

Diplomarbeit

**Outcome nach CD3/19 TCR- α / β depletierter
hämatopoetischer Stammzelltransplantation bei Kindern
und Jugendlichen**

eingereicht von

Jana Sophia Rasp

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Dr.ⁱⁿ med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

Universitätsklinikum für Kinder- und Jugendheilkunde

Klinische Abteilung für pädiatrische Hämato-Onkologie

unter der Anleitung von

Univ. OÄ Priv.-Doz. Dr.ⁱⁿ med. univ. Daniela Sperl

OA Dr. med. univ. Thomas Perwein

Eidesstattliche Erklärung

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

Graz, am 06.06.2024

Jana Rasp eh.

Danksagungen

An erster Stelle möchte ich mich bei meiner Betreuerin Univ. OÄ Priv.-Doz. Dr.ⁱⁿ med. univ. Daniela Sperl bedanken, die bei Fragen und Anliegen stets erreichbar war und mir mit sehr viel Geduld, Rat und Tat beim Erstellen der Diplomarbeit zur Seite stand. Auch bedanke ich mich bei dem gesamten Team der PHO, die mich bei der Datenerfassung unterstützt hat.

Ein großer Dank gilt meinem Freund und all meinen FreundInnen, die mich auf dem Weg begleitet, unterstützt und motiviert haben.

Der größte Dank gilt meiner Familie, meinen beiden Schwestern und vor allem meinen Eltern, die stets an mich geglaubt haben, mich in schwierigen Phasen ermutigten und nicht zuletzt mich finanziell unterstützten und mir das Studium ermöglicht haben.

Zusammenfassung

In dieser Untersuchung wurden 23 Kinder und Jugendliche, die an der Universitätsklinik für Kinder und Jugendheilkunde Graz in den Jahren 2014-2019 eine periphere hämatopoietische Stammzelltransplantation (SZT) mit CD3/19 TCR $\alpha\beta$ Depletion erhielten, retrospektiv analysiert. Das Ziel dieser Studie war es, das Outcome und den Verlauf nach HSCT, v.a. im Hinblick auf die Immunrekonstitution und das Auftreten einer GvHD und Infektionen zu erfassen und eventuelle Einflussfaktoren auf den Post-Transplantationsverlauf dieser PatientInnen zu identifizieren.

Von den 13 Jungen und 10 Mädchen hatten 11 eine maligne und 12 eine benigne Erkrankung. Das mediane Alter bei Transplantation lag bei 9 Jahren (Spannweite 0,3-22 Jahre). Bei 11 PatientInnen mit Leukämien litten zwei an einer aktiven Erkrankung und 9 waren in Remission.

83% aller PatientInnen waren vorbehandelt, 21 wurden myeloablativ konditioniert und zwei mit Cyclophosphamid/ Fludarabin.

Zehn PatientInnen erhielten eine Stammzellspende von verwandten SpenderInnen (HLA-ident: n=22; haploident: n=1) und 13 erhielten ein Graft von FremdspenderInnen (Match: n=20; 2-Locus-Mismatch: n=1; 4-Locus-Mismatch: n=1).

Bei den SpenderInnen waren ebenfalls 13 männlich und 10 weiblich, geschlechtsident transplantiert wurden 6 männliche und drei weibliche EmpfängerInnen/ SpenderInnen, betreffend der Blutgruppen wurden nur 8 PatientInnen blutgruppengleich transplantiert.

12 der EmpfängerInnen hatten einen negativen Cytomegalievirus (CMV)-Status, 10 einen positiven* und bei einer EmpfängerIn war der CMV-Status unklar. Bei den SpenderInnen waren 12 CMV IgG negativ und 11 positiv*, 3 CMV negative EmpfängerInnen hatten eine(n) CMV IgG positive(n) SpenderIn. Bei vier ursprünglich CMV IgG positiven PatientInnen kam es zu einer CMV-Reaktivierung nach Transplantation, drei davon hatten eine(n) CMV IgG positive(n) SpenderIn. Weitere Infektionen/ Reaktivierungen waren verursacht durch Epstein-Barr-Virus (n=2), Varicella Zoster Virus (n=4) und Adenovirus (n=3).

Die Anzahl der transplantierten CD34⁺ Stammzellen im Graft betrug im Median $19,3 \times 10^6$ Zellen/kgKG, die der CD3⁺ Zellen $11,0 \times 10^6$ Zellen/kgKG. Die Anzahl der TCR $\alpha\beta$ Zellen im Graft betrug $5,7 \times 10^3$ Zellen/kgKG.

Im medianen Durchschnitt erhielten die EmpfängerInnen eine Immunsuppression über 56 Tage, zumeist Mycophenolat-Mofetil (n=22), zum Teil ergänzt durch Tacrolimus (n=1), Cyclosporin A (n=2) oder Methotrexat (n=2).

Die mediane Überlebenszeit in der untersuchten Gruppe betrug 3 Jahre. Vier Kinder verstarben an ihrer Grunderkrankung, je 69, 345, 444 und 550 Tage nach Transplantation. Das mediane krankheitsfreie Überleben (DFS) betrug 1100 Tage. Ein Transplantatversagen trat nicht auf, jedoch in fünf Fällen ein abnehmender Spenderchimärismus, der bei allen erfolgreich mittels Donorlymphozyten Infusionen (DLI) therapiert werden konnte.

