägung			unten	oben
1	Geschlecht Empfänger	Männer	Frauen	0,075	0,302	0,081	1,128
2	Alter Empfänger	n.a.	n.a.	0,738	0,989	0,925	1,057
3	Geschlecht Spender	Männer	Frauen	0,292	0,489	0,129	1,848
4	Alter Spender	n.a.	n.a.	0,027	0,931	0,874	0,992
5	CD34+ Zellzahl	n.a.	n.a.	0,723	0,953	0,730	1,244
6	Leukozytengraftment	n.a.	n.a.	0,013	0,837	0,728	0,963
7	Spendertyp	verwandt	unverwandt	0,759	1,343	0,204	8,841
8	Mismatch	nein	ja	0,949	0,958	0,259	3,550
9	aGvHD	nein	ja	0,043	5,667	1,056	30,403
10	cGvHD	nein	ja	0,009	6,627	1,609	27,289
11	CMV-Status	E(-); S(-)	E+S(+)	0,125	0,209	0,028	1,548
			E(-); S(+)	0,431	0,222	0,005	9,365
			E(+); S(-)	0,767	0,786	0,160	3,861
12	Blutgruppenkompatibilität	ja	nein	0,137	2,443	0,752	7,936
13	Rezidiv/Progress	nein	ja	0,947	1,046	0,272	4,025
14	Bestes Remissionsergebnis	CR	PR	0,003	0,022	0,002	0,276
			PD	0,059	0,085	0,007	1,095
15	Konditionierung	myeloablative	intensitätsreduziert	0,024	0,122	0,020	0,754
			nicht-myeloablative	0,507	0,600	0,132	2,718
16	Antikörper	n.a.	ATG Fresenius	0,036	0,002	0,000	0,682
			ATG Genzyme	0,141	0,022	0,000	3,583
			Alentuzumab	0,172	0,033	0,000	4,381

n.a. = nicht anwendbar; E = Empfänger; S = Spender; a/cGvHD = akute/chronische Graft-versus-Host-Reaktion; (+) = positiv; (-) = negativ; CR = komplette Remission; PR = partielle Remission; PD = progressive Erkrankung

**8.4 Übersichtstabelle der Ergebnisse der Regressionsanalyse für Modell 3 (Kohorte an Tag 1287)**

Anzahl	Variable	Ausprägungen		p-Wert	Odds	95% Konfidenzintervall	
		Referenz	Ausprägung			unten	oben
1	Geschlecht Empfänger	Männer	Frauen	0,4327	0,418	0,047	3,693
2	Alter Empfänger	n.a.	n.a.	0,8308	1,010	0,920	1,109
3	Geschlecht Spender	Männer	Frauen	0,9155	0,881	0,084	9,236
4	Alter Spender	n.a.	n.a.	0,5137	0,966	0,872	1,071
5	CD34+ Zellzahl	n.a.	n.a.	0,1745	0,692	0,406	1,178
6	Leukozytenengraftment	n.a.	n.a.	0,0495	0,725	0,526	0,999
7	Spendertyp	verwandt	unverwandt	0,3135	0,099	0,001	8,884
8	Mismatch	nein	ja	0,4504	2,846	0,188	43,049
9	aGvHD	nein	ja	0,2523	9,238	0,205	415,653
10	cGvHD	nein	ja	0,0196	331,167	2,537	43.227,650
11	Blutgruppenkompatibilität	ja	nein	0,201	10,729	0,283	407,414
12	Rezidiv/Progress	nein	ja	0,1025	0,039	0,001	1,915
13	Konditionierung	myeloablative	intensitätsreduziert	0,1181	0,050	0,001	2,143
			nicht-myeloablative	0,5963	0,457	0,025	8,299

n.a. = nicht anwendbar; a/cGvHD = akute/chronische Graft-versus-Host-Reaktion

8.5 Chimärismusverläufe (in %) des Patientenkollektivs bis Tag 1287.

Patient	Tag 57	Tag 350	Tag 650	Tag 950	Tag 1287
1	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
2	<b>95,0</b>	<b>93,8</b>	<b>95,0</b>		
3	95,0	95,0	94,2	78,7	72,7
4	<b>95,0</b>				
5	72,3	72,2	84,1	74,8	66,0
6	91,0	13,4	36,8	60,2	86,4
7	<b>92,3</b>	<b>95,0</b>			
8	60,3	95,0	93,6	95,0	89,9
9	<b>95,0</b>				
10	<b>95,0</b>	<b>94,0</b>	<b>95,0</b>		
11	<b>95,0</b>				
12	<b>95,0</b>				
13	<b>95,0</b>				
14	<b>95,0</b>				
15	95,0	91,8	86,0	89,1	87,4
16	95,0	95,0	95,0	94,7	93,0
17	<b>95,0</b>				
18	<b>95,0</b>				
19	94,6	89,1	83,4	77,8	70,1
20	<b>95,0</b>				
21	<b>95,0</b>				
22	<b>95,0</b>				
23	<b>95,0</b>				
24	86,4	77,1	87,0	82,3	76,9
25	<b>95,0</b>				
26	<b>95,0</b>				
27	90,0	73,2	78,3	78,9	79,6
28	<b>95,0</b>				
29	<b>95,0</b>				
30	95,0	86,6	89,0	90,6	92,4
31	95,0	95,0	95,0	95,0	60,0
32	95,0	71,3	81,6	83,6	84,9
33	90,6	40,7	95,0	95,0	95,0
34	<b>95,0</b>				
35	<b>95,0</b>				
36	75,0	6,9	10,7	11,1	8,0
37	<b>95,0</b>				
38	<b>95,0</b>				
39	<b>95,0</b>				
40	92,0	80,3	83,3	85,0	86,9
41	95,0	89,6	85,9	88,2	90,6
42	<b>95,0</b>				
43	<b>95,0</b>				
44	<b>95,0</b>				
45	<b>95,0</b>				
46	<b>95,0</b>				
47	85,6	88,5	59,7	94,3	62,3
48	14,7	39,2	64,4	84,7	95,0
49	<b>95,0</b>				
50	<b>95,0</b>				

## 9 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst 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.

Datum \_\_\_\_\_ Unterschrift \_\_\_\_\_

## **10 Lebenslauf**

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf nicht veröffentlicht.

## **11 Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich all denjenigen danken, ohne die diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

Mein Dank gilt zunächst meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. William Krüger und meinem Betreuer Herrn Dr. med. Thomas Neumann für die Möglichkeit bei ihnen zu promovieren, die Ideengebung und Betreuung dieser Arbeit. Vielen Dank für den konstruktiven und freundlichen fachlichen Austausch sowie die Unterstützung.

Ein besonderer Dank gilt außerdem dem gesamten Klinikteam der Inneren Medizin C, insbesondere Frau Jeanette Bahr sowie Frau Manuela Neubert.

Meiner Familie, meinem Freund sowie meinen Freundinnen und Freunden und meiner Nachbarin möchte ich für ihre Geduld danken und dafür, dass sie während der gesamten Zeit ein bedingungsloser und liebevoller Rückhalt für mich waren.