

Diplomarbeit

**Untersuchung potentieller prognostischer Faktoren bei Kindern
und Jugendlichen mit malignen hämatologischen Erkrankungen,
die an der Grazer Kinderklinik 1978-2018 einer allogenen
Knochenmark- /Stammzelltransplantation unterzogen wurden -
Eine retrospektive Studie**

eingereicht von

Katharina Hinterhölzl

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde

Klinische Abteilung für pädiatrische Hämato-Onkologie

unter der Anleitung von

Univ.-Prof. Dr. med. univ. Martin Benesch

Dr. med. univ. Gunther Nussbaumer

Graz, am 22.11.2022

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet und die den benutzten Quellen wörtlich und inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 22.11.2022

Katharina Hinterhölzl eh

DANKSAGUNG

Mein erster Dank gilt Herrn Univ.-Prof. Dr. Martin Benesch für das bis zum Schluss spannende Diplomarbeitsthema und die Einführung in das gewissenhafte wissenschaftliche Arbeiten.

Ein großes Dankeschön möchte ich auch Dr. Gunther Nussbaumer aussprechen, der immer unglaublich bemüht war, mich zu unterstützen, schwierige organisatorische Hürden für mich möglichst klein zu halten und bis zum Schluss geduldig all meine Fragestellungen bearbeitet hat.

Ebenso bedanken möchte ich mich beim gesamten Team der Klinischen Abteilung für Hämatologie der Univ.-Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz, allen voran Frau Cornelia Gleichweit, die viele administrative Fragen für mich gelöst und mich bei der Datenerhebung unterstützt hat.

Mein größter Dank gilt meiner Familie. Meinen Eltern, ohne deren Unterstützung ich dieses Studium nicht absolvieren hätte können und meinen Schwestern und Schwagern, auf die ich mich immer verlassen kann. Besonders bedanken möchte ich mich auch bei meinem Freund, der mich durch viele Höhen und Tiefen begleitet hat und immer an mich glaubt.

Zu guter Letzt möchte ich mich bei all meinen Freunden und Freundinnen bedanken, die mich während der Erstellung dieser Arbeit und durch das Studium hinweg immer wieder motiviert haben – ich bin froh, euch zu haben!

INHALTSVERZEICHNIS

GLOSSAR UND ABKÜRZUNGEN	1
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	3
TABELLENVERZEICHNIS	4
ZUSAMMENFASSUNG	5
ABSTRACT	7
KERNAUSSAGEN	9
KEY MESSAGES	10
1 MALIGNEN HÄMATO-ONKOLOGISCHE ERKRANKUNGEN IM KINDES- UND JUGENDALTER	11
2 HÄMATOPOETISCHE STAMMZELLTRANSPLANTATION (HSZT) IN DER PÄDIATRIE	12
2.1 Definitionen	12
2.2 Indikationen der HSZT	15
2.3 Spender:innenauswahl	16
2.3.1 HLA-Kompatibilität	16
2.3.2 Spender:innensuche	16
2.4 Stammzellquellen	17
2.4.1 Knochenmark	17
2.4.2 Peripheres Blut	17
2.4.3 Nabelschnurblut	17
2.5 Stammzellmanipulationsverfahren	18
2.6 Konditionierungstherapie	19
2.7 Komplikationen	21
2.7.1 Graft-versus-Host Erkrankung (GvHD)	21
2.7.2 Transplantationsassoziierte Infektionen	24
3 WISSENSCHAFTLICHER HINTERGRUND	26
3.1 Kernfrage und Studienhypothese	26
4 METHODE UND PATIENT:INNENKOLLEKTIV	26
4.1 Methode	26
4.1.1 Datenerhebung	26
4.1.2 Statistische Datenauswertung	28
5 ERGEBNISSE	29
5.1 Studienkollektiv	29
5.2 Charakterisierung des Patient:innenkollektivs	30
5.2.1 Allgemeine Charakteristika	30
5.2.2 Überleben	33
5.2.3 Stammzellverfahren	36

5.2.4	<i>Transplantationsverfahren</i>	39
5.2.5	<i>Graft-versus-Host Erkrankung</i>	40
5.3	Statistische Analysen	43
5.3.1	<i>Kaplan-Meier Überlebenskurven und Kreuztabellen</i>	43
5.3.2	<i>Cox-Regressionsanalyse</i>	49
6	DISKUSSION	50
6.1	Beurteilung der Ergebnisse	50
6.1.1	<i>Allgemeine Prognosefaktoren</i>	50
6.1.2	<i>Todesursache</i>	53
6.1.3	<i>Stammzellverfahren</i>	54
6.1.4	<i>Graft-versus-Host Erkrankung</i>	55
6.2	Wertigkeit und Limitationen der Studie	56
6.3	Conclusio	57
7	LITERATURVERZEICHNIS	58

GLOSSAR UND ABKÜRZUNGEN

ALL	Akute Lymphoblastische Leukämie
AML	Akute Myeloische Leukämie
CML	Chronisch Myeloische Leukämie
CD	Oberflächenantigen (Cluster of differentiation)
DNS	Desoxyribonukleinsäure
FACS	Durchflusszytometrie (Fluorescence Activated Cell Sorting)
FISH	Floureszenz-In-Situ-Hybridisierung
GvHD	Graft-versus-Host Erkrankung
aGvHD	Akute Graft-versus-Host Erkrankung
cGvHD	Chronische Graft-versus-Host Erkrankung
GvL	Graft-versus-Leukämie
HLA	Humanes Leukozytenantigen
HSZT	Hämatopoetische Stammzelltransplantation
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex (Major Histocompatibility Complex)
MMRD	Mismatched Related Donor
MMURD	Mismatched Unrelated Donor
MRD ¹	Minimale Resterkrankung
MRD ²	Matched Related Donor
MSD	Matched Sibling Donor
MUD	Matched Unrelated Donor

OS	Gesamtüberleben (Overall Survival)
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PFS	Progressionsfreies Überleben (Progression Free Survival)
TCR	T-Zell Rezeptor

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Relative Häufigkeiten von Krebserkrankungen bei Kindern und Jugendlichen in Österreich 2009-2018 [2]	11
Abbildung 2: Positivselektion von Zellen [27]	19
Abbildung 3: Spektrum aktueller Konditionierungsregime [31]	20
Abbildung 4: Consort Flussdiagramm des Patient:innenkollektivs	29
Abbildung 5: Transplantationsindikationen	30
Abbildung 6: Consort Flussdiagramm zu den Überlebensdaten	33
Abbildung 7: Gesamtüberleben nach Behandlungsdekade	34
Abbildung 8: Stammzellquellen	36
Abbildung 9: Kaplan-Meier Kurve zum Gesamtüberleben.....	44
Abbildung 10: Kaplan-Meier Kurve zum Gesamtüberleben nach dem Parameter Behandlungsdekade	44
Abbildung 11: Kaplan-Meier Kurve zum Gesamtüberleben nach dem Parameter Remissionsstatus bei Transplantation.....	45
Abbildung 12: Kaplan-Meier Kurve zum Gesamtüberleben nach dem Parameter Diagnose....	45
Abbildung 13: Kaplan-Meier Kurve zum Gesamtüberleben nach dem Parameter Stammzellquelle	46
Abbildung 14: Kaplan-Meier Kurve zum Gesamtüberleben nach dem Parameter Rezidiv-Status nach Transplantation.....	47
Abbildung 15: Kaplan-Meier Kurve zum Gesamtüberleben nach dem Parameter GvHD Inzidenz	47
Abbildung 16: Kaplan-Meier Kurve zum progressionsfreien Überleben nach dem Parameter GvHD Inzidenz.....	48

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Indikationen zur HSZT	15
Tabelle 2: Schweregrade der akuten GvHD, in Anlehnung an DAG-KBT [33]	22
Tabelle 3: Schweregrade der cGvHD, in Anlehnung an DAG-KBT [33].....	23
Tabelle 4: Allgemeine Charakterisierung des Patient:innenkollektivs	32
Tabelle 5: Überlebensdaten der Patient:innen	35
Tabelle 6: Stammzellmanipulation	37
Tabelle 7: Deskriptive Beschreibung der Stammzellzahlen.....	38
Tabelle 8: Konditionierung	39
Tabelle 9: Häufigkeit, Graduierung und klinische Manifestation der GvHD	41
Tabelle 10: GvHD Prophylaxe	42
Tabelle 11: Therapie der GvHD.....	43
Tabelle 12: Chi-Quadrat Test nach Pearson zu den Parametern GvHD Inzidenz und ATG/OKT3 Gabe.....	48
Tabelle 13: Ergebnisse des Cox-Regressionsmodell bezogen auf das Gesamtüberleben.	49

ZUSAMMENFASSUNG

Einleitung

Die allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation (alloHSZT) ist eine potentiell kurative Therapieoption für ein breites Spektrum maligner und nicht-maligner Erkrankungen. Ziel dieser Studie ist die Evaluierung von Prognosefaktoren bei Patient:innen mit malignen hämatologischen Erkrankungen, die von 1978-2018 an der Klinischen Abteilung für Pädiatrische Hämato-Onkologie der Univ. Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz einer alloHSZT unterzogen wurden.

Methoden

91 Kinder und Jugendliche wurden in diese monozentrische, retrospektive Studie eingeschlossen.

Ergebnisse

Das Alter bei alloHSZT betrug im Median 10,2 Jahre (0,3-22,5). Zu den häufigsten Transplantationsindikationen zählten rezidierte akute lymphoblastische Leukämien (ALL; N=23, 25,3%), akute myeloische Leukämien in Primärtherapie (N=21, 23,1%) und ALL in Primärtherapie (N=15, 16,4%). Als Stammzellquellen dienten Knochenmark (N=58, 63,7%), periphere Blutstammzellen (N=32, 35,2%) oder Nabelschnurblut (N=1, 1,1%). Bei 41 Patient:innen (45,1%) fand sich ein „matched unrelated donor“, in 40 Fällen (44,0%) ein „matched sibling donor“, in neun Fällen (9,9%) ein „mismatched related donor“ und in einem Fall (1,1%) ein HLA-identer Elternteil.

52 Patient:innen (57,2%) entwickelten eine Graft-versus-Host (GvHD): in 30 Fällen (33,0%) handelte es sich um eine isolierte akute GvHD, bei drei Fällen (3,3%) um eine isolierte chronische GvHD. Bei 19 Patient:innen (20,9%) fanden sich sowohl eine akute als auch chronische GvHD. 43 Patient:innen (47,3%) waren bei der Datenerhebung am Leben. 48 Patient:innen (52,7%) verstarben, davon 22 (45,8%) an einem Rezidiv/der Progression der Grunderkrankung. In 11 Fällen (22,6%) war die Mortalität v.a. GvHD-assoziiert, in 15 Fällen (31,5%) durch andere transplantationsassoziierte Komplikationen inklusive Infektionen bedingt.

In der univariaten Analyse fanden sich signifikante Unterschiede im Gesamtüberleben nach Behandlungsdekade ($p=0,016$), Remissionsstatus vor alloHSZT ($p=0,045$), Grunderkrankung ($p<0,001$) und Rezidiv nach alloHSZT ($p=0,007$). In der multivariaten Analyse lag allein der Faktor „Remissionsstatus vor alloHSZT“ über dem Signifikanzniveau ($p=0,02$).

Zusammenfassung

Der Therapieerfolg einer alloHSZT bei malignen hämatologischen Erkrankungen ist von vielen Faktoren abhängig. Vor allem der Remissionsstatus vor Stammzelltransplantation wirkt sich signifikant auf das Gesamtüberleben aus.

ABSTRACT

Introduction

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (alloHSCT) is a potentially curative therapeutic option for a broad spectrum of malignant and non-malignant diseases. The aim of this study is to evaluate prognostic factors in patients with malignant hematologic diseases, who underwent alloHSCT at the Division of Pediatric Hemato-Oncology, Department of Pediatrics and Adolescent Medicine Graz, Austria, from 1978-2018.

Methods

91 children and adolescents were included in this monocentric, retrospective study.

Results

The median age at alloHSCT was 10.2 years (0.3-22.5). The most common transplant indications included relapsed acute lymphoblastic leukemia (ALL; N=23, 25.3%), acute myeloid leukemia during initial therapy (N=21, 23.1%), and ALL during initial therapy (N=15, 16.4%). Bone marrow (N=58, 63.7%), peripheral blood stem cells (N=32, 35.2%) or cord blood (N=1, 1.1%) served as stem cell sources. In 41 patients (45.1%) a matched unrelated donor was found, in 40 cases (44.0%) a matched sibling donor, in nine cases (9.9%) a mismatched related donor and in one case (1.1%) an HLA-identical parent.

52 patients (57.2%) developed a graft-versus-host-disease (GvHD): isolated acute GvHD (N=30, 33,0%), isolated chronic GvHD (N=3, 3,3%) or both acute and chronic GvHD (N=19, 20,9%). 43 patients (47.3%) were alive at the time of data collection. Recurrence/progression was the most common cause of death (N=22, 45,8%). In 11 cases (22.6%) mortality was mainly GvHD-associated, in 15 cases (31.5%) it was due to other transplantation-associated complications including infections.

In univariate analysis significant differences were found in overall survival by treatment decade ($p=0.016$), remission status before alloHSCT ($p=0.045$), underlying disease ($p<0.001$) and recurrence after alloHSCT ($p=0.007$). In multivariate analysis, only the factor "remission status before alloHSCT" remained significant ($p=0.02$).

Summary

The outcome of alloHSCT in malignant hematologic diseases depends on many factors. Especially the remission status before stem cell transplantation has a significant impact on overall survival.

KERNAUSSAGEN

- Das Gesamtüberleben (OS) betrug im Gesamtkollektiv nach drei Jahren 47,0%. Bei einer medianen Nachbeobachtungszeit von 20 Monaten (Interquartilsabstand 6,0-111,5) sind 43 Patient:innen (47,3%) am Leben, 48 (52,7%) verstarben.
- Die 3-Jahres-Überlebensrate war abhängig von der Behandlungsdekade (29,0% OS in den Jahren vor 2000, 61,5% OS zwischen 2001-2010, 50,0% OS zwischen 2011-2018 [$p=0,016$]).
- Bei 22 Patient:innen (24,2% der Gesamtkohorte) trat nach Stammzelltransplantation ein Rezidiv auf. In dieser Subgruppe lag das Überleben nach 3 Jahre bei nur 8,5% (rezidivfreie Subgruppe: 57,8 %, log-rank $p=0,007$).
- Somit erwies sich der Remissionsstatus vor Transplantation als wichtigster Prognoseparameter (log-rank $p=0,006$; Cox-Regression $p=0,002$).
- In 52 Fällen (57,2%) manifestierte sich nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation eine Graft-versus-Host Erkrankung (GvHD). Die Entwicklung einer GvHD hatte keinen signifikanten Einfluss auf das PFS.
- Die Erhebung der GvHD und assoziierter Parameter war aufgrund der nicht standardisierten Einteilung und Dokumentation schwierig. Eine einheitliche und konsequente Klassifizierung ist eine Voraussetzung für eine hochwertige Erfassung und Auswertung von GvHD-assoziierten Daten.

KEY MESSAGES

- Overall survival (OS) after three years was 47,0% respectively. At a median follow-up of 20 months (interquartile range 6.0-111.5), 43 patients (47.3%) were alive and 48 (52.7%) died.
- The 3-year survival rate was dependent on the treatment decade (29.0% OS in the years before 2000, 61.5% OS between 2001-2010, 50.0% OS between 2011-2018 [p=0.016]).
- Recurrence occurred in 22 patients (24.2% of the total cohort) after stem cell transplantation. In this subgroup, survival at 3 years was only 8.5% (relapse-free subgroup: 57.8%, log-rank p=0.007).
- Thus, remission status before transplantation proved to be the most important prognostic parameter (log-rank p=0.006; Cox regression p=0.002).
- Graft-versus-host disease (GvHD) manifested in 52 cases (57.2%) after hematopoietic stem cell transplantation. The development of GvHD did not significantly affect PFS.
- The data collection on GvHD and associated parameters was difficult because of nonstandardized classification and documentation. A uniform and consistent classification would improve the quality of GvHD-associated data.

1 MALIGNNE HÄMATO-ONKOLOGISCHE ERKRANKUNGEN IM KINDES- UND JUGENDALTER

Maligne Erkrankungen stellen die zweithäufigste Todesursache nach Unfällen in der Gruppe der 1-18-Jährigen in Europa dar. [1] In Österreich werden jährlich ca. 200 Kinder (bis zum 14. Lebensjahr) und rund 100 Jugendliche (15. bis 19. Lebensjahr) mit einer Krebserkrankung diagnostiziert. Zu den häufigsten Entitäten bei Kindern und Jugendlichen zählen dabei Leukämien, Lymphome und Hirntumore, diese machen insgesamt ca. 60 % aller malignen Erkrankungen aus (Abbildung 1). [2]

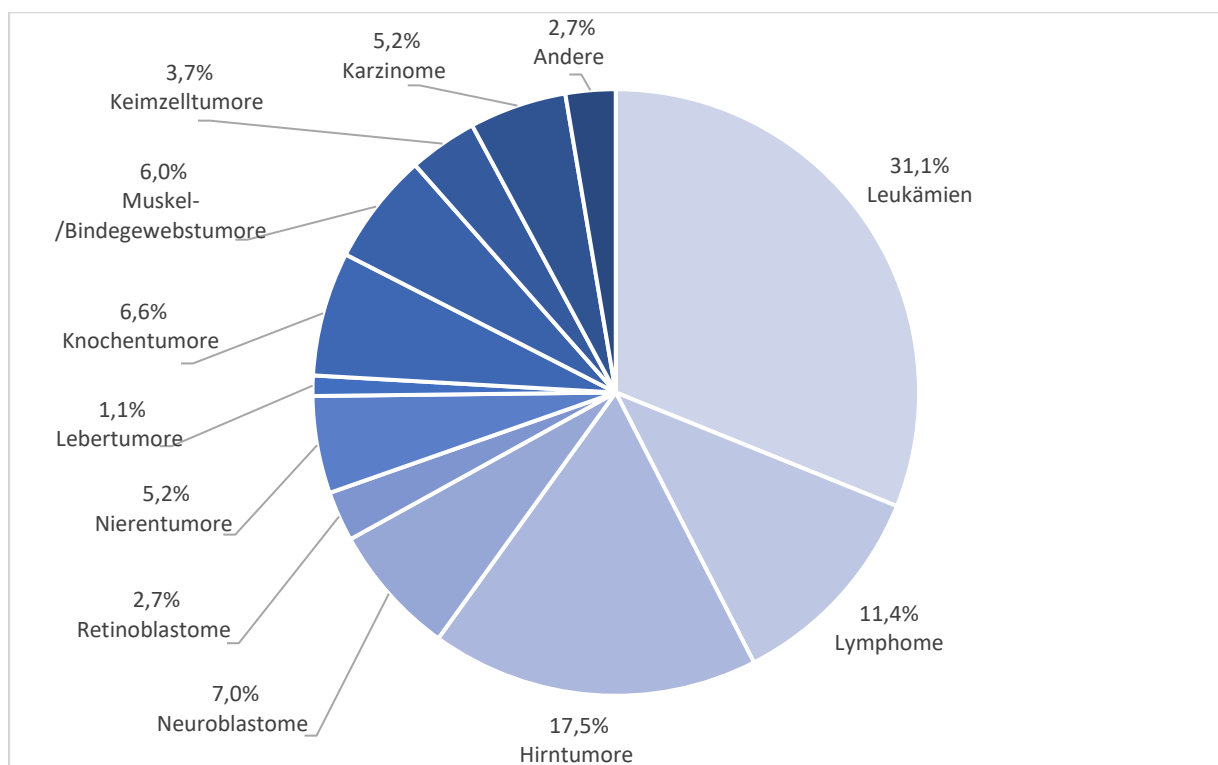


Abbildung 1: Relative Häufigkeiten von Krebserkrankungen bei Kindern und Jugendlichen in Österreich 2009-2018 [2]