Bei vier der 23 Transplantierten (17%) trat eine akute GvHD (Grad I-III) auf, die in zwei dieser Fälle in eine chronische Verlaufsform überging. Die medianen Zahlenwerte der CD3+ Zellen im Stammzellprodukt waren bei GvHD PatientInnen niedriger als bei Nicht-Betroffenen (8,9 vs 11,0 x 10⁶ Zellen/ kg KG). Die CD3+αβ+ Zellanzahl war dabei bei GvHD PatientInnen mit 3,8 vs 6,0 x 10³ Zellen/ kg KG ebenfalls niedriger, wie auch die CD3+γδ+ Zellen bei GvHD PatientInnen mit 3,3 x 10⁶ Zellen/ kg KG vs 12,1x 10⁶ Zellen/ kg KG niedriger waren.

Zusammenfassend bestätigen unsere Ergebnisse, dass die SZT mit αβ Depletion ein geringeres Risiko für graft failure zeigt, wie auch in internationalen Publikationen angeführt wird und die Rate an GvHD geringer ist. Wenn eine GvHD auftritt ist sie im Verlauf eher milde und gut auf die immunsuppressive Therapie ansprechbar.

Abstract

In this study, 23 children and adolescents who received a peripheral hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) with CD3/19 TCR $\alpha\beta$ depletion at the Childrens University Hospital, Medical University of Graz in the years 2014-2019 were retrospectively analyzed. The aim of this study was to describe the outcome and course after HSCT, especially with regard to immune reconstitution and the appearance of GvHD and infections and to identify any factors influencing the post transplant course of these patients.

Of the 13 boys and 10 girls, 11 had malignant and 12 benign diseases. The median age at transplantation was 9 years (Range 0,3-22 years). Of 11 patients with leukemia, two had active disease and 9 were in remission.

83% of all patients were pretreated, 21 received myeloablative conditioning and two received cyclophosphamide/ fludarabine based conditioning.

Ten patients received a stem cell donation from related donors (HLA-identical: n=22; haploidentical: n=1) and 13 received a graft from unrelated donors (match: n=20; 2-locus-mismatch: n=1; 4-locus-mismatch: n=1).

Among the donors, 13 were also male and 10 female, 6 male and 3 female recipients received gender identical transplants, among the blood types, only 8 received blood type matched transplants.

12 recipients had a negative cytomegalievirus (CMV) status, 10 had a positive* status and the CMV status of one was unclear. 12 of the donors were CMV IgG negative and 11 positive*, 3 CMV IgG negative patients had a CMV IgG positive donor. Four originally CMV IgG positive patients experienced CMV reactivation after transplantation, three of whom had a CMV positive* donor. Further infections/ reactivations were caused by Epstein-Barr virus (n=2) varicella zoster virus (n=4) and adenovirus (n=3).

The median number of transplanted CD34+ stem cells in the graft was $19,3 \times 10^6$ cells/kgBW (BW= body weight), while the number of CD3+ cells was $11,0 \times 10^6$ cells/kgBW. The number of TCR $\alpha\beta$ cells in the graft was $5,7 \times 10^3$ cells/kgBW.

On median, the recipients received immunosuppressive therapy for 56 days, mostly mycophenolate mofetil (n=22), partly supplemented by tacrolimus (n=1), cyclosporin A (n=2) or methotrexate (n=2).

The median survival time in the group was 3 years. Four children died because of their underlying diseases at 69, 345, 444 and 550 days after transplantation. The median disease

free survival was 1100 days. There was no graft failure, but in five cases there was decreasing donor chimerism, which was successfully treated in all cases by donor lymphocyte infusions.

Four of the 23 transplanted patients (17%) developed acute GvHD (grade I-III), which in two of these cases progressed to a chronic form. The median CD3⁺ cell counts in the graft were lower in GvHD patients than in non-affected patients (8,9 vs 11,0 x 10⁶ cells/kgBW). The CD3⁺αβ⁺ cells were also lower in GvHD patients with 3,8 vs 6,0 x 10³ cells/kgBW. The CD3⁺γδ⁺ cells were lower in GvHD patients with 3,3 x 10⁶ cells/kgBW vs 12,1x 10⁶ cells/kgBW.

In summary, our results confirm that SCT with αβ depletion shows a lower risk of graft failure, as it is also stated in international publications and the rate of GvHD is lower. When GvHD does appear, it tends to be mild and has a good response to immunosuppressive therapy.

Inhaltsverzeichnis

<i>Danksagungen</i>	1
<i>Zusammenfassung</i>	2
<i>Abstract</i>	4
<i>Inhaltsverzeichnis</i>	6
<i>Abkürzungen und deren Erklärung</i>	7
<i>Abbildungsverzeichnis</i>	9
<i>Tabellenverzeichnis</i>	10
1 Einleitung	11
1.1 Grundlagen-hämatopoetische Stammzelltransplantation	11
1.1.1 Entstehung und Überblick der Blutzellen	11
1.1.2 Lymphozyten	14
1.1.3 Arten der Stammzelltransplantation	21
1.1.4 Konditionierung.....	22
1.1.5 Graft-versus-Host-Disease.....	23
1.2 Stammzelltransplantationen in der Kinderklinik	28
1.2.1 Indikationen	28
1.2.2 Durchführung/ Ablauf der Transplantation	29
1.2.3 Komplikationen	30
2 Material und Methoden	34
3 Ergebnisse	36
4 Diskussion	56
<i>Literaturverzeichnis</i>	60

Abkürzungen und deren Erklärung

ADV	Adenovirus
APC	Antigenpräsentierende Zellen
ATG	Anti-Thymozyten-Globulin
BCR	B-Zell-Rezeptor
BM	Bone marrow/ Knochenmark
Bu	Busulfan
CD	Cluster of differentiation
CMV	Cytomegalievirus
*CMV positive Spende	CMV IgG positiv und IgM negativ
CR	Complete remission/ komplette Remission
DFS	Disease free survival/ krankheitsfreies Überleben
DLI	Donorlymphozyten Infusion
EBV	Epstein-Barr-Virus
ECP	Extrakorporale Photopherese
HLA	Human Leukocyte Antigens
HSCT	Hematopoietic stem cell transplantation/ hämatopoietische Stammzelltransplantation
JMLD	Juvenile Verlaufsform der metachromatischen Leukodystrophie
KG	Körpergewicht
MALT	Mucosa-Associated Lymphoid Tissue
Mel	Melphalan
MHC	Major histocompatibility Complex
MMF	Mycophenolat-Mofetil
MR	Molekulare Remission
MRD	Minimal Residual Disease
MUD	Matched unrelated Donor
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
OS	Overall survival/ Gesamtüberleben
PBSC	Peripheral blood stem cells/ Stammzellen aus peripherem Blut

SCTx/SZT	Stammzelltransplantation
TCR	T-Zell-Rezeptor
Treo	Treosulfan
VZV	Varicella-Zoster-Virus

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 - Geschlechterverteilung.....	36
Abbildung 2 - Alter zum Diagnosezeitpunkt.....	37
Abbildung 3 - Gewicht bei SCTX	38
Abbildung 4 – Remissionsstatus	39
Abbildung 5 - Vortherapie.....	39
Abbildung 6 - Blutgruppe EmpfängerIn.....	41
Abbildung 7 - Blutgruppe SpenderIn	41
Abbildung 8 - Blutgruppenverteilung EmpfängerIn/ SpenderIn.....	42
Abbildung 9 - Mismatchlocus	43
Abbildung 10 - CD34+ Zellzahl.....	44
Abbildung 11 - CD3+ Zellzahl.....	45
Abbildung 12 - TCR- α/β Zellzahl	45
Abbildung 13 - Immunsuppressionsdauer	46
Abbildung 14 - Beobachtetes Gesamtüberleben	47
Abbildung 15 - Beobachtetes krankheitsfreies Überleben	48
Abbildung 16 - Vergleich CD34+ Zellzahlen GvHD/ Nicht-GvHD Betroffener	50
Abbildung 17 - Vergleich CD3+ Zellzahlen GvHD/ Nicht-GvHD Betroffener	50
Abbildung 18 - Vergleich TCR- α/β Zellzahl GvHD/ Nicht-GvHD Betroffener	51
Abbildung 19 - Vergleich TCR gamma/delta Zellzahl GvHD/ Nicht-GvHD Betroffener .	52
Abbildung 20 - Vergleich CD19+ Zellzahl GvHD/ Nicht-GvHD Betroffener.....	52
Abbildung 21 - Gesamtüberleben GvHD/ Nicht-GvHD Betroffener.....	54
Abbildung 22 - Krankheitsfreies Überleben GvHD/ Nicht-GvHD Betroffener.....	55

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 - Grunderkrankungen.....	37
Tabelle 2 - Konditionierung	40
Tabelle 3 - Geschlechterverteilung EmpfängerIn/ SpenderIn	42
Tabelle 4 - CMV Status	43

1 Einleitung

1.1 Grundlagen-hämatopoetische Stammzelltransplantation

1.1.1 Entstehung und Überblick der Blutzellen

Entstehung

An erster Stelle möchte ich einen kurzen Überblick über Blutzellen und deren Entstehung geben.

Unsere Blutzellen entstehen anfangs (bis zum 5. Embryonalmonat) in Leber und Milz, später werden sie im Knochenmark gebildet (1).

Stammzelle

Aus einer hämatopoetischen Stammzelle entstehen myeloische und lymphatische Stammzellen. Letztere entwickeln sich (über Vorläuferzellen) zu B- und T-Lymphozyten, sowie natürlichen Killerzellen.

Die myeloische Stammzelle entwickelt sich, ebenfalls über unterschiedliche Vorstufen, zu (basophilen, eosinophilen und neutrophilen) Granulozyten, Monozyten/ Makrophagen, Thrombozyten und Erythrozyten (1).

Zellarten

Man unterscheidet unter anderem nach Differenzierung, Morphologie und Funktion drei Hauptzellarten: die Leukozyten, Erythrozyten und Thrombozyten.

Leukozyten

Als Leukozyten werden die weißen Zellen der spezifischen und unspezifischen Immunabwehr bezeichnet. Hierzu zählen die Lymphozyten, Granulozyten und Monozyten (2). Sie machen zirka 0,1% aller Blutzellen aus (Erythrozyten 96%, Thrombozyten 3,9%) (1). Auf Reize durch Botenstoffe, die sogenannten Chemokine, werden Leukozyten aus dem Blut in das Gewebe gelockt, um dort abgestorbenes Gewebe, Bakterien oder andere Krankheitserreger zu eliminieren (3).

Die Lymphozyten werden in einem gesonderten Kapitel genauer besprochen.

Granulozyten werden anhand der Anfärbungseigenschaften der Granula ihres Zytoplasmas nochmals unterteilt in neutrophile, eosinophile und basophile Granulozyten. Neutrophile Granulozyten unterstützen bei der unspezifischen Abwehr durch Phagozytose und können durch diverse Enzyme Bakterien, abgestorbenes Gewebe und Fremdmaterial abbauen. Eosinophile Granulozyten treten im Rahmen von Allergien oder auch bei Infektionen mit Parasiten auf. Bestimmte Substanzen wie Histamin locken diese in das Gewebe. Basophile Granulozyten spielen ebenfalls im Rahmen von Allergien eine Rolle und enthalten Histamin und Heparin. Auch sie können durch Freisetzung bestimmter Faktoren Thrombozyten aktivieren (4).

Monozyten spielen bei der Abwehr ebenfalls eine große Rolle. Ihre Hauptaufgabe ist es als Makrophagen, so werden sie bezeichnet, wenn sie ins Gewebe eingewandert sind, Detritus und fremdes Material durch Phagozytose zu entfernen (4).