Etwa 30 Kinder (7,8%) und 15 Jugendliche (16,3%) versterben in Österreich pro Jahr an einer malignen Erkrankung, wobei die meisten Todesfälle auf Tumore des Zentralen Nervensystems und Leukämien entfallen. In den Jahren 2009-2018 betrug die Gesamtmortalität dieser Altersgruppe 15,3%. [2]

2 HÄMATOPOETISCHE STAMMZELLTRANSPLANTATION (HSZT) IN DER PÄDIATRIE

2.1 Definitionen

Die hämatopoetische Stammzelle ist eine niedrig differenzierte Vorläuferzelle mit der Fähigkeit zur sog. „asymmetrischen Zellteilung“. Zum einen können sich hämatopoetische Stammzellen in alle Blutzellen der lymphoiden, myeloiden und erythroiden Zellreihen differenzieren (Multipotenz), zum anderen kann sich die Stammzelle wiederholt teilen (Replikation). Ein Erkennungsmerkmal der hämatopoetischen Stammzelle ist die Expression des Oberflächenantigens CD34. [3]

Bei der HSZT werden hämatopoetische Stammzellen von einem/einer geeigneten Spender:in entnommen und dem/der Erkrankten intravenös infundiert mit dem Ziel, das hämatopoetische und Immun-System des Empfängers/der Empfängerin zu ersetzen. Die Stammzellen werden dabei entweder durch Punktion aus dem Knochenmark, aus dem Nabelschnurblut oder durch Leukapherese (=Stammzellapherese) aus dem peripheren Blut gewonnen. [4] Bei der Leukapherese wird Blut aus einer Armvene oder über einen Katheter aus einer zentralen Vene in einen Zellseparator geleitet, dort die Stammzellen selektiv entfernt und das Blut wieder retransfundiert. [5] Die verabreichten Stammzellen werden auch als Graft bezeichnet. [4,6]

1968 wurde die erste allogene HSZT in der Pädiatrie bei einem Säugling mit schwerer Immundefizienz durchgeführt. 1971 konnte erstmals erfolgreich eine Transplantation bei einem Kind mit akuter Leukämie durchgeführt werden. [7] Seither hat sich die HSZT bei einer Vielzahl von malignen und nicht-malignen hämatologischen Erkrankungen als potentiell kurative Therapieoption etabliert. [8]

Grundsätzlich sind die autologe und die allogene HSZT zu unterscheiden. Bei der autologen HSZT werden körpereigene Zellen verwendet, somit sind Spender:in und Empfänger:in ident. Meist werden in der Frühphase der Therapie, wenn sich der/die Patient:in in Remission befindet, Stammzellen entnommen und eingefroren (kryokonserviert). Zu einem späteren Zeitpunkt bzw. im Falle eines Rezidivs kann das autologe Stammzellgraft dann refundiert werden. Damit lässt sich die Intensität der vorangehenden zytotoxischen Therapie bis hin zur irreversiblen Knochenmarkzerstörung steigern. Die Hämatopoese kann anschließend durch

einen sog. autologen Stammzellrescue wieder regenerieren. Autologe HSZT kommen in den Therapiekonzepten verschiedener, vor allem solider, Krebsarten zur Anwendung. [8-10]

Bei der allogenen HSZT werden Stammzellen von einer anderen Person entnommen. Als Voraussetzung für eine allogene HSZT gilt das Vorliegen einer Übereinstimmung von bestimmten Gewebemerkmale, den so genannten Humanen-Leukozyten-Antigenen (HLA). Es wird unterschieden zwischen vollständig („matched“) oder nicht vollständig („mismatched“) übereinstimmenden Gewebemerkmale. Übereinstimmungen (oder fehlende Übereinstimmungen) können nur ein Allel oder beide Allele betreffen. Bei einer fehlenden HLA-Übereinstimmung in genau der Hälfte der Allele spricht man von einer haploidenten Transplantation. Die Stammzellen für eine allogene HSZT stammen entweder von einem HLA-identen Geschwisterkind („matched sibling donor“, MSD), einem/einer HLA-identen Fremdspender:in („matched unrelated donor“, MUD), einem nicht HLA-identen Familienmitglied („mismatched related donor“, MMRD) oder einem nicht HLA-identen unverwandten Spender („mismatched unrelated donor“, MMURD). [11] Eine Sonderform der allogenen HSZT stellt die syngene Transplantation dar, bei der Spender:in und Empfänger:in eineiige Zwillinge sind. [4] Die allogene HSZT hat sich als potentiell kurative Therapie von malignen hämatologischen Erkrankungen und Immundefekten etabliert. [9]

Der Erfolg der HSZT ist abhängig [8,9,12]:

1. von der Intensitätssteigerung der Chemotherapie (der so genannten Konditionierung), wodurch die Zahl der Krebszellen maximal möglich reduziert werden soll = „Anti-Tumor-Effekt“. Es kommt dabei durch die Toxizität der Chemotherapie jedoch auch zu einer ausgeprägten Myelosuppression. Durch die transplantierten (reinfundierten) Stammzellen kann die Restitution der Hämatopoese gewährleistet werden (autolog und allogene). Bei der allogenen HSZT muss die reine Hochdosischemotherapie durch eine intensive immunsuppressive Therapie ergänzt werden mit dem Ziel, eine Graft-Abstoßung zu vermeiden;
2. vom Ersatz dysfunktioneller, genetisch alterierter hämatopoetischer Stammzellen des Empfängers/der Empfängerin durch das hämatopoetische System des Spenders/der Spenderin;

3. von der Immunkompetenz des allogenen Transplantats; allogene Zellen erkennen die malignen Zellen als Fremdgewebe und zerstören diese. Es kommt zum sogenannten Graft-versus-Leukemia-Effekt (GvL-Effekt) (allogen).
4. von der Immunkompetenz des allogenen Transplantats im Sinne einer Wiederherstellung der Infektabwehr.

Der Ablauf der HSZT nach Indikationsstellung und Spender:innensuche gliedert sich grundsätzlich in drei Phasen: Konditionierung, Aplasie und Regeneration. Im Rahmen der sog. Konditionierung vor Transplantation des Grafts wird eine hochdosierte Chemoimmuntherapie verabreicht. Dies führt zu einer tiefen Myelodepression und Immunsuppression bis zur (fast kompletten) Eradikation der Hämatopoese sowie des Immunsystems der Empfänger:innen (siehe Kapitel 4.6). Es folgen die Transplantation und Phase der Aplasie, in der die transfundierten Stammzellen im Knochenmark und lymphatischen System anwachsen, regenerieren und sich in die verschiedenen Zellen der Hämatopoese differenzieren. In diesem Zeitraum ist aufgrund der Aplasie und Immunsuppression die Gefahr einer Infektion massiv erhöht und eine intensive Supportivtherapie inklusive Antiinfektiva, Immunglobulinen und Blutprodukten notwendig. Wenn die absolute Zahl von neutrophilen Granulozyten >500 Zellen/ μL an drei aufeinanderfolgenden Tagen übersteigt und keine Blutproduktabhängigkeit mehr besteht, spricht man von Engraftment. [13] Die letzte Phase der HSZT beinhaltet die Regeneration der hämatopoetischen und Immun-Zellen mit u.a. sukzessiver Entwicklung einer neuen Immunkompetenz. [8] In jeder dieser Phasen können Komplikationen wie Infektionen, Immunschwäche, Rezidive der Grunderkrankungen oder akute und chronische Graft-versus-Host Reaktionen auftreten (siehe Kapitel 4.7). Weitere Komplikationen können sich als Langzeitfolgen wie beispielsweise Wachstumsstörungen, Hormonstörungen oder Sekundärmalignome manifestieren. [14]

2.2 Indikationen der HSZT

Die HSZT hat sich bei vielen malignen als auch nicht-malignen, hämatologischen- oder Stoffwechselerkrankungen als potentiell kurativer Therapiestandard etabliert. Tabelle 1 gibt eine Auswahl der wichtigsten Indikationen in der Pädiatrie. [6,15]

Indikationen HSZT [6,15]
Maligne Erkrankungen
Leukämien (allogen)
Akute Myeloische Leukämie
Akute Lymphoblastische Leukämie
Chronisch Myeloische Leukämie
Juvenile Myelomonozytäre Leukämie
Myelodysplastische Syndrome (allogen)
Maligne Lymphome (vorwiegend autolog)
Non-Hodgkin Lymphom
Hodgkin Lymphom
Solide Tumore (fast ausschließlich autolog)
Hirntumore
Ewing-Sarkome
Neuroblastome
Keimzelltumore
Nicht maligne Erkrankungen und Knochenmarkversagen (allogen)
Kongenitale und erworbene Anämien
Schwere aplastische Anämie
Thalassämie
Sichelzellanämie
Diamond-Blackfan Anämie
Fanconi-Anämie
Immundefekte (allogen)
Schwere angeborene und erworbene Immundefekte
Wiskott-Aldrich-Syndrom
Morbus Kostmann
Amegakaryozytäre Thrombopenie
Stoffwechselerkrankungen, metabolische Erkrankungen
Osteopetrose
Adrenoleukodystrophie
Langerhans-Zell-Histiozytose
Mucopolysaccharidose
Autoimmunerkrankungen

Tabelle 1: Indikationen der HSZT

2.3 Spender:innenauswahl

2.3.1 HLA-Kompatibilität

Um das Risiko einer Abstoßung zu minimieren bzw. um die Entwicklung einer Immuntoleranz zwischen Empfänger:innen und Spender:innen nach allogener HSZT zu gewährleisten, spielt der sog. Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) am Chromosom 6 eine wesentliche Rolle. Es werden dabei zwei für die Abstoßung relevante Gruppen von Antigenen unterschieden: MHC-Klasse-I-Antigene (=HLA-Klasse-I-Antigene) HLA-A, HLA-B und HLA-C und MHC-Klasse-II-Antigene (=HLA-Klasse-II-Antigene) HLA-DR und HLA-DQ. Um einen passenden Spender/eine passende Spenderin zu identifizieren, erfolgt vorab die Typisierung dieser „Gewebsmerkmale“ bei Empfänger:innen und potentiellen Spender:innen. Die Übereinstimmung der MHC-Klassen hat einen wesentlichen Einfluss auf den Transplantationserfolg. [8,16]

In den ersten 30 Jahren der HSZT erfolgte die Typisierung nur serologisch („Low-Resolution Typisierung“), aktuell gilt die molekulargenetische Methode mittels DNS-Sequenzierung („High-Resolution Typisierung“) als Standardverfahren. Bei der Typisierung werden die Allele der HLA-Loci HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR und HLA-DQ bestimmt. Jeder Genlocus besitzt zwei Allele, weshalb im Optimalfall eine Übereinstimmung in 10/10 Merkmalen vorliegt. Man spricht hierbei von HLA-Identität. [8]

2.3.2 Spender:innensuche

Primäres Ziel bei der Spender:innensuche ist die Identifikation eines/einer HLA-identen Spenders/Spenderin. Dabei wird zuerst die HLA-Typisierung der Kernfamilie durchgeführt: bei Geschwisterkindern kann gegebenenfalls eine HLA-Identität (MSD) bestehen, Eltern sind hingegen meistens „halbident“ (MMRD) und nur in Ausnahmefällen HLA-ident. Die Wahrscheinlichkeit passende Spender:innen in der Familie zu finden ist abhängig von der Familiengröße und liegt im Allgemeinen bei circa 25-30%. Aus diesem Grund folgt bei fehlendem MSD die Einleitung einer Fremdspender:innensuche (MUD). Dabei greift man auf internationale Spender:innendatenbanken zurück, bei denen sich Freiwillige HLA-typisiert und registriert haben und bereit sind, Stammzellen zu spenden. Sollte auch hierbei kein HLA-identer Spender/keine HLA-idente Spenderin gefunden werden beziehungsweise der Zeitraum (von bis zu drei Monaten) bis zum Abschluss der Fremdspender:innensuche zu lange sein, kann auf ein Elternteil als haploidenter Spender zurückgegriffen werden. [8,17,18]

2.4 Stammzellquellen

Hämatopoetische Stammzellen werden aus dem Knochenmark, peripheren Blut und auch Nabelschnurblut gewonnen. [17]

2.4.1 *Knochenmark*

Das Knochenmark war aufgrund der einfachen Gewinnung die historisch gesehen erste Stammzellquelle. [19,20] Dem/der Spender:in werden in Vollnarkose durch multiple Punktionen der hinteren Beckenkämme circa 15 ml/kg Körpergewicht, bezogen auf den/die Empfänger:in, Knochenmark entnommen. Ziel ist es, mindestens 2×10^8 /kg Körpergewicht mononukleäre Zellen zu gewinnen. Das entnommene Mark wird anschließend von groben Verunreinigungen wie Knochen oder Fett gereinigt. Sollten Spender:in und Empfänger:in die gleiche Blutgruppe besitzen, kann die Transfusion unmittelbar erfolgen. Bei Blutgruppeninkompatibilitäten muss eine Plasmaseparation oder Erythrozytendepletion vorgenommen werden. Das Stammzellgraft kann prinzipiell vor Transfusion noch weiter manipuliert (siehe Kap. 4.5) und kryokonserviert werden. [17]

2.4.2 *Peripheres Blut*

In den letzten Jahrzehnten kam es zu einer Zunahme an HSZT mit peripheren Blutstammzellen. Hierbei wird das Knochenmark des Spenders/der Spenderin durch die subkutanen Gaben von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren stimuliert, wodurch Stammzellen in das periphere Blut mobilisiert werden. Mittels Stammzellapherese werden den Spender:innen im Anschluss die Stammzellen entnommen. Dabei können bis zu 20×10^6 /kg Körpergewicht CD34+-Zellen gewonnen werden, je nach Körpergewichtverhältnis zwischen Spender:innen und Empfänger:innen. [17] Neben der geringeren Invasivität bei der Gewinnung wird bei Grafts aus peripherem Blut ein schnelleres Engraftment von Granulozyten und Thrombozyten sowie eine verbesserte Immunrekonstitution nach Transplantation beobachtet. [9,21]

2.4.3 *Nabelschnurblut*

1988 wurden das erste Mal einem Kind mit Fanconi-Anämie Stammzellen aus dem Plazentarestblut (cord blood, CB) seines Bruders verabreicht. Seither hat sich Nabelschnurblut als Stammzellquelle im klinischen Alltag etabliert. [22] Das Blut wird dabei nach Abnabelung aus den Nabelarterien gewonnen, wobei weder der Geburtsvorgang noch das Abnabeln beeinflusst

werden dürfen. Im Durchschnitt werden dabei $3-4 \times 10^7$ kernhaltige Zellen gewonnen, weshalb die geringe Stammzellzahl den limitierenden Faktor bei der HSZT darstellt. Ein wichtiger Vorteil dieser Stammzellquelle liegt in der hohen Anzahl an potentiell verfügbaren Spender:innen. Dieser Umstand ermöglicht zum Beispiel auch die gleichzeitige Transplantation von Stammzellen aus dem Plazentarestblut zweier verschiedener Präparate von zwei immunologisch nicht verwandten Spender:innen. Aufgrund der immunologischen Naivität der Nabelschnurblutzellen sowie der niedrigen Lymphozytenzahl kommt es zu keiner immunologischen Reaktion bei der Verwendung mehrerer Nabelschnurgrafts. Damit kann der Nachteil der geringen Stammzellzahl pro Spender:in überwunden werden. Plazentarestblut als Stammzellquelle bietet noch weitere Vorteile: so besteht kein Risiko für die Spender:innen bei der Gewinnung der Zellen, das Infektionsrisiko für die Empfänger:innen ist aufgrund der Herkunft reduziert, die kryokonservierten Grafts sind sofort verfügbar und bedürfen keiner aufwendigen Manipulation und partielle HLA-Differenzen sind akzeptabel. [17,23-25]

2.5 Stammzellmanipulationsverfahren

Das Ziel der Manipulation von Stammzellgrafts besteht in der potentiellen Senkung des GvHD-Risikos. Durch die verschiedenen Manipulationsverfahren wird die Zahl an Lymphozyten, die wesentlich zur Genese einer GvHD beitragen, reduziert. [26] Dafür werden aktuell zwei verschiedene ex vivo Verfahren angewendet: die T-Zell-Depletion (Negativ-Selektion), bei der die Zahl der T-Zellen vermindert wird und die CD34+-Zell-Selektion (Positiv-Selektion), bei der die Zahl an T- als auch B-Zellen reduziert wird. Bei beiden Methoden werden die Zellen mittels ferromagnetischer Antikörper markiert und anschließend durch ein Magnetelektionsverfahren sortiert. Zur Antikörpermarkierung bei CD34+-Selektion werden dabei die Antikörper Anti-CD34, zur T-Zell-Depletion Anti-T-Zellantikörper (beispielsweise CD2, CD3, CD19, CD4/8, T-Zell Rezeptor α/β) verwendet. Die ferromagnetisch markierten Zellen werden dabei in einer Separationssäule eines Magnetfeldes zurückgehalten, während die unmarkierten Zellen das Feld unbehindert durchlaufen. Nach Entfernen der Magnete werden die übrig gebliebenen markierten Zellen von der Separationssäule eluiert (Abbildung 2).