Erythrozyten

Erythrozyten sind essentiell für den Transport von Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid. Sie enthalten Hämoglobin, ein Protein, das Eisen enthält und womit Sauerstoff oder Kohlenstoffdioxid gebunden werden kann. Der über die Alveolen in der Lunge aufgenommene Sauerstoff kann dadurch in das Gewebe des Körpers transportiert werden und umgekehrt, dort anfallendes Kohlenstoffdioxid kann in die Lunge transportiert und über diese ausgeschieden/ abgeatmet werden.

Thrombozyten

Thrombozyten sind essentiell für die Stillung einer Blutung. Bei Defekten von Gefäßwänden haften sie an, kleben sich aneinander und führen somit zum Verschluss und zum Sistieren einer Blutung.

Lymphatische Organe

Zu den primären lymphatischen Organen werden das Knochenmark und der Thymus gezählt. Hier entstehen und reifen Immunzellen. Sekundäre lymphatische Organe sind die Milz, Lymphknoten und das MALT (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue). Dort kommt es zum Kontakt zwischen Lymphozyten und Antigenen (4).

Immunabwehr

Man unterscheidet zwischen angeborener und erworbener Immunabwehr. Die angeborene Immunabwehr ist von Geburt an vorhanden und enthält physikalische, chemische und mikrobiologische Barrieren. Unter der physikalischen Barriere versteht man die Haut und Schleimhaut, die ein erstes Hindernis für den Eintritt von Krankheitserregern darstellen. Chemisch sind zum Beispiel in der Tränenflüssigkeit oder im Speichel bestimmte Enzyme wie das Lysozym vorhanden, das Bakterienwände beschädigen kann. Säuren, die dem Magensaft zu einem sehr niedrigen pH-Wert verhelfen, unterstützen ebenfalls bei der Abwehr von Erregern. Das Mikrobiom, das unter anderem auf der Haut oder im Darmtrakt angesiedelt ist, schützt durch Konkurrenz um die gleichen Nährstoffe, durch Produktion schädigender Substanzen und der Unterstützung der körpereigenen epithelialen Barriere vor potentiellen Infektionserregern (2).

Vor allem aber spielen auch Zellen eine sehr große Rolle bei der angeborenen Immunabwehr. So sind beispielsweise Monozyten, Makrophagen, Granulozyten, Mastzellen und natürliche Killerzellen essentiell für eine angeborene Immunität. Durch Wirkung von Zytokinen, Vorgängen wie Entzündungsreaktionen, Akute Phase Reaktion und Komplementsystemaktivierung werden potentielle Gefahren abgewehrt (5).

Die erworbene Immunität ist eine spezifische Reaktion gegen Krankheitserreger. Durch Antigenerkennung von T- und B-Lymphozyten findet eine gerichtete Abwehr statt (5). Hierzu wird im anschließendem Kapitel über Lymphozyten noch ausführlicher gesprochen.

Zytokine

Es handelt sich hierbei um Proteine die von Zellen ausgeschüttet werden. Sie können auf selbige und auch andere Zellen wirken, indem sie an Rezeptoren binden. Aber auch in der Peripherie können sie agieren. Sowohl die angeborene, als auch die erworbene Abwehr wird durch Zytokine reguliert, ebenso die Blutbildung. Die Wirkungsweisen der Zellen, die durch Zytokine ausgelöst werden, sind sehr vielfältig.

Nach ihren Hauptfunktionen werden Zytokine in Interferone, Interleukine, Chemokine und Wachstumsfaktoren eingeteilt.

Interferone sind bei der Abwehr von Viren, aber auch im Kampf gegen Tumorzellen beteiligt. Wichtige Vertreter sind IFN- α und - β sowie IFN- γ .

Interleukine spielen bei der Immunabwehr, Entzündungsreaktionen, der Blutbildung und Apoptosevorgängen eine Rolle. Wichtige Vertreter sind IL-1,-3,-4,-5,-6 und TNF α .

Chemokine sind wichtig für das Anlocken der Immunzellen zu den Orten, an denen sie benötigt werden. IL-8 ist ein bekanntes Beispiel dieser Untergruppe.

Wachstumsfaktoren werden zum Wachstum, zur Proliferation und Differenzierung von Zellen benötigt. Sie fördern Regenerationsvorgänge und können bestimmen, ob eine Zelle weiterlebt, oder in den programmierten Zelltod übergehen soll. Als besondere Vertreter seien hier EGF, TGF β , G-CSF und VEGF genannt (5).

1.1.2 Lymphozyten

Da in dieser Diplomarbeit Lymphozyten eine sehr große Rolle spielen, möchte ich genauer auf ihre Funktion eingehen.

Lymphozyten werden eingeteilt in T- und B-Lymphozyten und Natürliche Killerzellen.

Als Zellen der Immunabwehr, insbesondere der spezifischen, spielen B- und T-Lymphozyten eine wichtige Rolle.

Lymphozyten helfen mit ihren NK-Zellen bei der Bekämpfung von Krankheitserregern und nicht körpereigenen Strukturen als Unterstützung der unspezifischen Abwehr. Hauptsächlich können Lymphozyten aber durch ihre spezifischen Rezeptoren zur Antigenerkennung eine zielgerichtete Abwehr und ein immunologisches Gedächtnis produzieren (B- und T-Lymphozyten) (2).

T-Lymphozyten als Vermittler der zellulären Immunabwehr können Antigene erkennen, über Helfer- oder Suppressor-T-Lymphozyten regulieren und mithilfe zytotoxischer Zellen infizierte Zellen auflösen. Dies erklärt auch die weitere Unterteilung der T-Lymphozyten in regulatorische T-Zellen, zytotoxische T-Zellen ($CD8^+$) und T-Helferzellen ($CD4^+$) (1).

T-Zellen sind maßgeblich für die Abstoßung transplanterter Organe verantwortlich (6).

B-Lymphozyten können Antikörper produzieren und sind daher Teil der humoralen Immunabwehr (1).

NK-Zellen können Tumor- und virusinfizierte Zellen erkennen und diese auslöschen, ohne davor speziell dagegen immunisiert gewesen zu sein (1).

Unter dem Mikroskop kann man die einzelnen Lymphozyten (T, B und NK) nicht unterscheiden, jedoch in einem Durchflusszytometer. Hier unterscheiden sie sich durch ihre unterschiedlichen Oberflächenmarker (7).

Laborchemisch werden Antigene der Zelloberfläche, auch „cluster of differentiation“, kurz CD bezeichnet, mittels monoklonaler Antikörper erkannt (8). Die Antigenmoleküle auf den Zelloberflächen dienen also als Marker. Sie werden von CD1 bis über CD400 eingeteilt.

Ein Beispiel, alle Leukozyten besitzen CD45, alle T-Lymphozyten CD3. Funktionell dienen sie als Rezeptoren, z.B. für Botenstoffe; zur Erkennung, Adhäsion oder auch als Vermittler in der Zellinteraktion.

Therapeutisch von Nutzen sind sie vor allem in der Einteilung von Leukämien, Lymphomen oder auch myelodysplastischen Syndromen (4).

Die Entstehung der Lymphozyten erfolgt im roten Knochenmark, in dem ebenso die Reifung der B-Lymphozyten stattfindet. T-Lymphozyten reifen im Thymus (2).

Nach wie vor erforscht wird das primäre Organ, in dem die Reifung der NK-Zellen erfolgt. Eine starke Vermutung ist, dass sie in Lymphknoten reifen. Darauf lassen bestimmte Expressionen der Oberflächenproteine (CD), die während der unterschiedlichen Stadien des Reifungsprozesses untersucht werden, schließen (9).

Spezifische Immunantwort

Im Rahmen der spezifischen Immunantwort werden Antigene, also Moleküle, die sowohl auf Erregern wie Viren und Bakterien vorkommen, aber auch auf körpereigenen Zellen, erkannt, indem sie an Rezeptoren der Lymphozyten gebunden werden.

Diese Rezeptoren können zufällig, aber auch abgestimmt effizient an Antigene binden. Somit bilden T-Zellen T-Zell-Rezeptoren (TCR) und B-Zellen B-Zell-Rezeptoren (BCR). Antigene sind Moleküle, die sowohl auf Erregern wie Viren und Bakterien vorkommen, aber auch auf körpereigenen Zellen.

Um nun Erreger nicht nur zu erkennen, sondern auch zu bekämpfen, kommen die Antikörper ins Spiel. Antikörper werden von B-Lymphozyten gebildet. Zusammen mit dem BCR sind sie Proteine der Familie der Immunglobuline. Die wichtigsten Klassen der Immunglobuline sind IgA, IgD, IgE, IgG, IgM. Der klassische Aufbau eines Immunglobulins ist Y-förmig und besteht aus zwei leichten und zwei schweren Ketten. Je nach Typ (IgA, IgG, usw) ist dieser Y-förmige Grundbaustein verschieden. Eine hohe Variabilität gibt es in den unterschiedlichsten Anordnungen der Aminosäuresequenzen der antigenbindenden Stellen, was eine so große Antikörper Vielfalt ermöglicht (4).

B-Zell-Rezeptor

Der B-Zell-Rezeptor besteht aus den Rezeptortypen IgD und IgM, diese können auch beide auf ein und demselben B-Lymphozyten vorhanden sein. Wird ein Antigen über den B-Zell Rezeptor erkannt und gebunden, so wird dieses auch in die B-Zelle aufgenommen. Der Vorgang ist essentiell für eine spätere Kommunikation der B-Zelle mit T Zellen. Außerdem führt es durch Aktivierung unterschiedlicher intrazellulärer Kaskaden dazu, dass mehr Antigene präsentiert und aufgenommen werden und die Herstellung von Antikörpern angekurbelt wird (4).

T-Zell-Rezeptor

Auch der T-Zell Rezeptor gehört zur Familie der Immunglobuline. Er besteht aus zwei Untereinheiten, die als α und β klassifiziert werden. Sehr selten kommt ein TCR mit γ und δ Untereinheit vor. $\gamma\delta$ TCR findet man am häufigsten in Zunge, Haut, Darm oder Uterus. Zusammen mit CD3 bildet der TCR einen Komplex (4).

Reifung der B-Zellen

Nach Umlagerungen der leichten, sowie schweren Ketten entstehen über eine Pro- und Prä-B-Zelle unreife B-Zellen. Diese exprimieren IgM B-Zell-Rezeptoren.

Um zu verhindern, dass B-Zellen Antikörper gegen körpereigene Strukturen entwickeln, passieren zwei Methoden während der Reifung von B-Zellen. Zum einen geschieht dies über die klonale Deletion der unreifen B-Zellen, bei welchen der IgM Rezeptor an einen körpereigenen Liganden bindet und diesen quervernetzt. Ein Zelltod wird dadurch induziert. Bei der zweiten Methode kommt es zur Entstehung aneurer B-Zellen, also B-Zellen, die nicht mehr instand sind auf Antigene zu reagieren. Diese werden ohne Hilfe der T-Zellen abgebaut.