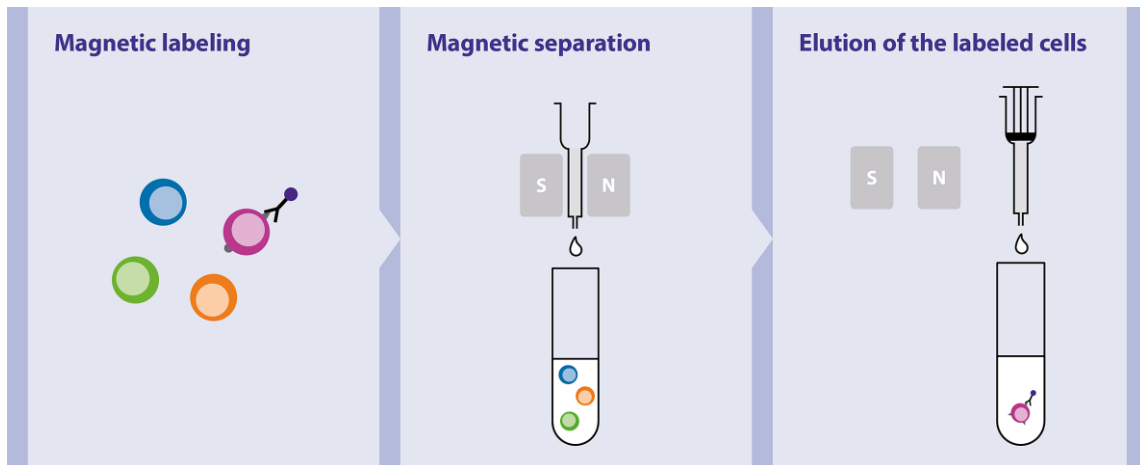


Abbildung 2: Positivselektion von Zellen [27]

Je nach Art der Selektion können dadurch entweder die markierten CD34+-Zellen als Graft gewonnen (CD34+-Selektion) oder die markierten T-Zellen vom restlichen Graft getrennt werden (T-Zell-Depletion). Zu den unerwünschten Nebenwirkungen dieser Manipulationsverfahren zählen höhere Infektionsraten nach Transplantation, primäres Graftversagen, verzögerte Immunrestitution oder eine erhöhte Inzidenz an Rezidiven der Grunderkrankung. [17,28]

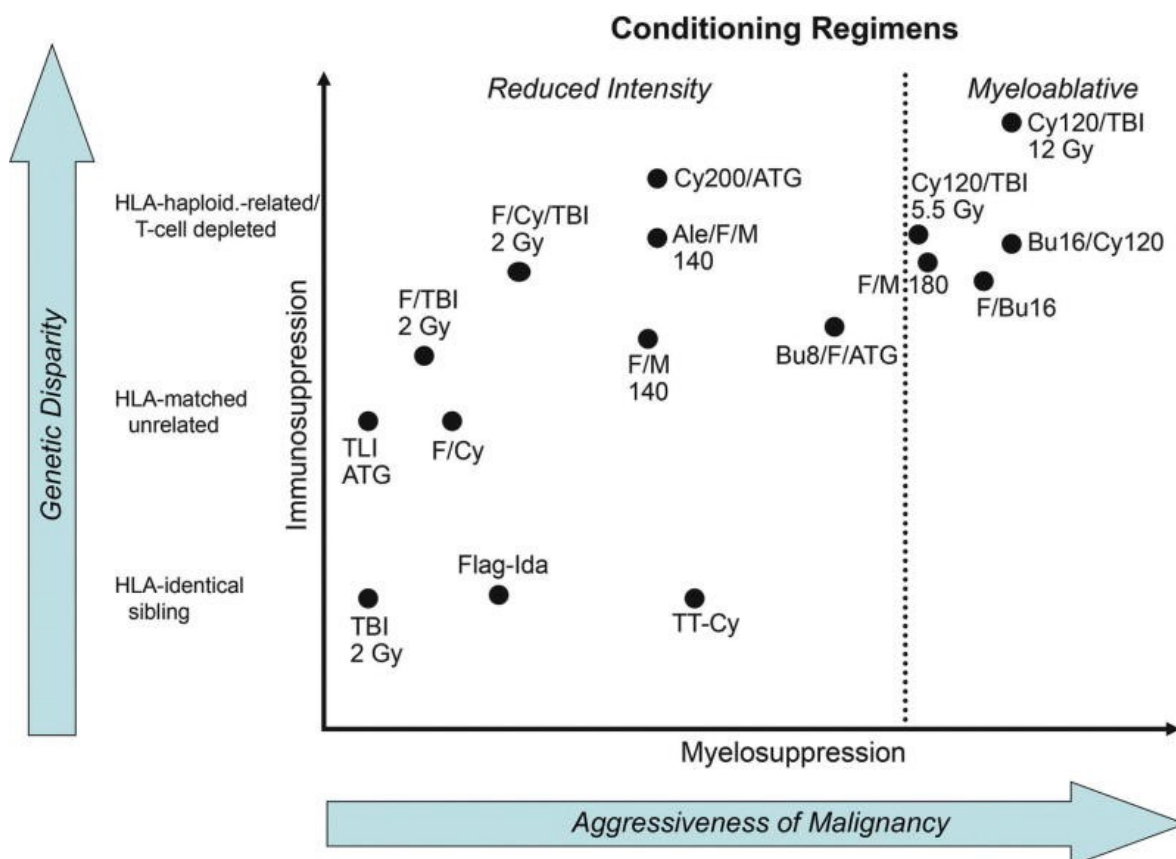
2.6 Konditionierungstherapie

In der Phase der Konditionierung werden ein bis zwei Wochen vor HSZT verschiedene Chemotherapeutika, Immunsuppressiva, gegebenenfalls in Kombination mit einer Ganzkörperbestrahlung, verabreicht. [8] Die Konditionierungstherapie hat drei wesentliche Aufgaben: [29]

1. Die Radio-/Chemotherapie wirkt durch die Zerstörung der malignen Zellen anti-leukämisch;
2. Durch die Elimination der hämatopoetischen Zellen wird Platz für die neuen, transplantierten Stammzellen geschaffen;
3. Zur Sicherung des Anwachsens der transfundierten Stammzellen (=Engraftment) und Verhinderung eines Graft-Versagens muss eine Immunsuppression beim Empfänger bzw. bei der Empfängerin induziert werden.

Je nach Dosierung und Kombination der verschiedenen Chemotherapeutika sowie einer etwaigen Bestrahlung wird die Konditionierungstherapie in drei Gruppen eingeteilt: die myeloablative, nicht-myeloablative und intensitätsreduzierte Konditionierung. Die

myeloablative Konditionierung definiert sich über den Einsatz von alkylierenden Substanzen mit/ohne Ganzkörperbestrahlung, es kommt dabei zu einer irreversiblen Zytopenie, weshalb ein Stammzellsupport notwendig ist. Bei der nicht-myeloablativen Konditionierung ist die Zytopenie geringer ausgeprägt, das Engraftment wird hier als Folge der Immunablation erreicht. Die intensitätsreduzierte Konditionierung ist weder myeloablativ noch nicht-myeloablativ. Es entsteht eine Zytopenie variabler Dauer und ein damit einhergehender notwendiger Stammzellsupport, wobei die Intensität der Chemo-/Radiotherapie im Vergleich zum myeloablativen Regime um mindestens 30% reduziert wird. Abhängig von der Grunderkrankung besteht jedoch nach wie vor oft kein Konsens hinsichtlich Wahl der Konditionierungsart bzw. deren Intensität. Individuell wird abhängig von verschiedenen Faktoren (Grunderkrankung und Rezidivrisiko, HLA-Disparität, Abstoßungsrisiko, Komorbiditäten, Alter und Remissionsstatus vor Transplantation, Grad der Myelosuppression) ein Konditionierungsregime zusammengestellt (Abbildung 3). [29,30]



*TBI=Ganzkörperbestrahlung, TLI= Total Lymphoid Irradiation, ATG=Antithymozytenglobulin, Flag-Ida=Idarubicin+Fludarabin+Cytarabin+G-CSF, F=Fludarabin, Cy=Cyclophosphamid, Ale=Alexan, M=Melphalan, Bu=Busulfan

Abbildung 3: Spektrum aktueller Konditionierungsregime [31]

2.7 Komplikationen

2.7.1 *Graft-versus-Host Erkrankung (GvHD)*

Die Entwicklung einer GvHD stellt eine der Hauptkomplikationen nach allogener HSZT dar. Unter GvHD versteht man eine durch allogene Immunzellen vermittelte Entzündungsreaktion, die verschiedene Organsysteme betreffen und in ihrer Funktion beeinträchtigen kann. Aus diesem Grund führt sowohl die akute als auch die chronische GvHD zu einer deutlich erhöhten Morbidität und Mortalität nach Transplantation. Durch die zunehmende Anzahl an nicht HLA-identen Spender:innen steigt auch Risiko für die Entwicklung einer akuten und/oder chronischen GvHD. [8,32]

2.7.1.1 Akute GvHD

In der aktuellen gültigen Klassifizierung des National Institutes of Health wird die akute GvHD (aGvHD) in eine klassische aGvHD (bis zum Tag 100 nach HSZT), eine „late-onset“ aGvHD (nach 100 Tagen) und eine rekurrende bzw. persistierende aGvHD eingeteilt. [33] Bei 30-60% der Patient:innen wird nach HSZT ein Auftreten einer aGvHD beobachtet, in bis zu 30% trägt diese zur Mortalität bei. [32]

Bei einer aGvHD richten sich die T-Lymphozyten der Spender:innen gegen bestimmte Gewebe der Empfänger:innen. Die HLA-Proteine nehmen bei dieser immunologisch vermittelten Reaktion eine Schlüsselstelle ein, weshalb die Frequenz der aGvHD direkt mit dem Grad der Übereinstimmung der HLA-Merkmale korreliert. Trotzdem kommt es auch bei circa 40% der HLA-identen Transplantationen zum Auftreten einer aGvHD. Dies wird auf genetische Differenzen abseits der HLA-Merkmale, beispielsweise bei Unterschieden zwischen den Minor-Histokompatibilitätsantigenen zurückgeführt. [32] Die aGvHD betrifft vor allem Haut, Leber und Darm und wird je nach Lokalisation in vier Schweregrade eingeteilt (Tabelle 2). [33]

Schweregrad	Haut Erscheinungsbild	Leber Bilirubin in mg/dl	Darm Diarrhoe in ml/Tag
I	makulopapulöses Exanthem <25% KÖF	2-3	500-1000
II	25-50% KÖF	3,1-6	1000-1500
III	50% KÖF	6,1-15	1500-2000
IV	generalisierte Erythrodermie mit Schuppung und Blasen	>15	>2000 oder schwere abdominelle Schmerzen und/oder Ileus

Tabelle 2: Schweregrade der akuten GvHD, in Anlehnung an DAG-KBT [33]

Basierend auf dem Ausmaß des Organbefalls wird anschließend ein Gesamtschweregrad bestimmt, dabei werden wieder vier Schweregrade unterteilt: I (mild), II (moderat), III (schwer), IV (sehr schwer). [32]

2.7.1.2 Chronische GvHD

Die chronische GvHD (cGvHD) ist eine autoimmune Dysregulation nach allogener HSZT, die grundsätzlich jedes Organsystem betreffen kann und wesentlich zur Langzeitmorbidity beiträgt. Am häufigsten werden Manifestationen der cGvHD an Haut und Mundschleimhaut, Augen, Gastrointestinaltrakt, Leber und Lungen beobachtet. [34] In der Literatur beträgt die Inzidenz einer cGvHD circa 50% und trägt in etwa 25% zur Mortalität bei. Während schwere Verläufe einen negativen Einfluss auf das Überleben haben, führen leichtere und moderate Verläufe vor allem zu einer Einschränkung der Lebensqualität. [33] Bei einigen Erkrankungen (v.a. CML) wird das Auftreten einer milden cGvHD jedoch sogar gewünscht, da durch den damit einhergehenden verstärkten GvL-Effekt (=das Potential des Grafts, die leukämischen Zellen des Empfängers/der Empfängerin zu zerstören) das Rezidivrisiko gesenkt werden kann. [35]

Bei der Entstehung der cGvHD kommt es zu einer gestörten Immuntoleranz durch sowohl alloreaktive und autoreaktive B- und T-Zellen, als auch lokalen Entzündungsmechanismen im betroffenen Gewebe selbst, wobei die genauen pathophysiologischen Abläufe noch nicht endgültig aufgeklärt sind. Es kommt zu einem relativen Defizit an antigenspezifischen, regulatorischen T-Lymphozyten. Darüber hinaus können alloreaktive und autoreaktive

Antikörper und Funktionsstörungen an Thymus und Knochenmarkstroma nachgewiesen werden. [33,36,37]

Die cGvHD tritt meist erstmalig zwischen sechs und 18 Monaten nach allo-HSZT auf. Es wird ein „progressives-“ (eine floride aGvHD geht direkt in eine cGvHD über), „de novo-“ (es entwickelt sich eine cGvHD ohne vorangegangener aGvHD) oder „quiescent-“ Auftreten (bei vorangegangener, aber klinisch nicht mehr manifester aGvHD) unterschieden. Laut Klassifikation des National Institute of Health wird die cGvHD in die Grade „mild“, „moderat“ und „schwer“ eingeteilt (Tabelle 3). [33]

Schweregrad	Mild	Moderat	Schwer
Zahl der betroffenen Organe	1-2	>2	>2
Schweregrad der Organmanifestation	mild (ausgenommen Lunge)	mild-moderat (Lunge nur mild)	schwer (Lunge moderat-schwer)

Tabelle 3: Schweregrade der cGvHD, in Anlehnung an DAG-KBT [33]

2.7.1.3 Prophylaxe der GvHD

Zur Prophylaxe der GvHD werden verschiedene Medikamente eingesetzt. Dabei ist die Wahl der Therapiemodalitäten abhängig von Alter des Empfängers bzw. der Empfängerin, Remissionsstatus vor HSZT oder der Übereinstimmung der HLA-Merkmale zwischen Spender:in und Empfänger:in. Am häufigsten werden Kombinationen aus Calcineurin-Inhibitoren (beispielsweise Cyclosporin A (CyA)), Methotrexat (MTX), Mycophenolatmofetil (MMF) und Tacrolimus eingesetzt. Eine Immunsuppression durch Antithymozytenglobulin (ATG) (im Rahmen der Konditionierungstherapie) dient ebenfalls der GvHD-Prophylaxe. Durch eine in vivo Depletion von Empfänger:innenlymphozyten wird das Risiko einer Transplantatabstoßung und Entwicklung einer GvHD vermindert. [8,38]

Je nach klinischem Verlauf und Wahl des Wirkstoffes wird die Prophylaxe unterschiedlich lange etabliert. Allgemein wird beispielsweise CyA über sechs Monate verabreicht, während MMF mitunter bereits nach 30 Tagen abgesetzt werden kann. [33,39]

2.7.1.4 Therapie der GvHD

Die Indikation zur Therapie der aGvHD wird anhand des klinischen Verlaufes gestellt. Allgemein wird ab dem Vorliegen eines Schweregrad II eine systemische Therapie eingeleitet. Diese erfolgt in den meisten Fällen primär mittels Kortikosteroiden. Als Zweitlinientherapie können zusätzlich MMF oder MTX sowie nicht pharmakologische Therapiemodalitäten wie beispielsweise die extrakorporale Photopherese angewendet werden, wobei die Therapie aufgrund fehlender, standardisierter Therapiekonzepte individualisiert erfolgt.

Die Therapie der cGvHD erfolgt ebenso Patient:innen-orientiert. Sie ist abhängig von Ausdehnung und Schweregrad, dem Rezidivrisiko und dem bisherigen klinischen Verlauf. Als Erstlinientherapie gilt auch hier die Verwendung von topischen und/oder systemischen Steroiden. Bei Steroidversagen sind zusätzliche Therapiemodalitäten wie die Gabe von mTOR-Inhibitoren (z.B. Sirolimus), TNF-Inhibitoren (z.B. Etanercept), JAK2-Inhibitoren (z.B. Ruxolitinib), monoklonale Antikörper (z.B. Alemtuzumab) und weitere Optionen wie extrakorporale Photopherese oder Gabe von mesenchymalen Stammzellen empfohlen. [33,39]

2.7.2 Transplantationsassoziierte Infektionen

Akute Infektionen gehen mit der fehlenden Immunkompetenz nach HSZT einher und tragen erheblich zur Morbidität und Mortalität der Patient:innen bei. Es werden je nach Zeitpunkt des Auftretens der Infektion drei Phasen unterschieden:

1. Vor dem Engraftment (bei einer absoluten Zahl der Neutrophilen Granulozyten von >500 Zellen/ μL an drei aufeinanderfolgenden Tagen)
2. Nach dem Engraftment (bis zum Tag 100)
3. Spätphase (>100 Tage)

Besonders in der ersten Phase bis zum Engraftment sind die Patient:innen einem deutlich erhöhten Risiko an Infektionen ausgesetzt. Die Neutropenie sowie die therapieassoziierte Störung der Barrierefunktion von Haut und Schleimhäuten (beispielsweise bei einer ausgeprägten Mukositis, iatrogenen Faktoren wie Zentralvenenkatheter) begünstigen opportunistische Infektionen mit Bakterien und Pilzen. In der zweiten Phase nach dem Engraftment spielen vor allem die eingeschränkte zell-vermittelte Immunität und die Gabe von immunsuppressiven Medikamenten wie Kortikosteroide oder Immunsuppressiva zur Kontrolle einer GvHD eine große Rolle. Durch die Immunsuppression kommt es nicht selten zur

Reaktivierung von Viren. Hier sind insbesondere das Zytomegalie- (CMV), Herpes/Varizella-Zoster- (HSV/VZV), Epstein-Barr- (EBV) Virus sowie und Adenoviren (ADV) zu nennen. In der Spätphase bestehen Einschränkungen der zellulären und humoralen Immunität vor allem im Rahmen einer chronischen GvHD und damit einhergehenden immunsuppressiven Therapie.
[13,40]

3 WISSENSCHAFTLICHER HINTERGRUND

3.1 Kernfrage und Studienhypothese

In dieser retrospektiven Studie wurden potentiell prognostische Faktoren hinsichtlich ihres Einflusses auf das progressionsfreie- und Gesamtüberleben allogenen transplantierte Kinder und Jugendlicher mit malignen hämatologischen Erkrankungen untersucht. Evaluiert wurden unter anderem allgemeine, patientenbezogene Charakteristika, sowie Stammzellaufbereitungs- und Transplantationsverfahren. Zusätzlich wurde die Inzidenz und der Manifestationsgrad sowie die Prophylaxe und Therapie einer GvHD erhoben.

4 METHODE UND PATIENT:INNENKOLLEKTIV

In dieser monozentrischen Studie wurden retrospektiv Daten von Kindern und Jugendlichen analysiert, die an der Klinischen Abteilung für pädiatrische Hämato-Onkologie der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz aufgrund einer malignen hämatologischen Erkrankung einer allogenen Stammzelltransplantation unterzogen wurden und deren Grunderkrankung vor dem vollendeten 18. Lebensjahr diagnostiziert wurde. Der Beobachtungszeitraum erstreckte sich von 1978 bis 2018. Das dafür notwendige Votum der Ethikkommission wurde im März 2021 vor Beginn der Datensammlung ausgestellt (33-140 ex 20/21).

Die Hauptquellen zur Datenerhebung stellten die Ambulanzkarten und Krankengeschichten der Abteilung sowie das elektronische Dokumentations- und Kommunikationsnetzwerk (openMEDOCS) der Steiermärkischen Krankenanstalten (KAGes) dar. Zur Datenerfassung wurden die Patient:innen mittels fortlaufenden Nummern pseudonymisiert und die erhobenen Parameter an einem Arbeitsplatz mit Zugriffsbeschränkung gespeichert.

4.1 Methode

4.1.1 Datenerhebung

Folgende klinische Daten wurden erhoben: Geschlecht, Alter zum Zeitpunkt der Stammzelltransplantation, Grunderkrankung, relevante hämato-onkologische Vorerkrankungen, Transplantationsdatum, Remissionsstatus vor und nach HSZT sowie Vitalstatus und Todesursache. Das progressionsfreie Überleben wurde definiert als die Zeitspanne zwischen HSZT und dem Auftreten eines Rezidivs oder Todes beziehungsweise der letzten dokumentierten ärztlichen Kontrolle. Das Gesamtüberleben wurde definiert als

Zeitspanne zwischen dem Tag der HSZT und dem Tod beziehungsweise dem letzten Follow-up. Bei nicht eindeutig definierten Datumsangaben wurde zur Zeitspannenberechnung der 15. Tag des entsprechenden Monats herangezogen.