Die anderen unreifen B-Zellen entwickeln sich zu reifen naiven B-Zellen. Diese bilden neben dem IgM Rezeptor nun auch einen IgD Rezeptor aus. Sie wandern aus dem Knochenmark ins Blut, um dort in sekundäre lymphatische Organe zu gelangen. Finden sie in einem Lymphknoten ein passendes Antigen, bleiben sie dort haften und können lange Zeit überleben. Manchmal befinden sie sich auch in der Nähe „ihrer“ T-Helferzellen. Ohne passendes Antigen überleben sie in der Peripherie jedoch nur wenige Tage (4).

Reifung der T-Zellen

Da die Reifung der T-Lymphozyten im Thymus stattfindet, werden die Zellen auch als Thymozyten bezeichnet. Beginnend als doppelt negativer Thymozyt besitzt die reifende T-Zelle erst einmal weder TCR, noch CD4 oder CD8. Es startet in dieser Phase jedoch die Expression des CD3, das sich vorerst aber noch im Zytosol befindet. Das nachfolgende Stadium, der doppelt positive Thymozyt, enthält nun den Komplex TCR/ CD3 sowie die

beiden Oberflächenproteine CD4 und CD8. Nun findet auch schon die erste Prüfung für die Thymozyten statt. Hierbei wird geprüft ob der TCR gut an körpereigene MHC-Moleküle, in diesem Fall befindlich auf den Epithelien der Thymuszellen, bindet. Ist dies der Fall, spricht man von einer positiven Selektion der Thymozyten. Bindet es zu schwach oder zu stark, wird ein programmierter Zelltod induziert. Es werden die Thymozyten weiter ausgebildet, die diesen Test bestanden haben und somit die Fähigkeit besitzen, Antigene auf körpereigenen MHC Molekülen zu erkennen. Dieses Phänomen bezeichnet man auch als MHC-Restriktion. In dem nächsten Schritt verliert der doppelt positive Thymozyt ein Oberflächenprotein, entweder CD4 oder CD8. Er wird dann als einfach positiver (CD4 oder CD8) Thymozyt bezeichnet. Der nächste Test wird vollzogen. Bindet nun der TCR an körpereigene Antigene, die sich auf dendritischen Zellen des Thymus befinden, so wird ein programmierter Zelltod induziert. Dieser Vorgang nennt sich negative Selektion der Thymozyten. Haben die einfach positiven Thymozyten auch diese Prüfung bestanden, so verlassen sie als reife naive Thymozyten den Thymus und wandern ins Blut. Dort und in den sekundären lymphatischen Organen zirkulieren sie über Monate bis Jahre in der Hoffnung, ein passendes Antigen zu finden (4).

MHC-Proteine

Vor allem im Rahmen der Stammzelltransplantation sind MHC Proteine ein sehr wichtiges Erkennungsmerkmal des Immunsystems. MHC bedeutet Major Histocompatibility Complex (1). Diese wurden im Rahmen der Erforschung von Abstoßungsreaktionen von Transplantaten entdeckt (4).

Das Immunsystem benutzt MHC Proteine zur Erkennung von körpereigenen und -fremd.

Die MHC Proteine befinden sich auf fast allen Zellen des Körpers. Im menschlichen Organismus werden sie auch als HLA (human leucocyte antigens) bezeichnet (1). Es gibt 2 Hauptgruppen (Klasse I+II), diese sind weiter in einer internationalen einheitlichen Nomenklatur unterteilt (10). Die Klasse I umfasst die Typen HLA-A, HLA-B, HLA-C, während die Klasse II die Inhalte HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP beinhaltet (11).

MHC-I Moleküle befinden sich außer auf Erythrozyten auf allen Körperzellen. Präsentiert werden Antigene der Erreger, die intrazellulär reproduziert werden. Dies sind Viren, manche Parasiten und Bakterien und auch atypische Proteine der Tumorzellen.

MHC-II wird hauptsächlich von antigenpräsentierenden Zellen (APC) exprimiert. Zu den APC zählen Monozyten, Makrophagen, dendritische Zellen und B-Lymphozyten. Exogene Erreger, hauptsächlich Bakterien werden phagozytiert und in den Zellen prozessiert und können anschließend mit MHC-II an der Zelloberfläche präsentiert werden (4).

Die relevanten Gene dieser Proteine befinden sich auf dem 6. Chromosom und bestehen aus ca. 4 Mio. Basenpaaren (11). Daraus resultiert eine hohe Variabilität an Allelen, was die großen Unterschiede zwischen menschlichen Individuen erklärt. Sie werden nach den Mendelschen Regeln vererbt (1). So erhält man jeweils einen Teil der HLA-Gruppe, normalerweise einen kompletten Haplotyp (11) von der Mutter und einen vom Vater. Demnach haben Geschwister eine 25%ige Wahrscheinlichkeit die identischen HLA-Gruppen zu besitzen und wären damit die idealen Spender bei Transplantationen (1).

Transplantatabstoßung

Es werden (nicht übereinstimmende) HLA Proteine eines Spendergewebes vom Immunsystem des Empfängers als fremd gesehen und abgestoßen. Die MHC Restriktion, die zuvor unter der Reifung der T-Zellen erklärt wurde, ist eine Ursache hierfür, da die T-Lymphozyten auf ihre eigenen MHC-Moleküle ausgebildet wurden und Antigene, die von körpereigenen MHC präsentiert werden, erkennen. Freie reife T-Lymphozyten können mit fremden MHC auch unabhängig von dem präsentierten Antigen reagieren. Die fremden MHC präsentieren eine für sie typische, für den Spenderorganismus aber andere Auswahl an Proteinen, die durch Immunreaktionen auch eine Abstoßung verursachen sollen. Antikörper werden außerdem speziell gegen das Endothel des Fremdgewebes bereitgestellt. Daher ist es notwendig, eine möglichst hohe Übereinstimmung der HLA Gruppen von Spender und Empfänger bei einer Transplantation anzustreben (4).

Aktivierung der B-Zellen

Trifft eine naive B-Zelle auf ein für sie passendes Antigen, so wird sie durch die Bindung am BCR aktiviert und Antikörper werden gebildet. Die B-Zellen werden meist durch die Unterstützung von T-Helferzellen aktiviert. Daraufhin können sich die nun aktivierten B-Zellen zu Gedächtniszellen oder Plasmazellen weiterentwickeln. Die Plasmazellen geben

Antikörper ab und aktivieren unter anderem Mastzellen und das Komplementsystem zur Pathogenbekämpfung. B-Gedächtniszellen können bei einem erneuten passenden Antigenkontakt sehr viel schneller und stärker mit effizienter Antikörperbildung reagieren (5).

Aktivierung der T-Zellen

Ein erster Kontakt naiver T-Zellen mit dem passenden Antigen genügt nicht, um eine Immunantwort auszulösen. Speziell antigenpräsentierende Zellen wie Makrophagen, Langerhans-Zellen und dendritische Zellen in den sekundären lymphatischen Organen werden benötigt, um die T-Zellen zu aktivieren. Sie werden nach dieser Aktivierung auch als Effektor-T-Zellen bezeichnet. Diese nun speziell selektionierten Zellen werden vermehrt und können bei erneutem Antigenkontakt mit Präsentation auf körpereigenem MHC-Komplex eine Abwehrfunktion ausüben. CD4 bindet hierbei an MHC-II und CD8 an MHC-I. CD4⁺ T-Zellen werden zu T-Helferzellen und CD8⁺ T-Zellen zu T-Killerzellen (4). Je nach Umgebung, Antigen und antigenpräsentierender Zelle werden unterschiedliche Funktionen von T-Helferzellen durchgeführt. Das kann von der eigenen Vermehrung bis hin zu Unterdrückung anderer Zellen und anderen Maßnahmen, die der Abwehr von Erregern dienen, reichen. T-Helferzellen können sich außerdem im Thymus oder in sekundären Lymphsystemen zu regulatorischen T-Zellen entwickeln. Diese greifen dann ein, um eine überschießende Reaktion der Abwehr oder auch einen Angriff gegen harmlose Zellen zu verhindern.

T-Killerzellen, auch zytotoxische T-Zellen genannt können nach ihrer Aktivierung befallene Zellen abtöten. Die zytotoxischen T-Zellen können aus den Lymphorganen auswandern und in den peripheren Geweben des Körpers arbeiten.

Wurde ein Erreger nun erfolgreich beseitigt, werden keine Antigene mehr auf MHC-Molekülen den T-Zellen vorgelegt. Dies ist ein Anreiz für die Zellen in den programmierten Zelltod überzugehen. Einige T-Zellen können sich jedoch auch zu T-Gedächtniszellen entwickeln und Blut und sekundäre Lymphorgane durchwandern (5).

Bei dem Wirken der T-Zellen, sowohl Helfer-, als auch Killerzellen und auch der B-Zellen sind außerdem noch zahlreiche Zytokine, Moleküle und weitere Mechanismen beteiligt,

deren ausführliche Beschreibung den Rahmen dieser kurzen Einführung in die Immunologie jedoch sprengen würde.

1.1.3 Arten der Stammzelltransplantation

Es gibt im Wesentlichen zwei Arten von Stammzelltransplantationen, allogene und autologe. Letztere ist eigentlich eine Re-Infusion von vorher gesammelten Stammzellen derselben Person, meist als Maßnahme gegen eine therapieinduzierte Knochenmarkstoxizität. Bei der allogenen Stammzelltransplantation handelt es sich um die Verabreichung von Stammzellen eines Fremdspenders/ einer Fremdspenderin, im optimalen Fall eines HLA-identen Geschwisters oder eines/ einer unverwandten HLA-identen Fremdspenders/ -spenderin nach weitgehender Eliminierung des körpereigenen Immunsystems („Konditionierung“), mit dem Ziel, das erkrankte hämatopoetische System der PatientInnen durch ein neues, gesundes Immunsystem zu ersetzen (11).

Im Jahr 2014 wurden in Europa über 40 000 Stammzelltransplantationen durchgeführt, davon waren 57% autolog und 43% allogene (12).

Bei der autologen Stammzelltransplantation werden die Stammzellen derselben Person entweder direkt aus dem Knochenmark oder nach Mobilisation peripher aus dem Blut entnommen und verarbeitet. Die Reinfusion der vorher gesammelten körpereigenen Stammzellen kann beispielsweise nach intensiven Radio- oder Chemotherapien (meist als Hochdosischemotherapie mit autologem Stammzellrescue) erforderlich werden, die im Rahmen von verschiedenen Tumorerkrankungen im Kindes- und Jugendalter indiziert sind, wie etwa bei Lymphomen oder hochaggressiven soliden Tumoren (11).

Stammzellen kann man, abgesehen von der Entnahme aus dem Nabelschnurblut, auf zwei verschiedene Arten gewinnen, direkt aus dem Knochenmark oder aus dem peripheren Blut (PBSC= peripheral blood stem cell). Die Entnahme aus dem Knochenmark erfolgt in der Regel über den Beckenkamm. Meist in Vollnarkose wird mit einer Nadel die Spina iliaca posterior punktiert und das Knochenmark aspiriert.