Für eine umfassende Charakterisierung des Transplantationsablaufs wurden die Parameter Stammzellspender und HLA-Match, Stammzellquelle, Stammzellzahl und Manipulationsverfahren der Stammzellen aus den entsprechenden Arztbriefen und aus den Transplantationsprotokollen erhoben. „Völlige Übereinstimmung“ des HLA-Matches wurde definiert bei einer kompletten Entsprechung oder Abweichung in einem Genlocus der jeweiligen Allele der HLA-Allel Klassen I und II. Abweichungen in mehr als einem Genlocus wurden als „teilweise Übereinstimmung“ definiert. Aufgrund des langen Beobachtungszeitraums wurde die Stammzellzahl anhand der absoluten kernhaltigen Zellzahl und/oder der Anzahl an CD34-positiven Zellen unterschiedlich dokumentiert. Der Remissionsstatus zu den verschiedenen Zeitpunkten wurde retrospektiv anhand zytologischer, durchflusszytometrischer (FACS) und molekularer Befunde inklusive Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH) und/oder Polymerase-Kettenreaktion (PCR) festgelegt, wobei lokale Befunde als auch Referenzbefunde berücksichtigt wurden. Bei Lymphomen wurde der Remissionsstatus durch radiologische Untersuchungen (Magnetresonanztomographie (MRT), Computertomographie (CT), Positron-Emissions-Tomographie-CT (PET-CT)) beurteilt. Der methodische Stellenwert zur Remissionsbeurteilung wurde aufsteigend von Zytologie, Durchflusszytometrie zu molekularen Methoden höher bewertet. Eine komplette Remission im Rahmen der MRD-Befundung (minimal residual disease) wurde ab einer MRD-Last $\leq 10^{-4}$ angenommen. Des Weiteren wurden Daten zur Konditionierungstherapie (Ganzkörperbestrahlung und/oder zytotoxische Therapie sowie zusätzlicher Behandlungsmodalitäten einschließlich der Verabreichung von Antithymozytenglobulin (ATG)/Muromonab-CD3 (OKT3)) und zum Infektionsgeschehen nach HSZT erfasst. Hierbei wurden all jene Infektionen berücksichtigt, die sich während des stationären Aufenthalts nach Transplantation klinisch manifestiert haben oder bis inklusive sieben Tage nach Entlassung zu einer stationären Wiederaufnahme an der Klinik geführt haben.

Weitere erhobene Parameter umfassten Daten zur GvHD, die Inzidenz einer aGvHD und cGvHD und deren Schweregrade. Die Schweregrade wurden aus den Arztbriefen, Dekursen und Ambulanzkarten rekonstruiert. Bei fehlender Graduierung in der Dokumentation wurde diese

als „unbekannt“ gewertet. Die cGvHD wurde anhand der Anzahl betroffener Organsysteme (Gastrointestinaltrakt mit Manifestationen an Darm, Leber oder Pankreas, Haut und Schleimhäute, Konjunktiven, Atmungssystem sowie Hämatopoese und Stütz- und Bewegungsapparat) eingeteilt.

Die Datenerhebung zur GvHD Prophylaxe und Therapie umfasste sowohl sämtliche immunsuppressive Medikamente und Dauer der Medikation als auch die einzelnen Therapiemodalitäten bei Vorliegen einer manifesten GvHD. Die Dauer der Prophylaxe wurde definiert als Zeitraum der Einleitung bis zur GvHD Manifestation. Ab Manifestationszeitpunkt wurden alle GvHD-Maßnahmen als „therapeutisch“ beurteilt. Jeder verabreichte Wirkstoff sowie nicht-medikamentöse Therapieformen inklusive Phototherapie oder die Gabe mesenchymaler Stammzellen wurde als eigene Therapiemodalität gewertet.

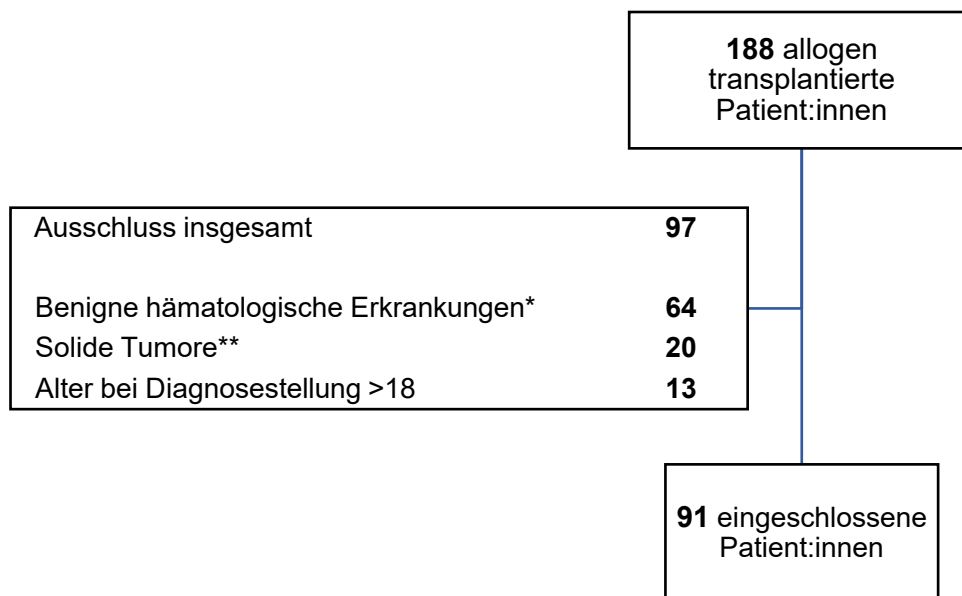
4.1.2 Statistische Datenauswertung

Das jeweilige Testverfahren wurde abhängig von der Merkmalsart, Stichprobenanzahl und Verteilungstyp gewählt. Die univariate Überlebensanalyse erfolgte nach der Kaplan-Meier-Methode, wobei zum Vergleich der verschiedenen Untergruppen der Log-Rank-Test verwendet wurde. Qualitative Zielgrößen wurden mittels Chi-Quadrat Test nach Pearson analysiert. Die wichtigsten Prognoseparameter, deren Einfluss auf das Gesamtüberleben in der univariaten Analyse geprüft wurde, wurden auch in einer multivariaten Analyse (Cox-Proportional-Hazard-Regression) eingeschlossen. Die statistische Signifikanz wurde mit einem P-Wert von $<0,05$ festgelegt. Die statistischen Analysen wurden mit dem kommerziell erhältlichen Programm SPSS (Version 27.0, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) durchgeführt.

5 ERGEBNISSE

5.1 Studienkollektiv

Im Beobachtungszeitraum wurden 188 Patient:innen einer allogenen HSZT unterzogen. 97 Patient:innen (51,6%) wurden aus den folgenden Gründen ausgeschlossen: bei 64 Patient:innen (66,0%) lag eine benigne hämatologische Erkrankung, bei 20 Patient:innen (20,6%) ein solider Tumor vor. 13 Patient:innen (13,4%) waren bei Diagnosestellung über 18 Jahre alt. Die restlichen 91 Patient:innen (48,4%) bilden das definitive Studienkollektiv (Abbildung 4).



*Schwere aplastische Anämie, schwere kongenitale Immundefizienz, variables Immundefektsyndrom, familiäre hämophagozytische Lymphohistiozytose, Thalassämie, Wiskott-Aldrich-Syndrom, Fanconi-Anämie, Hämoglobinopathie Olmsted, Hyper-IgM-Syndrom, sehr schwere aplastische Anämie, Evans-Syndrom, atypisches autoimmun-lymphoproliferatives Syndrom, refraktäres EBV-assoziiertes hämophagozytisches Syndrom, Mb. Krabbe, schwere kongenitale Neutropenie, X-LPS, Mucopolysaccharidose I Hurler, Griscelli-Syndrom, metachromatische Leukodystrophie, Sichelzellerkrankung, WAS-like Syndrom, septische Granulomatose, Diamond-Blackfan-Anämie, profunde kombinierte Immundefizienz, kongenitale Agranulozytose

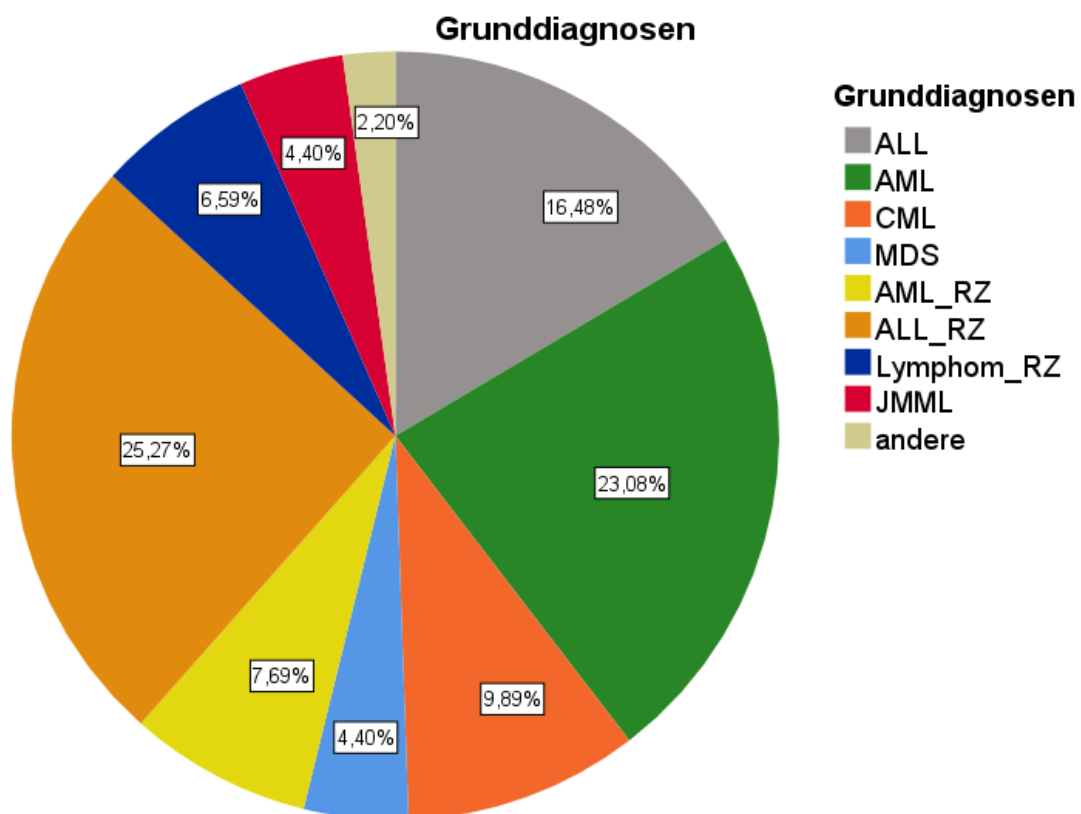
** Neuroblastom, Ewing-Sarkom, Ependymblastom, Osteosarkom, Wilmstumor, Medulloblastom, Keimzelltumor mit rhabdomyosarkomatösen Metastasen

Abbildung 4: Consort Flussdiagramm des Patient:innenkollektivs

5.2 Charakterisierung des Patient:innenkollektivs

5.2.1 Allgemeine Charakteristika

Allgemeine Charakteristika des Studienkollektivs sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Insgesamt wurden 51 Patienten (56,0%) und 40 Patientinnen (44,0%) eingeschlossen. Bei Diagnosestellung der Grunderkrankung lag das mediane Alter bei 9,8 Jahren (Spannbreite 0,0-22,4), bei HSZT bei 10,2 Jahren (Spannbreite 0,3-22,5). Die Zeitspanne zwischen Diagnosestellung und HSZT betrug im Median 18,1 Wochen (Spannbreite 1,0-491,3). Zu den häufigsten Grunderkrankungen, die Indikation für eine HSZT waren, zählten das Rezidiv einer ALL (N=23, 25,3%), AML in Primärtherapie (N=21, 23,1%) und ALL in Primärtherapie (N=15, 16,4%) (Abbildung 5). Die Indikation zur Transplantation einer ALL/AML in der Primärtherapie folgte den Kriterien der zum Zeitpunkt der Behandlung geltenden Therapieoptimierungsstudien.



*AML=Akute Myeloische Leukämie, ALL=Akute Lymphoblastische Leukämie, CML=Chronisch Myeloische Leukämie, MDS=Myelodysplastisches Syndrom, JMML=Juvenile Myelomonozytäre Leukämie, RZ=Rezidiv

Abbildung 5: Transplantationsindikationen

Die Mehrheit der Patient:innen (N=52, 57,1%) befand sich zum Zeitpunkt der HSZT in kompletter Remission. In dieser Gruppe erfolgte die Remissionsbeurteilung in 14 Fällen (26,9%) allein lichtmikroskopisch, in sechs Fällen (11,5%) mittels Durchflusszytometrie und in 30 Fällen (57,7%) molekulargenetisch mittels PCR oder FISH-Analyse. In zwei Fällen (3,8%) eines Lymphoms erfolgte die Remissionsbeurteilung anhand von Schnittbildgebung. Bei 39 Patient:innen (42,9 %) lag bei letzter Remissionsbeurteilung vor HSZT eine Resterkrankung im jeweiligen diagnostischen Verfahren vor. 27 der 39 Patient:innen (29,7% des Gesamtkollektiv) erhielten nach letzter Remissionsbeurteilung eine weitere Therapie, ohne dass vor HSZT eine neuerliche Remissionsbeurteilung erfolgte.

Allgemeine Charakterisierung	Total	Prozent (%)
Patient:innen	N=91	100%
Geschlecht		
Männlich	N=51	56,0%
Weiblich	N=40	44,0%
Alter bei Stammzelltransplantation [Jahre]		
Median (Spannweite)	10,2 (0,3-22,5)	
Diagnose		
Akute Lymphoblastische Leukämie (Rezidiv)	N= 23	25,3%
Akute Myeloische Leukämie*	N=21	23,1%
Akute Lymphoblastische Leukämie*	N=15	16,4%
Chronisch Myeloische Leukämie	N=9	9,9%
Akute Myeloische Leukämie (Rezidiv)	N=7	7,7%
Lymphom (Rezidiv)	N=6	6,6%
Non Hodgkin Lymphom	N=5	
Hodgkin Lymphom	N=1	
Juvenile Myelomonozytäre Leukämie	N=4	4,4%
Myelodysplastisches Syndrom	N=4	4,4%
Andere**	N=2	2,2%

Remissionsstatus bei Stammzelltransplantation		
Komplette Remission	N=52	57,1%
Lichtmikroskopisch	N=14	
Lichtmikroskopisch + FACS	N=6	
Lichtmikroskopisch + FACS + FISH MRD	N=7	
Lichtmikroskopisch + FACS + PCR MRD	N=23	
Bildgebung	N=2	
Keine Remission	N=39	42,9%

*Akute Myeloische Leukämie/Akute Lymphoblastische Leukämie in Primärtherapie

**Doppelleukämie Akute Myeloische Leukämie/Akute Lymphoblastische Leukämie, Juvenile Myelomonozytäre Leukämie
Rezidiv

Tabelle 4: Allgemeine Charakterisierung des Patient:innenkollektivs

5.2.2 Überleben

Die Überlebensdaten sind in Abbildung 6 und Tabelle 5 dargestellt. 48 Patient:innen (52,7%) verstarben; der Großteil davon (N=22, 45,8%) an einem Rezidiv/an der Progression der malignen Grundkrankheit. Bei elf Patient:innen (22,9%) fand sich zum Todeszeitpunkt eine manifeste GvHD. Bei den verbleibenden 15 Patient:innen (31,5%) bestand weder ein Hinweis auf eine schwerwiegende GvHD noch lag ein Rezidiv vor. Diese Patient:innen verstarben entweder an infektiösen Komplikationen im Rahmen der iatrogenen Immunsuppression oder an anderen transplantationsassoziierten Komplikationen wie Multiorganversagen nach Konditionierungstherapie oder Knochenmarkversagen.

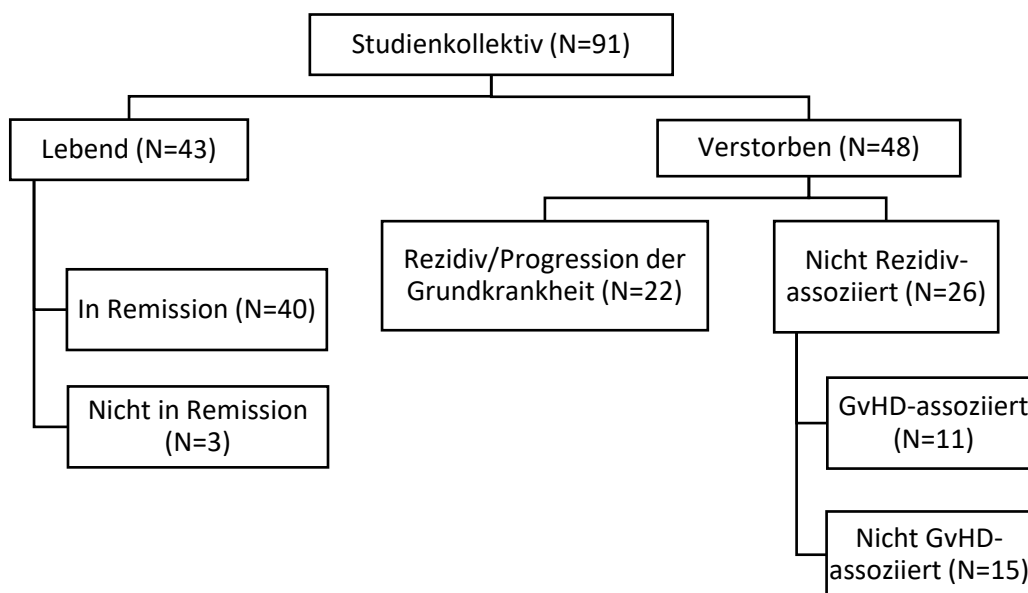


Abbildung 6: Consort Flussdiagramm zu den Überlebensdaten

Das Gesamtüberleben des Studienkollektivs betrug im Median 20 Monate (Interquartilsabstand 6,0-111,5). Die Anzahl der Todesfälle nahm im Zeitraum 2001-2010 (N=13/33, 39,4%) im Vergleich zum Zeitraum vor 2000 (N=23/33, 69,7%) ab. Von 2011-2018 fanden sich im Vergleich zur vorhergehenden Dekade relativ mehr Todesfälle (N=12/25, 48%) (Abbildung 7).

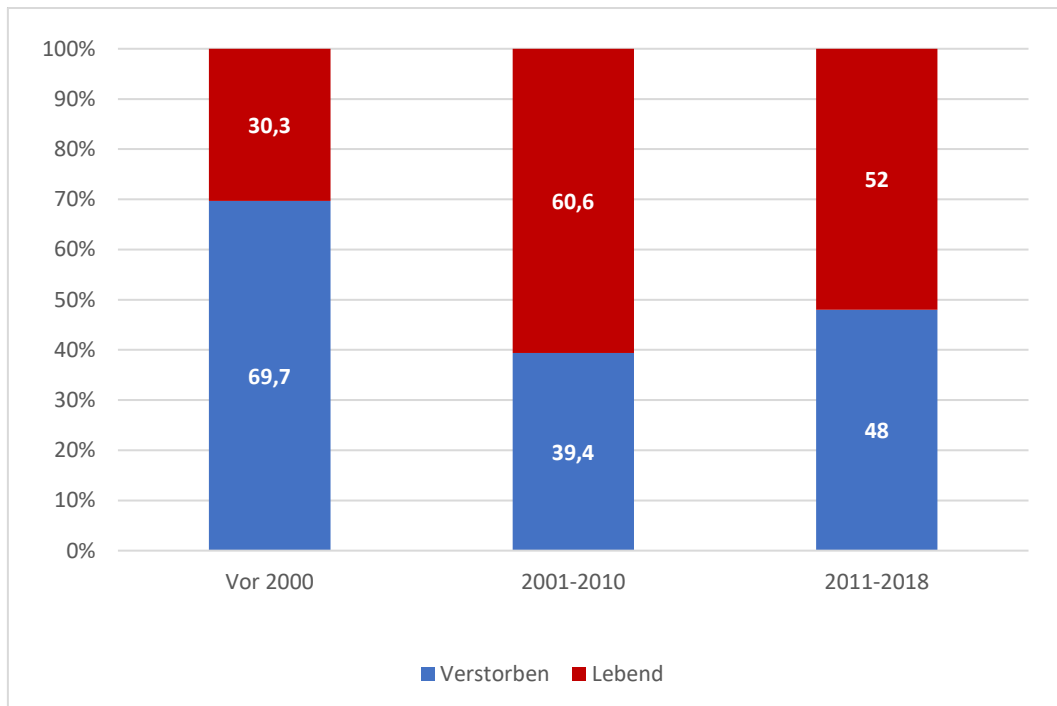


Abbildung 7: Gesamtüberleben nach Behandlungsdekade

Das progressionsfreie Überleben der Gesamtkohorte betrug im Median 13,2 Monate (Interquartilsabstand 4,3-111,5). In 10/39 Fällen (25,6%), in denen vor HSZT keine Remission vorlag, konnte durch diese eine komplette Remission erzielt werden. In sieben dieser Fälle wurde zwischen Remissionsbeurteilung und tatsächlicher HSZT noch eine Chemotherapie initiiert.

Das Gesamtüberleben der Subgruppe mit Rezidiv (N=22, 45,8%) betrug zum Vergleich nur 15,9 Monate (Interquartilsabstand 7,6-21,6). Dem gegenüber lag das mediane Gesamtüberleben bei Patient:innen in Remission bei 42,4 Monaten (Interquartilsabstand 5,4-124,5). Von den 43 überlebenden Patient:innen waren 40 (93,0%) zum Zeitpunkt der letzten Kontrolle in Remission. Bei zwei Patient:innen (4,7%) mit CML und einem Patienten (2,3%) mit Rezidiv einer ALL trat nach HSZT ein Rezidiv auf (Abbildung 6).

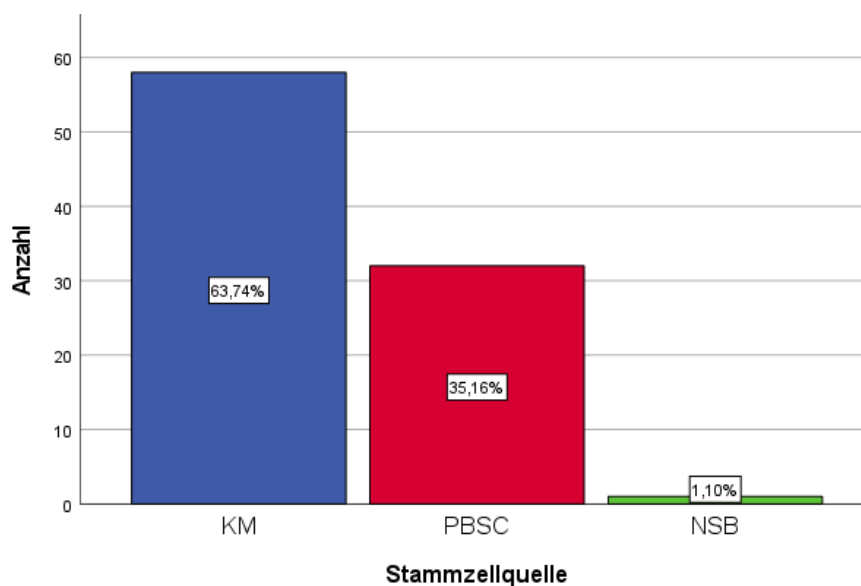
Nach der HSZT konnten bei mehr als der Hälfte der Patient:innen (N=51, 56,0%) Infektionen nachgewiesen werden, in 16 Fällen (17,6%) trug eine manifeste Infektion zur Mortalität dieser Patient:innen bei. Bei den restlichen 40 Kindern und Jugendlichen (44,0%) fand sich kein Hinweis einer Transplantations-assoziierten Infektion.

Überleben	Total	Prozent
Patient:innen	N=91	100%
Remissionsstatus bei letzter Kontrolle		
Komplette Remission	N=57	62,6%
Keine Remission	N=22	24,2%
Keine Remissionsbeurteilung	N=6	6,6%
Nie Remission erzielt	N=6	6,6%
Progressionsfreies Überleben [Monate]		
Median (Interquartilsabstand)	13,2 (4,3-111,5)	
Vitalstatus bei letzter Kontrolle		
Verstorben	N=48	52,7%
Lebend	N=43	47,3%
Gesamtüberleben [Monate]		
Median (Interquartilsabstand)	20 (6-111,5)	
Infektionen nach Stammzelltransplantation		
Infektion	N=51	56,0%
Letaler Ausgang	N=16	17,6%
Keine infektionsbedingten Komplikationen	N=40	44,0%

Tabelle 5: Überlebensdaten der Patient:innen

5.2.3 Stammzellverfahren

Bei 40 Patient:innen (44,0%) war der Spender ein HLA-identisches Geschwisterkind, in einem Fall (1,1%) ein HLA-identischer Elternteil. Bei 41 Patient:innen (45,1%) fand sich ein Fremdspender/eine Fremdspenderin, in neun Fällen (9,9 %) ein MMRD. Eine völlige Übereinstimmung der HLA-Merkmale fand sich in der Mehrzahl der Fälle (N=82, 90,1%). Bei acht Patient:innen (8,8%) stimmten die HLA-Merkmale nicht vollkommen überein. Bei einem Patienten (1,1%) konnte der HLA-Match aufgrund fehlender Dokumentation nicht mehr rekonstruiert werden. Die Stammzellen wurden entweder aus Knochenmark (N=58, 63,7%), peripherem Blut (N=32, 35,2%) oder Nabelschnurblut (N=1, 1,1%) gewonnen (Abbildung 8).



*KM = Knochenmark, PBSC = Periphere Blutstammzellen, NSB = Nabelschnurblut

Abbildung 8: Stammzellquellen

Die Mehrzahl der Patient:innen (N=63, 69,2%) erhielt unmanipulierte Stammzellen. Insgesamt wurden die Stammzellen in 27 Fällen (29,7%) vor Verabreichung aufbereitet. In der Mehrzahl der Fälle wurden die Stammzellgrafts geteilt und getrennt aufbereitet: CD34+ Selektion/CD3+ TCR Alpha-/Beta CD19+ Depletion (N=6, 22,3%), unmanipuliert/CD34+ Selektion (N=5, 18,5%) und CD34+ Selektion/CD3+CD19+ Depletion (N=4, 14,8%). Eine reine CD34+ Selektion erfolgte bei fünf Patient:innen. In den restlichen sieben Fällen (25,9%) wurde das Stammzellprodukt individuell verarbeitet. In einem Fall (1,1%) fanden sich keine Angaben zur Stammzellmanipulation (Tabelle 6).

Stammzellverfahren	Total	Prozent (%)
Patient:innen	N=91	100%
Spender		
Matched unrelated donor	N=41	45,1%
Matched sibling donor	N=40	44,0%
Mismatched related donor	N=9	9,9%
Matched related donor	N=1	1,1%
HLA-Match		
Völlige Übereinstimmung	N=82	90,1%
Teilweise Übereinstimmung	N=8	8,8%
Unbekannt	N=1	1,1%
Stammzellquelle		
Knochenmark	N=58	63,7%
Peripheres Blut	N=32	35,2%
Nabelschnurblut	N=1	1,1%
Stammzellmanipulation		
Unmanipuliert	N=63	69,2%
Manipuliert	N=27	29,7%
Nicht bekannt	N=1	1,1%
Patient:innen mit manipulierten Stammzellen	N=27	100%
Stammzellaufbereitungsverfahren		
CD34+ Selektion	N=5	18,5%
Geteilt: unmanipuliert/CD34+ Selektion	N=5	18,5%
Geteilt: CD34+ Selektion/CD3+CD19+ Depletion	N=4	14,8%
Geteilt: CD34+ Selektion/CD3+ TCR Alpha-/Beta CD19+ Depletion	N=6	22,3%
Andere*	N=7	25,9%

*CD3+CD19+ Depletion, CD3+ TCR Alpha-/Beta CD19+ Depletion, geteilt unmanipuliert/CD3+CD19+ Depletion, geteilt unmanipuliert/CD34+ Selektion/CD3+ TCR Alpha-/Beta CD19+ Depletion, geteilt CD3+ TCR Alpha-/Beta CD19+ Depletion/unmanipuliert/CD34+ Selektion, geteilt CD34+ Selektion/ CD3+ TCR Alpha-/Beta CD19+ Depletion/CD34 Negativfraktion

Tabelle 6: Stammzellmanipulation

In je 29 der 58 Fälle (50%), in denen Knochenmark transplantiert wurde, wurde der Stammzellgehalt entweder durch die Angabe der Anzahl der nukleierten Stammzellen oder der CD34+-Zellen ausgedrückt. Bei den nukleierten Zahlen lag der Median bei $4,05 \times 10^8/\text{kg KG}$ Zellen, bei den CD34+-Zellen bei $5 \times 10^6/\text{kg KG}$ Zellen. Der Zellgehalt der Stammzellgrafts aus peripherem Blut (N=32, 35,2%) wurde anhand der Zahl der CD34+-Zellen bestimmt. Hier betrug der Median $17,1 \times 10^6/\text{kg KG}$ Zellen. In nur einem Fall (1,1%) wurden Stammzellen mit einem Gehalt von $0,168 \times 10^8/\text{kg KG}$ nukleierte Zellen aus dem Nabelschnurblut transplantiert (Tabelle 7).

Stammzellzahl	Total	Prozent (%)
Patient:innen	N=91	100%
Knochenmark		
NC Zellen [$\times 10^8/\text{kg KG}$]	N=29	31,85%
Median (Spannweite)	4,05 (0,8-11,8)	
CD34+ Zellen [$\times 10^6/\text{kg KG}$]	N=29	31,85%
Median (Spannweite)	5 (0,85-18,6)	
Peripheres Blut		
CD34+ Zellen [$\times 10^6/\text{kg KG}$]	N=32	35,2%
Median (Spannweite)	17,1 (4,8-39,43)	
Nabelschnurblut		
NC Zellen [$\times 10^8/\text{kg KG}$]	N=1	1,1%
Median	0,168	

Tabelle 7: Deskriptive Beschreibung der Stammzellzahlen

5.2.4 Transplantationsverfahren

Die verschiedenen Konditionierungstherapien waren innerhalb des Studienkollektives sehr heterogen. Zu den häufigsten Kombinationen zählten Fludarabin, Treosulfan und Thiotepa (N=12, 13,2 %), Fludarabin und Melphalan (N=8, 8,8 %), Busulfan und Cyclophosphamid (N=10, 11,0 %) oder Busulfan, Cyclophosphamid und Melphalan (N=15, 16,5 %). 18 Patient:innen (19,8 %) erhielten eine Ganzkörperbestrahlung und Etoposid; sechs davon (6,6 %) zusätzlich auch Cyclophosphamid. In 28 Fällen (30,7%) setzte sich die Konditionierung aus einer anderen Kombination an zytotoxischen Medikamenten und Bestrahlung zusammen. 39 Patient:innen erhielten (42,9%) zusätzlich Antithymozytenglobulin (ATG) und fünf Patient:innen (5,5%) Muromonab-CD3 (OKT3) als GvHD-Prophylaxe. Die Etablierung von ATG/OKT3 als zusätzliche Therapieoption erfolgte nach europäischer Marktzulassung 1985 an der Grazer Kinderklinik erst ab 1994. 69,2% der Patient:innen (N=44/70), die nach 1994 transplantiert wurden, erhielten ATG oder OKT3 (Tabelle 8).

Konditionierung	Total	Prozent (%)
Patient:innen	N=91	100%
Busulfan + Cyclophosphamid + Melphalan	N=15	16,5%
Fludarabin + Treosulfan + Thiotepa	N=12	13,2%
Ganzkörperbestrahlung + Etoposid	N=12	13,2%
Busulfan + Cyclophosphamid	N=10	11,0%
Fludarabin + Melphalan	N=8	8,8%
Ganzkörperbestrahlung + Etoposid + Cyclophosphamid	N=6	6,6%
Andere*	N=28	30,7%
In vivo GvHD-Prophylaxe		
ATG	N=39	42,9%
OKT3/Muromonab	N=5	5,5%
Keine	N=47	51,6%

*Andere Kombinationen aus den oben genannten Chemotherapeutika sowie Clofarabin, Amsacrine, Mitoxantron und Alemtuzumab

Tabelle 8: Konditionierung

5.2.5 Graft-versus-Host Erkrankung

5.2.5.1 GvHD-Inzidenz

Bei der Mehrzahl der Patient:innen (N= 52, 57,2%) wurde eine GvHD nach Transplantation dokumentiert. In den meisten Fällen (N=30, 33,0%) handelte es sich um eine aGvHD. Bei drei Patient:innen (3,3%) fanden sich Angaben zu einer cGvHD mit Beteiligung von Haut, Lunge, Leber und/oder Darm, ohne dass eine initiale aGvHD dokumentiert wurde. Bei 19 Patient:innen (20,9%) trat sequenziell eine aGvHD gefolgt von einer cGvHD auf. 25 Patient:innen (51%) hatten eine isolierte aGvHD der Haut, in 24 Fällen (49,9%) betraf die aGvHD in verschiedenen Schweregraden auch Darm und Leber. Die cGvHD war in fünf Fällen (22,7%) auf ein Organ beschränkt, bei rund einem Drittel der Patient:innen (N=8, 36,4%) manifestierte sie sich an zwei Organsystemen, bei neun Patient:innen (40,9%) waren mehr als zwei Organsysteme betroffen. Im Median manifestierte sich die GvHD nach 16 Tagen (Interquartilsabstand 10-37,5 Tage). Bei drei Patient:innen (5,8%) kam es erst im Rahmen eines so genannten Stammzellboosts nach Transplantation zum Auftreten klinischer Zeichen einer GvHD. Bei zwei weiteren Patient:innen (3,8%) trat die GvHD nach Gabe von Donor-Lymphozyten-Infusionen auf (Tabelle 9).

GvHD	Total	Prozent (%)
Patient:innen	N=91	100%
Häufigkeit		
GvHD	N=52	57,2%
Isolierte aGvHD	N=30	33,0%
Isolierte cGvHD	N=3	3,3%
Akute und chronische GvHD	N=19	20,9%
aGvHD Manifestationen		
Nur Haut	N=25	51,0%
Andere (Leber und Darm)	N=24	49,0%
aGvHD*		
Haut	N=45	100%
Grad I	N=3	6,7%
Grad II	N=11	24,4%
Grad III	N=15	33,3%
Grad IV	N=2	4,4%

	Grad unbekannt	N=14	31,2%
Leber		N=17	100%
	Grad I	N=3	17,6%
	Grad II	N=1	5,9%
	Grad III	N=1	5,9%
	Grad IV	N=2	11,8%
Darm	Grad unbekannt	N=10	58,8%
		N=17	100%
	Grad I	N=1	5,9%
	Grad II	N=3	17,6%
	Grad III	N=3	17,6%
	Grad IV	N=4	23,5%
	Grad unbekannt	N=6	35,4%
cGvHD		N=22	100%
Anzahl betroffener Organsysteme			
	1 Organsystem	N=5	22,7%
	2 Organsysteme	N=8	36,4%
	3 Organsysteme	N=4	18,2%
	4 oder mehr Organsysteme	N=5	22,7%
Dauer bis zur Manifestation [Tage]			
	Median (Interquartilsabstand)	16 (10-37,5)	

*Mehrfachnennungen sind möglich

Tabelle 9: Häufigkeit, Graduierung und klinische Manifestation der GvHD

5.2.5.2 GvHD Prophylaxe

Die GvHD Prophylaxe umfasste Cyclosporin A (CyA) als Monotherapie (N=26, 28,6%), in Kombination mit Methotrexat (MTX) (N=18, 19,7%) oder Prednisolon (N=7, 7,7%); 13 Patient:innen (14,3%) erhielten eine Monotherapie mit Mycophenolat-Mofetil (MMF). Bei fünf Patient:innen (5,5% %) fanden sich keine Angaben zur GvHD-Prophylaxe. In 22 Fällen (24,2%) wurden andere Kombinationen verabreicht. Die Prophylaxe wurde im Median 36 Tage lang (Interquartilsabstand 14-86) verabreicht. In 45 Fällen (49,5%) wurde die Prophylaxe als solche beendet und in 41 Fällen (45,1%) ging sie in die Therapie einer manifesten GvHD über (Tabelle 10).

GvHD-Prophylaxe	Total	Prozent (%)
Patient:innen	N=91	100%
Prophylaktische Immunsuppression		
Monotherapie CyA	N=26	28,6%
CyA und MTX	N=18	19,7%
Monotherapie MMF	N=13	14,3%
CyA und Prednisolon	N=7	7,7%
Keine dokumentierte Prophylaxe	N=5	5,5%
Andere*	N=22	24,2%
Dauer der GvHD Prohpylaxe [Tage]		
Median (Spannweite)	36 (3-255)	
Interquartilsabstand	14-86	

*Andere Kombinationen aus den oben gennante Medikamenten sowie Tacrolimus und BT563

Tabelle 10: GvHD Prophylaxe

5.2.5.3 GvHD Therapie

Die Behandlung der GvHD erfolgte multimodal, wobei in den meisten Fällen (N=20, 38,5%) zumindest zwei verschiedene Therapiemodalitäten zum Einsatz kamen. Insgesamt wurden über den Beobachtungszeitraum 21 verschiedene Therapieansätze der GvHD dokumentiert, wobei in der Mehrzahl der Fälle (N=38, 73,1%) die Kombination mit Kortison und Cyclosporin A als Therapiegrundlage diente (Tabelle 11).

GvHD-Therapie	Total	Prozent (%)
Patient:innen	N=52	100%
Therapiemodalitäten*		
0	N=1***	1,9%
1	N=5	9,6%
2	N=20	38,5%
≥3	N=26	50,0%
Medikation		
Kortison mit Immunsuppressivum inkl. CyA**	N=38	73,1%
Kortison mit Immunsuppressivum exkl. CyA**	N=7	13,5%

Monotherapie Cortison	N=3	5,8%
Immunsuppressiva (MMF, CyA)**	N=3	5,8%
Keine Therapie***	N=1	1,8%

*Einschließlich Phototherapie und Gabe von mesenchymalen Stammzellen

**Aufgrund der milden klinischen Manifestation wurde keine spezifische GvHD etabliert.

***CyA=Cyclosporin A, MMF=Mycophenolat-Mofetil

Tabelle 11: Therapie der GvHD

5.3 Statistische Analysen

5.3.1 Kaplan-Meier Überlebenskurven und Kreuztabellen

Die 3-Jahres-Überlebensrate des gesamten Studienkollektivs betrug 47,0% (Abbildung 9). In der univariaten Analyse zeigte sich ein signifikanter Unterschied im Gesamtüberleben je nach Behandlungsdekade: in den Jahren 2001-2010 fand sich die höchste 3-Jahres-Überlebensrate mit 61,5%, während die 3-Jahres Überlebensraten vor dem Jahr 2000 29,0% und von 2011-2018 50,0% betragen ($p=0,016$; log-rank; Abbildung 10). Des Weiteren wirkte sich der Remissionsstatus signifikant auf das Überleben aus. Patient:innen ohne Hinweis auf eine Resterkrankung vor HSZT hatten deutlich höhere Überlebensraten als jene, die sich vor Transplantation nicht in Remission befanden (3-Jahres-Überlebensrate von 58,9% gegenüber 38,1% nicht in Remission mit erneuter Therapie bzw. 36,4% nicht in Remission ohne erneute Therapie; $p=0,045$; log-rank; Abbildung 11). Die Grunderkrankung hatte einen signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben. So hatten Patient:innen mit Myelodysplastischem Syndrom die höchste Überlebensrate mit 75,0%. Demgegenüber fanden sich die niedrigsten 3-Jahres-Überlebensraten bei Lymphom-Rezidiven mit 16,7% und AML-Rezidiven mit 0% ($p=0,001$; log-rank; Abbildung 12). Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Überleben je nach Stammzellquelle. Die 3-Jahres-Überlebensrate von Patient:innen mit Knochenmarkstransplantation lag bei 45,0% während jene bei Transplantation mit peripheren Blutstammzellen 52,9% betrug ($p=0,397$; log-rank; Abbildung 13).

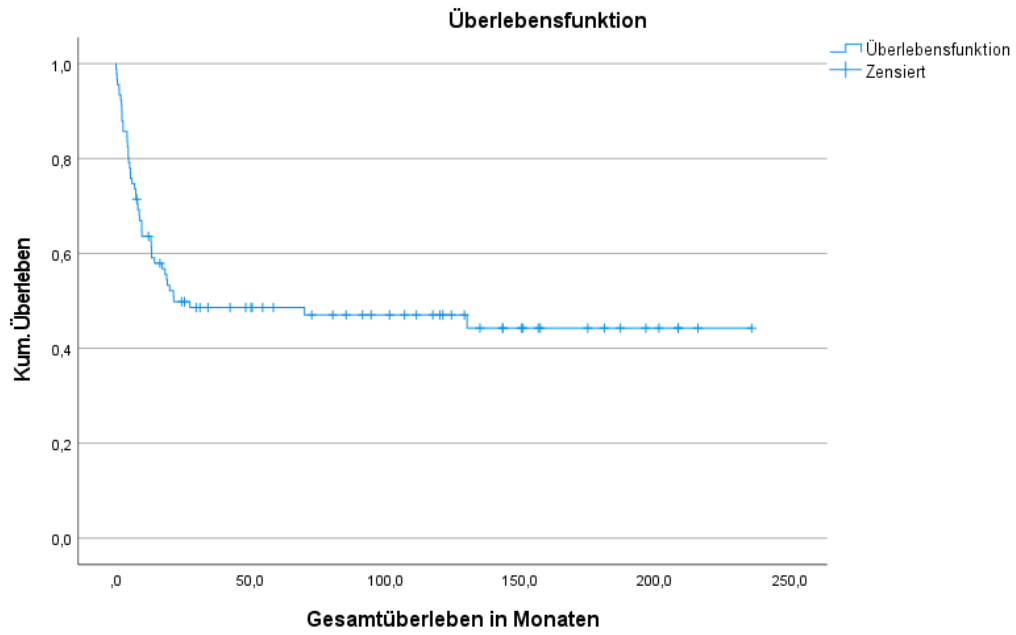
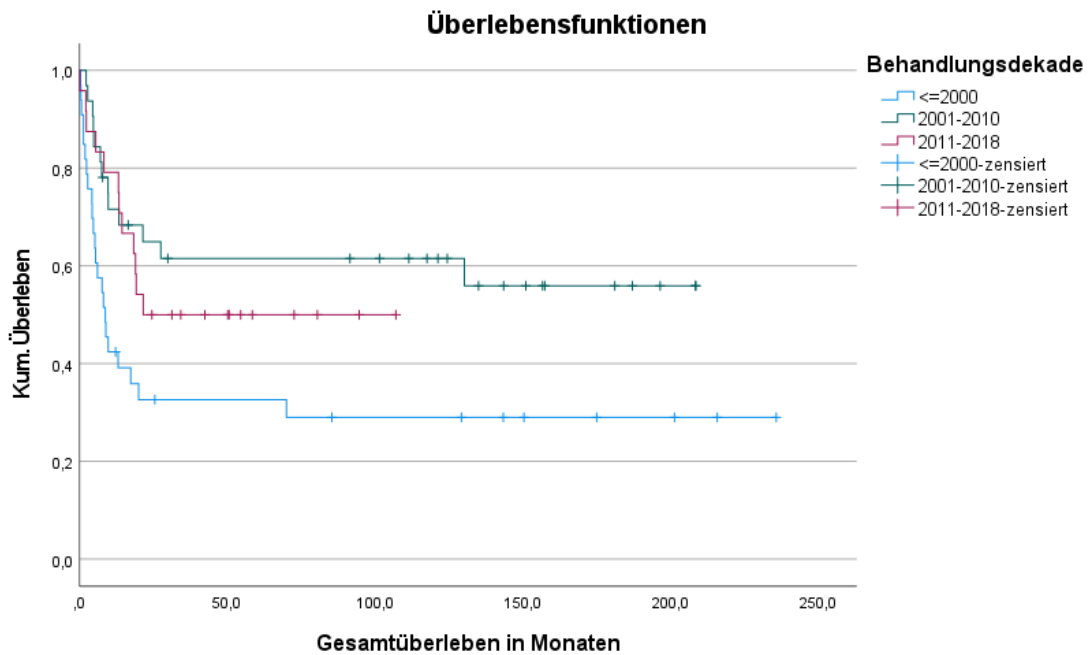


Abbildung 9: Kaplan-Meier Kurve zum Gesamtüberleben



$p=0,016$; log-rank

Abbildung 10: Kaplan-Meier Kurve zum Gesamtüberleben nach dem Parameter Behandlungsdekade

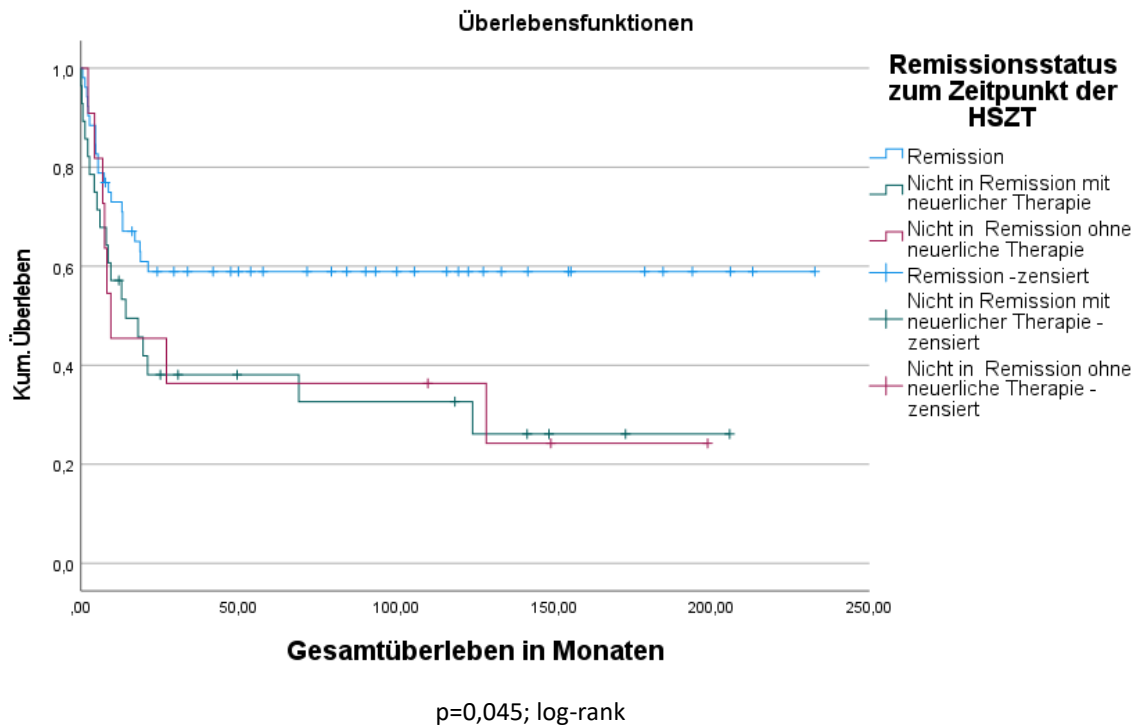
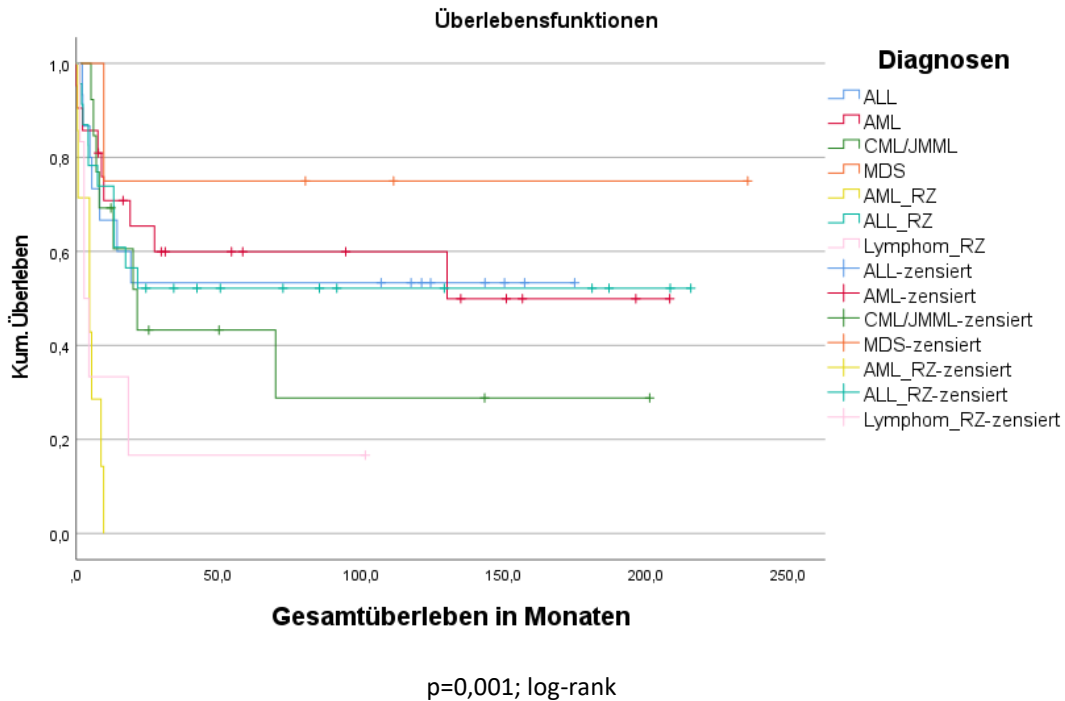
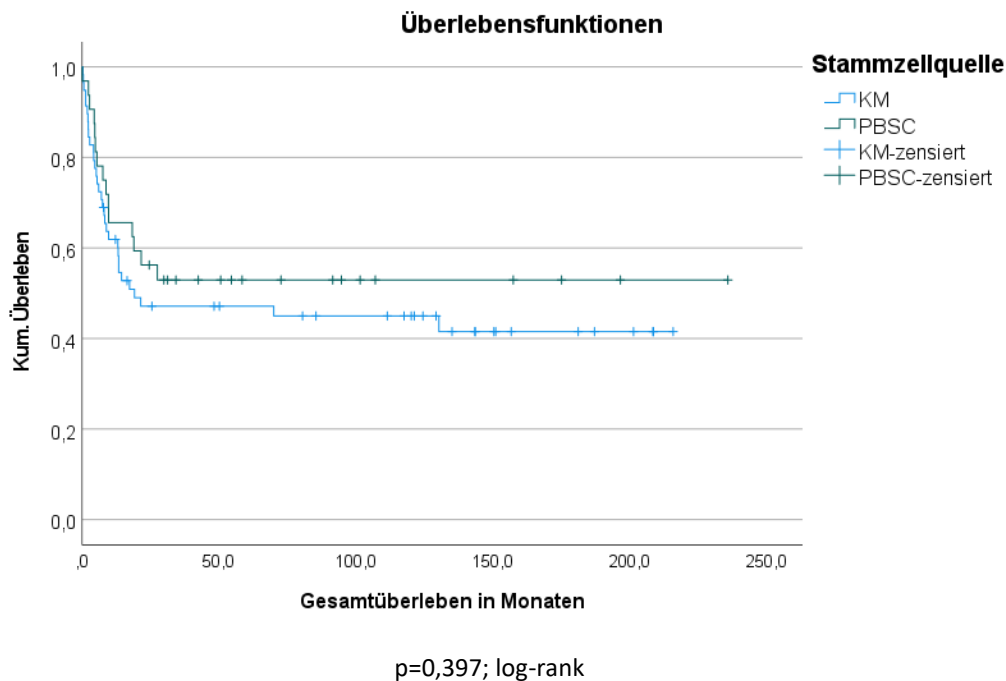


Abbildung 11: Kaplan-Meier Kurve zum Gesamtüberleben nach dem Parameter Remissionsstatus bei HSZT



*ALL=Akute Lymphoblastische Leukämie, AML=Akute Myeloische Leukämie, CML=Chronisch Myeloische Leukämie, JMML=Juvenile Myelomonozytäre Leukämie, MDS=Myelodysplastisches Syndrom, AML_RZ=Akute Myeloische Leukämie Rezidiv, ALL_RZ=Akute Lymphoblastische Leukämie Rezidiv, Lymphom_RZ=Lymphom Rezidiv

Abbildung 12: Kaplan-Meier Kurve zum Gesamtüberleben nach dem Parameter Diagnose



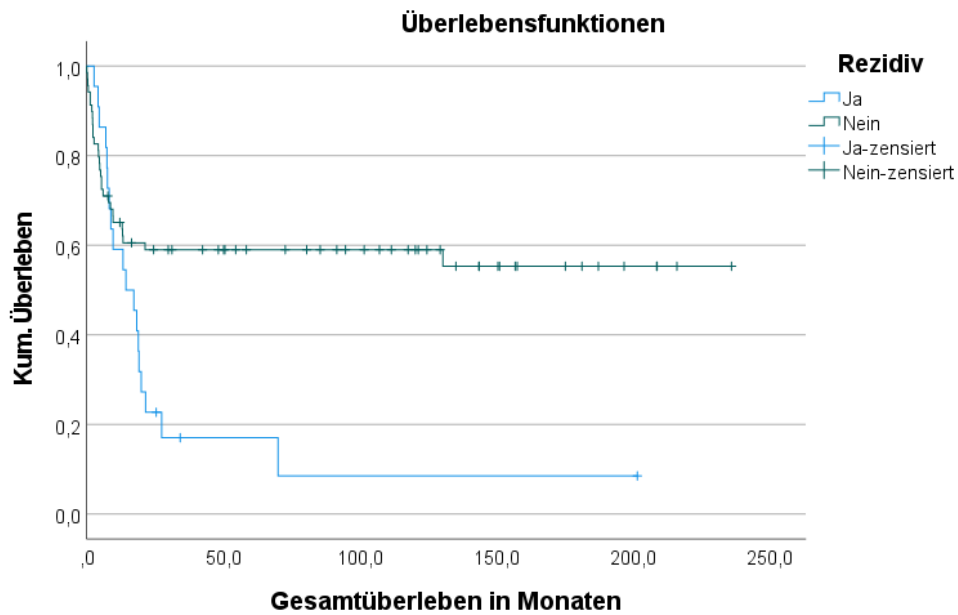
* KM=Knochenmark, PBSC=Periphere Blutstammzellen

** Aufgrund der niedrigen Fallzahl wurde Nabelschnurblut hier aus der statistischen Analyse ausgeschlossen.

Abbildung 13: Kaplan-Meier Kurve zum Gesamtüberleben nach dem Parameter Stammzellquelle

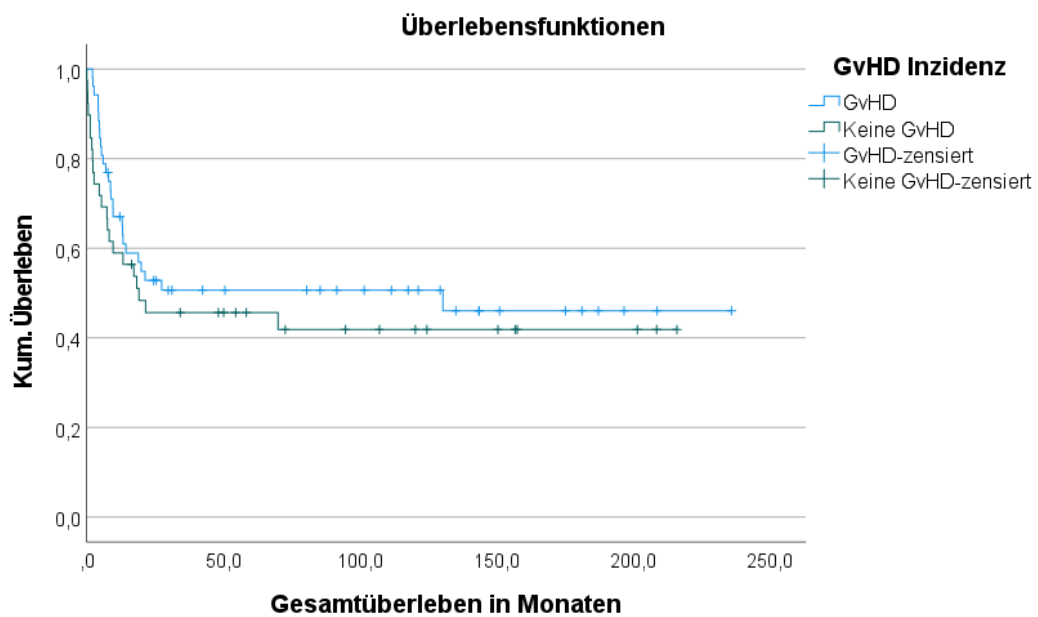
Das Auftreten eines Rezidivs nach HSZT war assoziiert mit einer deutlich niedrigeren Überlebensrate: bei Patient:innen mit Rezidiv betrug die 3-Jahres-Überlebensrate 8,5%, während sie bei Patient:innen ohne Rezidiv bei 57,8% lag ($p=0,007$; log-rank; Abbildung 14).

Mit einer 3-Jahres-Überlebensrate von 41,9% bei Patienten und Patientinnen ohne und 46,0% bei jenen mit GvHD nach Transplantation zeigte sich auch beim Parameter GvHD Inzidenz kein signifikanter Unterschied ($p=0,382$; log-rank) im Gesamtüberleben (Abbildung 15). Nach drei Jahren waren 17 Patient:innen (44,0%), die keine GvHD entwickelten, bezüglich ihrer Grundkrankheit in Remission. Bei Patient:innen, die eine GvHD entwickelten, war der Anteil derer, die bezüglich ihrer Grundkrankheit in Remission waren, mit 48,5% nur unwesentlich höher ($p=0,145$; log-rank; Abbildung 16).



p=0,007; log-rank

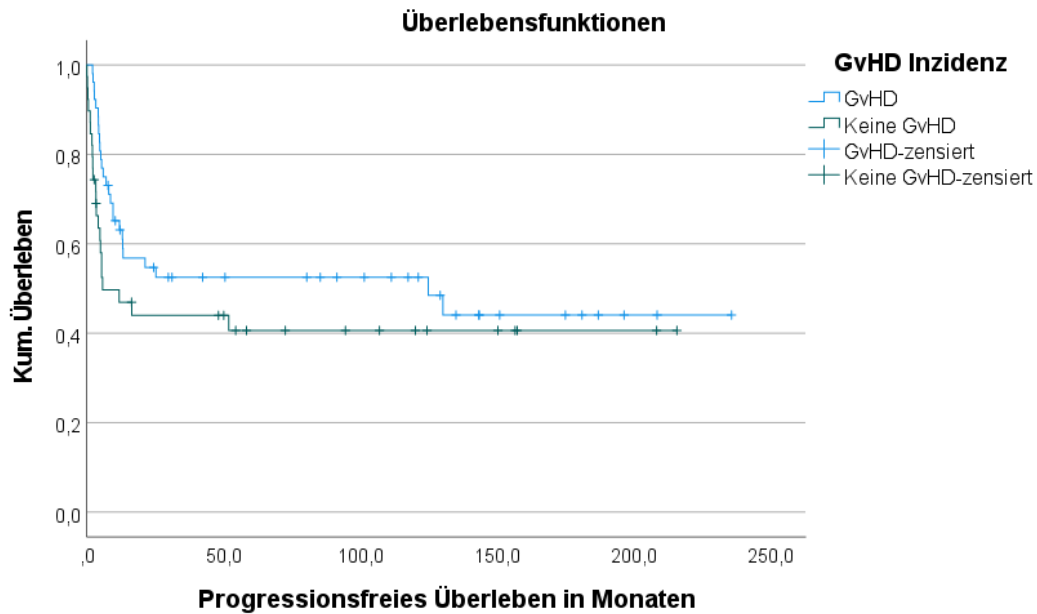
Abbildung 14: Kaplan-Meier Kurve zum Gesamtüberleben nach dem Parameter Rezidiv-Status nach Transplantation



p=0,382; log-rank

*GvHD=Graft-versus-Host Erkrankung

Abbildung 15: Kaplan-Meier Kurve zum Gesamtüberleben nach dem Parameter GvHD Inzidenz



p=0,145; log-rank

*GvHD=Graft-versus-Host Erkrankung

Abbildung 16: Kaplan-Meier Kurve zum progressionsfreien Überleben nach dem Parameter GvHD Inzidenz

Es ließ sich kein signifikanter Unterschied in der Inzidenz einer aGvHD und der Gabe von ATG/OKT3 Gabe nachweisen ($p=0,537$, Chi-Quadrat Test). Während Patient:innen ohne ATG/OKT3 im Rahmen der Konditionierung in 53,8% der Fälle eine aGvHD entwickelten, manifestierte sich diese auch in 61,4% der Fälle mit ATG/OKT3 (Tabelle 12).

ATG/OKT3	GvHD	Keine GvHD	
Ja	N=27 (61,4%)	N=17 (38,6%)	N=44
Nein	N=14 (53,8%)	N=12 (46,2%)	N=26
	N= 41	N= 29	N=70

p=0,537

Tabelle 12: Chi-Quadrat Test nach Pearson zu den Parametern GvHD Inzidenz und ATG/OKT3 Gabe

5.3.2 Cox-Regressionsanalyse

In der multivariaten Analyse aller getesteten Parameter lag nur der Faktor „Remissionsstatus vor Stammzelltransplantation“ über dem Signifikanzniveau ($p=0,02$; HR 0,4; 95% KI 0,18-0,88). Bei allen anderen Faktoren konnte kein signifikanter Unterschied im Überleben nachgewiesen werden (Tabelle 13).

Gesamtüberleben	N=89 ¹	HR	95% KI	p-Wert
Alter bei Transplantation				
≥10 Jahre	N=47	Referenz		
<10 Jahre	N=42	1,02	0,57-1,84	0,94
Diagnose				
Akute Lymphoblastische Leukämie	N=15	Referenz		
Akute Myeloische Leukämie	N=21	1,02	0,39-2,68	0,97
Akute Lymphoblastische Leukämie Rezidiv	N=22	0,80	0,29-2,2	0,66
Andere*	N=31	1,42	0,53-3,8	0,49
Stammzellquelle				
Peripheres Blut	N=32	Referenz		
Knochenmark	N=57	1,10	0,58-2,06	0,78
Remissionsstatus zum Transplantationszeitpunkt				
Nicht in Remission	N=39	Referenz		
In Remission	N=50	0,40	0,18-0,88	0,02

*Chronisch Myeloische Leukämie, Akute Myeloische Leukämie Rezidiv, Myelodysplastisches Syndrom, Juvenile Myelomonozytäre Leukämie, Lymphom Rezidiv, Doppelleukämie Akute Myeloische Leukämie/Akute Lymphoblastische Leukämie, Juvenile Myelomonozytäre Leukämie Rezidiv

Tabelle 13: Ergebnisse des Cox-Regressionsmodell bezogen auf das Gesamtüberleben.

¹ Zwei Patient:innen (N=1 Remissionsstatus nicht bekannt, N=1 Stammzellquelle Nabelschnurblut) wurden ausgeschlossen.

6 DISKUSSION

6.1 Beurteilung der Ergebnisse

6.1.1 *Allgemeine Prognosefaktoren*

6.1.1.1 Alter bei HSZT

In der multivariaten Analyse konnte kein signifikanter Unterschied im Überleben nach Altersgruppen nachgewiesen werden. In vergleichbaren Studien wurde das Alter als Risikofaktor mit einem signifikant besseren Outcome nach HSZT assoziiert. [41,42] Der lange Beobachtungszeitraum und die Heterogenität unseres Studienkollektivs könnten ursächlich für die unterschiedlichen Ergebnisse sein.

6.1.1.2 Diagnose bei HSZT

Die Grunderkrankungen unseres Kollektivs spiegeln die allgemeinen Indikationen der HSZT in der pädiatrischen Hämato-Onkologie wider. [6,41] Wie in einer vergleichbaren Fallserie waren die AML und die Hochrisikogruppen der ALL sowie Rezidive dieser Erkrankungen auch in diesem Studienkollektiv die häufigsten Indikationen für eine HSZT. [43]

In den statistischen Analysen zum Gesamtüberleben ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen hämatologischen Grunderkrankungen. Dieser Unterschied ist durch das biologische Verhalten der Erkrankung sowie das Ansprechen begründet. In der multivariaten Analyse war der signifikante Effekt nicht mehr zu beobachten. Neben der statistischen Methodik könnte der Einfluss der Grunderkrankung durch die geringen Fallzahlen in den Subgruppen maskiert worden sein.

Zusätzlich hatte auch der Zeitpunkt der Transplantation einen Einfluss auf die Transplantationsprävalenz einzelner Entitäten: so wurden beispielsweise acht von neun Patient:innen mit CML noch vor der Markteinführung des Tyrosinkinaseinhibitors Imatinib 2003 transplantiert. Durch die Verfügbarkeit von Imatinib kam es zu einer signifikanten Verbesserung des Outcomes von Patient:innen mit CML, weshalb die HSZT als primäre Behandlungsmodalität bei dieser Erkrankung an Bedeutung verloren hat. [44] Die Überlebensrate unseres Kollektivs ist demnach mit 28,8 % deutlich niedriger als in aktuellen Studien berichtet, was unter anderem auf den langen Beobachtungszeitraum und die mittlerweile fortgeschrittenen Therapie- und Supportivmaßnahmen zurückgeführt werden kann. [44,45]

6.1.1.3 Remissionsstatus zum Zeitpunkt der HSZT

Der Remissionsstatus vor HSZT erwies sich sowohl in den univariaten als auch multivariaten Analysen als signifikanter Prognoseparameter. Das Vorliegen einer kompletten Remission vor HSZT war mit einem deutlich besseren Gesamtüberleben verbunden. Diese Beobachtung wird in zahlreichen Studien bestätigt. So beschreiben Merli et al. [46] das Vorliegen einer Remission als den stärksten prognostischen Faktor bei ALL im Kindesalter. Die Relevanz des Parameters wird auch durch die Implementierung eines „Transplant-related-Mortality risk score“, der zur Einschätzung der Mortalität nach HSZT dienen soll und auch in Vergleichsstudien angewendet wurde, ersichtlich. [42] Die Berechnung dieses Scores erfolgte aus den Parametern Alter, Spender:innentyp und Remissionsstatus vor Transplantation, wobei für jeden Parameter 0 oder 1 Punkt vergeben werden können, der Gesamtscore reicht damit von 0 bis 3 Punkte. Der Parameter Remissionsstatus wurde unterteilt in komplette Remission vor HSZT bei Akuten Leukämien bzw. stabile Phase bei Chronischen Leukämien (0 Punkte) und keine Remission oder mehr als zwei komplette Remissionen bei Akuten Leukämien bzw. akute Phase bei Chronischen Leukämien (1 Punkt). Ein Score von 0 Punkte korreliert mit einer niedrigen transplantationsassoziierten Mortalität und einem hohen Gesamtüberleben. [42,47]

In unserer Studie befanden sich 39 Patient:innen zum Zeitpunkt der letzten Remissionsbeurteilung vor HSZT nicht in Remission. Bei 27 Patient:innen wurde jedoch zwischen Remissionsbeurteilung und HSZT eine weitere Therapie initiiert, ohne dass eine neuerliche Beurteilung des Remissionsstatus erfolgte. Die Gründe dafür sind retrospektiv nicht erhebbar. Es konnte bei zehn von 39 Patient:innen (25,6%), die vor HSZT nicht in Remission waren, durch diese eine langfristige Remission erzielt werden. In sieben von zehn Fällen wurde zwischen Bestimmung des Remissionsstatus und HSZT jedoch wie oben beschrieben noch eine zytostatische Therapie initiiert, weshalb dies eine mögliche Remission vor HSZT, die nicht mehr bestätigt wurde, nahelegt. In den anderen drei Fällen konnte tatsächlich bei bestätigtem Rezidiv vor HSZT eine langfristige Remission erreicht werden. Die Patient:innen unterschieden sich jedoch in keinem Parameter (unterschiedliches Alter, unterschiedliche Krankheitsentitäten, Stammzellquellen, Spender:innen, Konditionierungstherapien, GvHD-Inzidenz und Ausprägung). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass es neben dem Remissionsstatus vor HSZT und den oben genannten Faktoren noch andere Prognoseparameter geben muss.

6.1.1.4 Behandlungsdekade

Das Gesamtüberleben war abhängig von der Behandlungsdekade. Patient:innen, die vor 2000 transplantiert wurden, hatten insgesamt eine deutlich schlechtere Überlebensrate als Patient:innen, die danach einer HSZT unterzogen wurden. Svenberg et al. [48] beobachtete ebenfalls einer Verbesserung des Gesamtüberlebens über die letzten Jahrzehnte. Dies wurde auf mehrere Faktoren zurückgeführt. Zum einen trägt die verbesserte Risikostratifikation und Supportivtherapie zu einem verbesserten Überleben bei. Zum anderen kommen auch methodische Erkenntnisse wie beispielsweise eine zunehmend exaktere HLA-Typisierung und damit eine höhere Übereinstimmung von HLA-Merkmalen den Patient:innen zugute. Interessanterweise war die 3-Jahres Überlebensrate der Patient:innengruppe von 2001-2010 höher als jene von 2011-2018. Der Grund liegt unter anderem in der höheren Rezidivrate der unterschiedlichen Grunderkrankungen. Von 2001-2010 kam es nur bei zwei von 33 Patient:innen (6,1%) zu einem Wiederauftreten der Erkrankung; von 2011-2018 entwickelte hingegen knapp eine Drittel (32,0%) ein Rezidiv, an dem sieben von acht der Betroffenen verstarben. Von 2011-2018 wurden auch mehr Infektionen mit letalem Ausgang (N=4/25, 16%) beobachtet als von 2000-2010 (N=3/33, 9,1%).

6.1.1.5 Konditionierungstherapie

Die Heterogenität der verwendeten Konditionierungsschemata bildet die Entwicklung der HSZT der letzten Jahrzehnte ab. [29,38] 1994 wurde OKT3, 1997 ATG an der Grazer Kinderklinik implementiert. Vor allem ATG war fixer Bestandteil der Konditionierungstherapie. Insgesamt wurde in 48,4% der Fälle des Gesamtkollektives ATG/OKT3 verabreicht, wobei der Anteil der mit ATG/OKT3 behandelten Patient:innen nach 1994 bei 69,2% lag. Die Verwendung dieser beiden Medikamente hat die Inzidenz einer aGvHD drastisch reduziert. [38] In unserer Studie gab es allerdings keinen signifikanten Unterschied in der Entwicklung einer aGvHD im Vergleich der Gruppen mit/ohne ATG/OKT3. Aufgrund der lückenhaften Dokumentation und Erfassung der GvHD können diese Ergebnisse jedoch nicht verallgemeinert werden.

6.1.1.6 Infektionen nach Transplantation

Bei 56% der Patient:innen wurde in der Post-Transplantationsphase eine Infektion diagnostiziert. In 17,6% der Fälle war diese für den letalen Ausgang zumindest mitverantwortlich. Je nach Studiendesign wird die Inzidenz einer Infektion nach HSZT in der Literatur unterschiedlich angegeben. Pinto et al. [49] berichten in einer retrospektiven

Datenanalyse eine generelle Infektionsinzidenz von 83% in den ersten 100 Tagen nach HSZT, während bei Lin et. al [50] die Inzidenz bei 93,1% (PBSCT) bzw. 75,5% (KMT) lag. Das Auftreten von Infektionen in der publizierten Literatur ist dabei unter anderem abhängig vom Studiendesign, der Grunderkrankung und der Therapiephase [51]. Dies erklärt die diskrepanten Inzidenzen in den einzelnen Studien und unserer Kohorte. Die Diskrepanzen lassen sich zum Teil auch durch die variable Erregerdiagnostik erklären. Aufgrund des Studiendesigns könnten einige Infektionen in unserer Studie nicht erfasst worden sein. Im Laufe des Beobachtungszeitraums änderte sich die Screening-Strategie für Infektionen. So führten die im Verlauf etablierten Screening-Untersuchungen auf Viren inklusive CMV oder HHV6 zu einer erhöhten Nachweisrate an Infektionen in diesen Zeiträumen.

6.1.2 Todesursache

Rund die Hälfte der transplantierten Kinder und Jugendlichen waren zum Zeitpunkt der Datenerhebung verstorben. In der Vergleichsstudie aus 2018 von Zaucha-Prazmo et al. [47] betrug die Überlebensrate 72,6%. Dieser Unterschied in den Ergebnissen lässt sich zum einen durch den langen Beobachtungszeitraum unserer Studie erklären. Die Überlebensraten in der ersten Behandlungsdekade unserer Kohorte waren deutlich niedriger; viele Kinder und Jugendliche verstarben an transplantations-assoziierten Komplikationen. Aufgrund von Verbesserungen der Supportivmaßnahmen und der GvHD-Behandlung stieg die 3-Jahres-Überlebensrate in den Jahren 2001-2010 auf 61,5%.

Insgesamt ließ sich fast die Hälfte (43,5%) aller Todesursachen auf ein Rezidiv der malignen Erkrankung zurückführen. Somit stellt das Auftreten eines Rezidivs einen wesentlichen Prognosefaktor in unserer statischen Analyse dar. Das Gesamtüberleben unserer Subgruppe mit Rezidiv war erheblich schlechter, auch vergleichbare Studien bestätigen, dass die Entwicklung eines Rezidivs signifikant mit einem schlechteren Gesamtüberleben einhergeht. [52] Etwa ein Viertel unserer Patient:innen entwickelte ein Rezidiv, wobei bei 6,6% des Gesamtkollektivs das Rezidiv bereits vor HSZT manifest war. Eine ähnliche Rückfallquote findet sich in publizierten Fallserien. [47]

Todesfälle ohne manifestes Rezidiv waren vor allem durch die Folgen einer GvHD und/oder durch Infektionen im Rahmen der Immuninkompetenz beziehungsweise bei einem Graft-Versagen bedingt. In vielen Fällen war jedoch der letale Ausgang multifaktoriell.

6.1.3 Stammzellverfahren

6.1.3.1 Spender:in und HLA-Übereinstimmung

Als Spender:innen dienten HLA-identen Geschwisterkinder (44,0%) oder HLA-identen Fremdspender:innen (45,1%). In 90,1% der Fälle bestand ein kompletter HLA-Match. Verglichen mit den Daten anderer Studien, waren in unserem Kollektiv Spender:innen häufiger HLA-ident. [53,54] Dies könnte unter anderem auf die Fortschritte in der HLA-Typisierung zurückgeführt werden. In den Jahren der Low-Resolution HLA-Typisierung wurde aufgrund niedrigerer Anzahl an bestimmten Genloci häufiger von HLA-Übereinstimmungen ausgegangen. Diese Hypothese stützt sich auf die Ergebnisse einer retrospektiven Studie von Harvey et al. [53] In dieser wurde das Überleben von Kindern mit ALL nach Einführung der High-Resolution HLA-Typisierung untersucht. Dabei zeigte sich, dass bei Verwendung der Low-Resolution HLA-Typisierung in 58% der Paare in den Genloci HLA-A, -B, -C und -DR eine Übereinstimmung gefunden werden konnte. Bei Anwendung der High-resolution Typisierung fanden sich allerdings in 34% der zuvor übereinstimmenden Paare zumindest ein Mismatch. Analog zu diesen Ergebnissen wurde die Anzahl der HLA-identen Spender:innen in unserer Studie möglicherweise überschätzt. In den Anfangsjahren der HSZT an der Klinischen Abteilung für pädiatrische Hämato-Onkologie Graz dienten vor allem Geschwisterkinder als Spender:innen. Durch die Anwendung der Low-Resolution HLA-Typisierung dürften damals einige Geschwisterkinder als HLA-ident interpretiert worden sein, die bei einer genaueren Genloci Bestimmung Diskrepanzen in den HLA-Allelen gezeigt hätten.

6.1.3.2 Stammzellquelle

In 63,7% der Fälle wurden Stammzellen aus dem Knochenmark und in 35,2% der Fälle periphere Blutstammzellen verwendet. In der statistischen Analyse konnte kein signifikanter Unterschied in der Wahl der Stammzellspende in Bezug auf das Gesamtüberleben nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit publizierten Daten. [47,50,55]

6.1.3.3 Stammzellmanipulation

An der Grazer Kinderklinik wurden ab 1997 Stammzellmanipulationsverfahren routinemäßig im Rahmen der pädiatrischen allo-HSZT etabliert. Über den gesamten Beobachtungszeitraum wurde etwa ein Drittel (N=27/91, 29,7%) der Stammzellgrafts manipuliert. Durch die Manipulation soll der Gehalt an T-Zellen im Stammzellgraft, welchen in der Entwicklung der aGvHD eine relevante Rolle zukommt, vermindert werden. [32] Während durch die T-Zell-

Depletion unter anderem die Inzidenzrate einer GvHD positiv beeinflusst werden soll, soll durch die CD34+ Selektion auch die Zeit bis zum hämatopoetischen Engraftment verkürzt werden. [26] Die technische Entwicklung spiegelt sich in der Heterogenität der verschiedenen Manipulationskombinationen unseres Studienkollektivs wider. Als erstes Manipulationsverfahren diente die CD34+ Selektion. Ab 2005 etablierte sich dann die CD3/CD19-Depletion. Ab dem Jahr 2012 wurde dann die CD3+ TCR Alpha-/Beta CD19+ Depletion implementiert, oft in Kombination mit einer CD34+ Selektion, um die Dauer der Knochenmarkplasia so kurz wie möglich zu halten. Dabei wurden fast alle Stammzellen aus dem peripheren Blut vor Verabreichung manipuliert, nur in sechs von 32 Fällen erfolgte vor Transplantation keine Verarbeitung.

6.1.4 *Graft-versus-Host Erkrankung*

6.1.4.1 Inzidenz

Die Inzidenz von aGvHD und cGvHD liegt zwischen 20% und 70%. [34,56,57] Der Schweregrad einer GvHD kann nach der Minnesota Graduierung oder der International Bone Marrow Transplant Register (IBMTR) Klassifikation eingeteilt werden. Dabei zeigen sich oft stark voneinander abweichende Inzidenzraten (einer aGvHD) von 13% (Minnesota) beziehungsweise 43% (IBMTR). Dies verdeutlicht die Schwierigkeit, die Inzidenz einer GvHD zwischen verschiedenen Studienkollektiven zu vergleichen. [34,57]

6.1.4.2 Prophylaxe und Therapie

Prophylaxe und Therapie einer GvHD erfolgen nach den Vorgaben der jeweils aktuellen Therapieoptimierungsstudie, sowie nach den Empfehlungen der Arbeitsgruppen der „European Society for Blood and Marrow Transplantation“ [39], wobei sich im Allgemeinen Cyclosporin A (CyA) als Standardprophylaxe bei allogenen Transplantationen etabliert hat. Steroide gelten seit jeher als Erstlinientherapie der GvHD. Es fehlt allerdings ein allgemein etablierter Konsens zur Zweitlinientherapie. [39] Dementsprechend variabel sind auch die Ergebnisse unserer Studie in Bezug auf Therapiemodalitäten bei therapierefraktärer GvHD.

6.1.4.3 Einfluss auf das Gesamtüberleben und GvL-Effekt

In mehreren Studien wurde das Auftreten einer GvHD als einflussreicher, negativer Faktor auf Morbidität und Mortalität identifiziert. [39,57,58] In unserer Studie hatte eine GvHD keinen Einfluss auf das Gesamtüberleben. Es fand sich kein signifikanter Unterschied im progressionsfreien Überleben hinsichtlich des Auftretens einer GvHD. In mehreren

Referenzstudien wird hingegen ein signifikanter GvL-Effekt bei ALL und AML beschrieben. [59-61] In diesen Studien war eine GvHD mit einer geringeren Rezidivrate assoziiert; aufgrund einer erhöhten nicht-Rezidiv-assoziierten Mortalität vor allem bei Patient:innen mit höhergradiger akuter und/oder chronischer GvHD konnte jedoch kein positiver Einfluss auf das Gesamtüberleben beobachtet werden. Diese Ergebnisse könnten zum einen auf das heterogene Studienkollektiv und die geringen Fallzahlen, und zum anderen auf die lückenhafte, nicht standardisierte Erhebung und Dokumentation der GvHD zurückzuführen sein. Aufgrund der in den Anfangsjahren der Studie hohen transplantationsassoziierten Mortalität könnte der Einfluss der GvHD auf das Gesamtüberleben auch zum Teil maskiert worden sein.

6.2 Wertigkeit und Limitationen der Studie

Die Aussagekraft retrospektiver Studien ist nur eingeschränkt zu verallgemeinern, allerdings ist aufgrund der niedrigen Fallzahlen eine prospektive Studie zur Beantwortung der Studienhypothesen nicht möglich. Durch das retrospektive Studiendesign und den langen Beobachtungszeitraum sind potentielle Fehler wahrscheinlich, zumal die Dokumentation der erhobenen Daten über die Zeitspanne nicht einheitlich durchgeführt wurde. Durch die individuelle, teilweise nur in Papierform vorliegende Dokumentation, konnten einzelne Parameter nicht oder nur teilweise rekonstruiert werden. Daher fand sich zum Teil eine deutliche Variabilität im Dokumentationsumfang je nach Untersucher:in und Behandlungszeitpunkt. Diesbezüglich hätte eine konsequente und einheitliche Dokumentation und eine standardisierte Klassifizierung von Transplantationsfolgen wie Infektionen oder GvHD zu einer Qualitätssteigerung der erhobenen Daten beigetragen. Im Verlauf des Beobachtungszeitraums veränderten sich außerdem die Möglichkeiten der Diagnostik und Therapie inklusive nicht erhobener Supportivmaßnahmen, weshalb die Ergebnisse durch diesen zeitlichen und methodischen Bias kritisch zu sehen sind. Eine weitere Einschränkung stellte der unterschiedlich lange Nachbeobachtungszeitraum dar. Als Endpunkt der Beobachtung diente in allen Fällen der letzte ambulante oder stationäre Aufenthalt an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde, dieser war bei Patient:innen, die nach 2010 transplantiert wurden, viel näher am Transplantationszeitpunkt als bei Patient:innen, die davor einer Transplantation unterzogen wurden. Etwaige später auftretende transplantationsassoziierte Komplikationen könnten so in der Gruppe der letzten Behandlungsdekade noch nicht erfasst worden sein. Durch die Wahl der Parameter, wie beispielsweise der Bestimmung der 3-Jahres Überlebensraten, wurde versucht, diesen methodischen Effekt teilweise auszugleichen.

6.3 Conclusio

Die allogene HSZT hat sich in den letzten Jahrzehnten zu einer wichtigen Therapiemodalität bei Kindern und Jugendlichen mit malignen hämatologischen Erkrankungen entwickelt. Durch Verbesserungen von Faktoren wie der Spender:innenverfügbarkeit, Transplantationstechniken oder GvHD-Supportivtherapien konnten die Überlebensraten von Patient:innen deutlich gesteigert werden. Auch in dieser Studie wurde eine höhere Überlebensrate in den Jahren nach 2000 im Vergleich zu den Raten vor 2000 beobachtet. In der multivariaten Analyse war lediglich der Parameter Remissionsstatus zum Zeitpunkt der HSZT mit einem signifikant besseren Outcome assoziiert. Das Auftreten eines Rezidivs hingegen ging wie erwartet mit signifikant niedrigeren Überlebensraten einher. Diese Ergebnisse fügen sich insgesamt gut in das Bild vergleichbarer Studien aus Europa, Kanada und den USA ein.

Aufgrund der lückenhaften, nicht standardisierten Dokumentation der GvHD und ihrer assoziierten Parameter war eine Erfassung schwierig. Statistische Auswertungen mit diesen Faktoren könnten dadurch teilweise verzerrt worden sein. So konnte in der vorliegenden Studie kein Einfluss einer GvHD auf das progressionsfreie und Gesamtüberleben nachgewiesen und damit der bei HSZT von malignen Erkrankungen erwünschte GvL-Effekt nicht beobachtet werden, obwohl dieser in der publizierten Literatur oft signifikant war. Generell traten Schwierigkeiten beim Vergleich internationaler Studien auf, da sich viele in ihrer Methodik der GvHD Erfassung unterschieden. Die Einführung einer weltweit standardisierten Erfassung der GvHD wäre für eine aussagekräftige und vergleichbare Untersuchung der GvHD und der mit ihr korrelierenden Parameter als prognostische Faktoren in Zukunft sicher von Vorteil.

7 LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Tallen G, Grüneberg I. Überblick Pädiatrische Onkologie und Vorstellung nationaler/internationaler Fachgesellschaften und Organisationen. https://www.gpoh.de/kinderkrebsinfo/content/fachinformationen/paediatrische_onkologie/index_ger.html. (2021; Accessed 05.04.2022).
- [2] STATISTIK AUSTRIA. Krebs bei Kindern und Jugendlichen. http://www.statistik.at/web_de/statistiken/menschen_und_gesellschaft/gesundheit/krebserkrankungen/krebs_bei_kindern-und_jugendlichen/index.html. (2021; Accessed 05.04.2022).
- [3] Huber HM, Heiden M, Seitz R. Hämatopoetische Stammzellen. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. Berlin, Heidelberg: Springer. 1999; S. 105-112.
- [4] Graf N. Transplantation hämatopoetischer Stammzellen. In: Gortner L, Meyer S. Duale Reihe Pädiatrie. 5., vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag. 2018; S. 537-539.
- [5] Zentrales Knochenmarkspender-Register Deutschland. Knochenmark- und Blutstammzellspende. <https://www.zkrd.de/knochenmark-blutstammzellspende/>. (2021; Accessed 03.07.2022).
- [6] Duarte RF, Labopin M, Bader P, et al. Indications for haematopoietic stem cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2019. Bone Marrow Transplant. 2019; 54: S. 1525-1552.
- [7] Singh AK, McGuirk JP. Allogeneic Stem Cell Transplantation: A Historical and Scientific Overview. Cancer Res. 2016; 76: S. 6445-6451.
- [8] Bader P. Transplantation hämatopoetischer Stammzellen bei Kindern und Jugendlichen. https://www.springermedizin.de/emedpedia/paediatrie/transplantation-haematopoetischer-stammzellen-bei-kindern-und-jugendlichen?epediaDoi=10.1007%2F978-3-642-54671-6_228. (2022; Accessed 03.07.2022).
- [9] Barriga F, Ramírez P, Wietstruck A, et al. Hematopoietic stem cell transplantation: clinical use and perspectives. Biol Res. 2012; 45: S. 307-316.
- [10] Kessinger A, Armitage J, Landmark JD, et al. Autologous Peripheral Hematopoietic Stem Cell Transplantation Restores Hematopoietic Function Following Marrow Ablative Therapy. Blood. 1988; 71: S. 723-727.
- [11] Scheffold C, Berdel WE, Kienast J. Hochdosistherapie und Stammzelltransplantation. In: Hiddemann W, Huber H, Bartram CR. Die Onkologie. 1. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer; 2004. S. 536-556.
- [12] Butturini A, Bortin MM, Gale RP. Graft-versus-leukemia following bone marrow transplantation. Bone Marrow Transplant. 1987; 2: S. 233-242.

- [13] Zajac-Spychala O, Kampmeier S, Lehrnbecher T, et al. Infectious Complications in Paediatric Haematopoietic Cell Transplantation for Acute Lymphoblastic Leukemia: Current Status. *Frontiers in pediatrics*. 2022; 9: Article 782530
- [14] Copelan EA. Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *N Engl J Med*. 2006; 354: S. 1813-1826.
- [15] Yoshimi A, Kojima S, Hirano N. Juvenile Myelomonocytic Leukemia. *Pediatric Drugs*. 2010; 12: S. 11-21.
- [16] Petersdorf EW. Optimal HLA matching in hematopoietic cell transplantation. *Curr Opin Immunol*. 2008; 20: S. 588-593.
- [17] Klingebiel T. Knochenmark- und Stammzelltransplantation. In: Gutjahr P, Calaminus G, Bode U. *Krebs bei Kindern und Jugendlichen. Klinik und Praxis der pädiatrischen Onkologie*. 5. Auflage. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag. 2004; S. 83-94.
- [18] Zheng X, Tian Z. Which is better, HLA-matched sibling or haploidentical transplantation? *Cellular & Molecular Immunology*. 2021; 18: S. 1347-1347.
- [19] Thomas ED, Lochte HL, Lu WC, et al. Intravenous Infusion of Bone Marrow in Patients Receiving Radiation and Chemotherapy. *N Engl J Med*. 1957; 257: S. 491-496.
- [20] Thomas ED, Lochte HL, Jr., Cannon JH, et al. SUPRALETHAL WHOLE BODY IRRADIATION AND ISOLOGOUS MARROW TRANSPLANTATION IN MAN. *J Clin Invest*. 1959; 38: S. 1709-1716.
- [21] Storek J, Dawson MA, Storer B, et al. Immune reconstitution after allogeneic marrow transplantation compared with blood stem cell transplantation. *Blood*. 2001; 97: S: 3380-3389.
- [22] Gluckman E, Broxmeyer HE, Auerbach AD, et al. Hematopoietic Reconstitution in a Patient with Fanconi's Anemia by Means of Umbilical-Cord Blood from an HLA-Identical Sibling. *N Engl J Med*. 1989; 321: S. 1174-1178.
- [23] Tse W, Laughlin MJ. Umbilical Cord Blood Transplantation: A New Alternative Option. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2005; 2005: S. 377-383.
- [24] Haspel RL, Ballen KK. Double cord blood transplants: filling a niche? *Stem Cell Rev*. 2006; 2: S. 6.
- [25] Hashem H, Lazarus HM. Double Umbilical Cord Blood Transplantation: Relevance of Persistent Mixed-Unit Chimerism. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2015; 21: S: 612-619.
- [26] Schwinger W, Weber-Mzell D, Zois B, et al. Immune reconstitution after purified autologous and allogeneic blood stem cell transplantation compared with unmanipulated bone marrow transplantation in children. *Br J Haematol*. 2006; 135: S. 76-84.

- [27] Miltenyi Biotec. Magnetic cell separation. <https://www.miltenyibiotec.com/US-en/resources/mac-handbook/mac-technologies/cell-separation/magnetic-cell-separation.html>. (2022; Accessed 04.07.2022).
- [28] Avecilla ST, Goss C, Bleau S, et al. How do I perform hematopoietic progenitor cell selection? *Transfusion*. 2016; 56: S. 1008-1012.
- [29] Kröger N, Burchert A, Niederwieser D, et al. Konditionierung. LEITLINIEN zur allogenen Stammzelltransplantation von der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation (DAG-KBT) 2016. S. 1-4.
- [30] Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, et al. Defining the Intensity of Conditioning Regimens: Working Definitions. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2009; 15: S. 1628-1633.
- [31] Storb R. HSCT: Historical Perspective. In: Carreras E, Dufour C, Mohty M, et al. *The EBMT Handbook. Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies*. Cham: Springer Nature Switzerland AG. 2019; S. 7.
- [32] Ferrara JLM, Levine JE, Reddy P, et al. Graft-versus-host disease. *The Lancet*. 2009; 373: S. 1550-1561.
- [33] Zeiser R, Dreger P, Finke J, et al. GvHD-Prophylaxe und Therapie. LEITLINIEN zur allogenen Stammzelltransplantation von der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation (DAG-KBT) 2016. S: 1-21.
- [34] Baird K, Cooke K, Schultz KR. Chronic Graft-Versus-Host Disease (GVHD) in Children. *Pediatr Clin North Am*. 2010; 57: S. 297-322.
- [35] Porter DL, Roth MS, McGarigle C, et al. Induction of Graft-versus-Host Disease as Immunotherapy for Relapsed Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 1994; 330: S. 100-106.
- [36] Miklos DB, Kim HT, Miller KH, et al. Antibody responses to H-Y minor histocompatibility antigens correlate with chronic graft-versus-host disease and disease remission. *Blood*. 2005; 105: S. 2973-2978.
- [37] Kuzmina Z, Greinix HT, Weigl R, et al. Significant differences in B-cell subpopulations characterize patients with chronic graft-versus-host disease-associated dysgammaglobulinemia. *Blood*. 2011; 117: S. 2265-2274.
- [38] Valcárcel D, Martino R. Reduced intensity conditioning for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in myelodysplastic syndromes and acute myelogenous leukemia. *Curr Opin Oncol*. 2007; S. 19.
- [39] Penack O, Marchetti M, Ruutu T, et al. Prophylaxis and management of graft versus host disease after stem-cell transplantation for haematological malignancies: updated consensus recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *The Lancet Haematology*. 2020; 7: S. 157-167.

- [40] Ardura MI. Overview of Infections Complicating Pediatric Hematopoietic Cell Transplantation. *Infect Dis Clin North Am.* 2018; 32: S. 237-252.
- [41] Ljungman P, Bregni M, Brune M, et al. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe 2009. *Bone Marrow Transplan.* 2010; 45: S. 219-234.
- [42] Matthes-Martin S, Pötschger U, Bergmann K, et al. Risk-Adjusted Outcome Measurement in Pediatric Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* 2008; 14: S. 335-343.
- [43] Shimosato Y, Tanoshima R, Tsujimoto S, et al. Allogeneic Bone Marrow Transplantation versus Peripheral Blood Stem Cell Transplantation for Hematologic Malignancies in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* 2020; 26: S. 88-93.
- [44] Hochhaus A, Larson RA, Guilhot F, et al. Long-Term Outcomes of Imatinib Treatment for Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 2017; 376: S. 917-927.
- [45] Cortes J, Pavlovsky C, Sauße S. Chronic myeloid leukaemia. *The Lancet.* 2021 398: S. 1914-1926.
- [46] Merli P, Algeri M, Del Bufalo F, et al. Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Current Hematologic Malignancy Reports.* 2019; 14: S. 94-105.
- [47] Zaucha-Prazmo A, Gozdzik J, Debski R, et al. Transplant-related mortality and survival in children with malignancies treated with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. A multicenter analysis. *Pediatr Transplantation.* 2018; 22: S. 13158.
- [48] Svenberg P, Remberger M, Uzunel M, et al. Improved overall survival for pediatric patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation – A comparison of the last two decades. *Pediatr Transplantation.* 2016; 20: S. 667-674.
- [49] Pinto TdA, Jardim BA, Breda GL, et al. Infectious complications in pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients—A retrospective clinical and epidemiological cohort study. *Transpl Infect Dis.* 2020; 22: S. 13369.
- [50] Lin Y, Lairson DR, Chan W, et al. Children with acute leukemia: A comparison of outcomes from allogeneic blood stem cell and bone marrow transplantation. *Pediatr Blood Cancer.* 2011; 56: S. 143-151.
- [51] Lehrnbecher T, Averbuch D, Castagnola E, et al. 8th European Conference on Infections in Leukaemia: 2020 guidelines for the use of antibiotics in paediatric patients with cancer or post-haematopoietic cell transplantation. *The Lancet Oncology.* 2021; 22: S.270-280.
- [52] Yamamoto W, Ogusa E, Matsumoto K, et al. Predictive value of risk assessment scores in patients with hematologic malignancies undergoing reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation. *Am J Hematol.* 2014; 89: S. 138-141.

[53] Harvey J, Green A, Cornish J, et al. Improved survival in matched unrelated donor transplant for childhood ALL since the introduction of high-resolution matching at HLA class I and II. *Bone Marrow Transplant*. 2012; 47: S. 1294-1300.

[54] Peters C, Schrappe M, von Stackelberg A, et al. Stem-Cell Transplantation in Children With Acute Lymphoblastic Leukemia: A Prospective International Multicenter Trial Comparing Sibling Donors With Matched Unrelated Donors—The ALL-SCT-BFM-2003 Trial. *JCO*. 2015; 33: S. 1265-1274.

[55] Bittencourt H, Lopes M, de Macedo AV, et al. A retrospective comparison of allogeneic peripheral blood stem cell versus bone marrow transplantation. *Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy*. 2009; 2: S. 272-277.

[56] Martin PJ, McDonald GB, Sanders JE, et al. Increasingly frequent diagnosis of acute gastrointestinal graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2004; 10: S. 320-327.

[57] MacMillan ML, Weisdorf DJ, Wagner JE, et al. Response of 443 patients to steroids as primary therapy for acute graft-versus-host disease: Comparison of grading systems. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2002; 8: S. 387-394.

[58] Harris AC, Young R, Devine S, et al. International, Multicenter Standardization of Acute Graft-versus-Host Disease Clinical Data Collection: A Report from the Mount Sinai Acute GVHD International Consortium. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2016; 22: S. 4-10.

[59] Kato M, Kurata M, Kanda J, et al. Impact of graft-versus-host disease on relapse and survival after allogeneic stem cell transplantation for pediatric leukemia. *Bone Marrow Transplant*. 2019; 54: S. 68-75.

[60] Stern M, de Wreede LC, Brand R, et al. Sensitivity of hematological malignancies to graft-versus-host effects: an EBMT megafile analysis. *Leukemia*. 2014; 28: S. 2235-2240.

[61] Storb R, Gyurkocza B, Storer BE, et al. Graft-Versus-Host Disease and Graft-Versus-Tumor Effects After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *JCO*. 2013; 31: S. 1530-1538.