Bei der Gewinnung von Stammzellen aus dem peripheren Blut werden über einen Zellseparator die Blutzellen herausgefiltert. Dafür wird der Spenderin, dem Spender ein venöser Zugang, in der Regel am Arm gelegt und die Maschine trennt durch Zentrifugation Zellen aus der Suspension bzw auch untereinander. Das Plasma und die Erythrozyten werden der Spenderin/ dem Spender wieder rückinfundiert. Da sich normalerweise eine

nicht ausreichende Anzahl an Stammzellen im peripheren Blut befinden, wird die Produktion bzw die Freisetzung aus dem Knochenmark in das periphere Blut mithilfe von G-CSF (granulozyte colony-stimulating factor) und bei Bedarf auch Plerixafor, gefördert. G-CSF wird für 4 bis 6 Tage vor der Spende 1-2 mal täglich subcutan verabreicht. Anschließend wird an einem, oder je nach Ausbeute, auch an zwei Tagen die Zellapherese durchgeführt (13).

Ist eine Stammzelltransplantation (wahrscheinlich) indiziert, beginnt man frühzeitig mit einer passenden Spendersuche, in der Regel zuerst im familiären Umfeld. Gibt es keine passenden verwandten SpenderInnen, so wird auf ein Spenderegister rückgegriffen. In Österreich gibt es das österreichische Stammzellregister (14). Hier sind ca 110 000 Menschen registriert (15). Dieses Register ist auch international vernetzt, womit sich die Zahl der potentiellen SpenderInnen, auf die zugegriffen werden kann, deutlich erhöht. So ist Österreich Teil der World Marrow Donor Association, in der über 41 Millionen Menschen weltweit (Stand 09/2023) registriert sind (16).

1.1.4 Konditionierung

Bevor eine Stammzelltransplantation erfolgen kann, braucht es eine gewisse Vorbehandlung des Knochenmarks des Empfängers, die sogenannte Konditionierungstherapie. Hierbei wird eine spezielle Kombinationschemotherapie verabreicht oder eine Ganzkörperbestrahlung angewandt (11).

Die Ziele der Konditionierung sind eine Myeloablation, die Auslöschung der Knochenmarksstammzellen des Empfängers, um Platz zu schaffen damit sich die Stammzellen des Spenders ansiedeln können, eine Unterdrückung des Immunsystems, damit Abstoßungsreaktionen verhindert werden können und eine Eliminierung der malignen Zellen bei vorliegender bösartiger Grunderkrankung (17).

Das Ausmaß kann sich zwischen komplett oder auch nicht myeloablativ bewegen.

Die Grundstruktur einer intensivierten Zytostatikatherapie besteht aus Busulfan, Treosulfan oder Melphalan (myeloablativ) und wird ergänzt durch Fludarabin oder Cyclophosphamid (immunsuppressiv), sowie der Gabe von Thiotepa oder Etoposid bei Leukämie um einen verstärkt antileukämischen Effekt zu erzielen. Spezielle Antikörper

wie ATG (Anti-Thymozyten-Globulin) reduzieren die Gefahr einer T-Zell-vermittelten Transplantatabstoßung durch eine im Körper des Empfängers stattfindende Depletion von T-Zellen und anderer Lymphozyten, z.T auch des Transplantates.

Nach speziellen Studienprotokollen und je nach vorliegendem Krankheitsbild erfolgt die hochpräzise individuelle Konditionierung (11).

1.1.5 Graft-versus-Host-Disease

Bei dieser Erkrankung handelt es sich um eine Reaktion der Spenderzellen gegen Organe des Empfängers. Die immunkompetenten Zellen des Spenders erkennen Organe des Empfängers als fremd und führen durch eine Immunantwort eine Abwehrreaktion aus.

Grundsätzlich werden eine akute und eine chronische Form unterschieden. Die akute Form tritt unter 100 Tagen nach Transplantation auf, die chronische nach mehr als 100 Tagen, auch weisen die beiden Formen unterschiedliche klinische Symptome auf. Nach dieser Regel kann jedoch nicht immer eingeteilt werden, da unter Einbezug weiterer klinischer Eigenschaften auch Overlap-Syndrome, oder eine spät akute GvHD auftreten können, sodass sich nicht nur vom Zeitpunkt des Auftretens der ersten Symptome aus auf die Form schließen lässt (11).

Pathophysiologie

Die pathophysiologischen Vorgänge der GvHD, die im weiteren versucht werden zu erläutern, wurden hauptsächlich am Mausmodell untersucht.

Zwei wichtige Tatsachen um die Pathophysiologie der akuten GvHD besser verstehen zu können, vorweg: zum Einen handelt es sich zwar um eine natürliche Reaktion der gespendeten Lymphozyten, die eine Entzündungsreaktion hervorrufen, da diese auf für sie fremdes Gewebe im Empfängerorganismus treffen. Diese Reaktion läuft jedoch zu übersteigert ab.

Zum Anderen ist das Empfängergewebe durch die Erkrankung, vorangegangene Infektionen, Therapien und Konditionierung so geschädigt, dass hier bestimmte Signale wie z.B. Zytokine produziert werden. Diese lösen bei den gespendeten Immunzellen

wiederum Reaktionen aus, eine Entzündungsreaktion wird auch hierdurch nochmals gefördert (18).

Die Entstehung der akuten GvHD lässt sich grob in drei Schritte unterteilen:

1. Antigenpräsentierende Zellen (APC) werden aktiviert
2. Spenderlymphozyten werden aktiviert
3. Das Zielgewebe wird zerstört (18)

Durch krankheits- und konditionierungsbedingte Schäden im Gewebe des Empfängerorganismus werden Moleküle exprimiert, die „Gefahr“ vermitteln. Das sind u.a. proentzündliche Zytokine, MHC-Antigene und Chemokine. Diese lösen eine Antwort bei den Spender Lymphozyten aus. Sie proliferieren, differenzieren sich und wandern in unterschiedliches Gewebe aus. Die aktivierten Donor T-Zellen wirken gewebesetzädigend durch zytotoxische T-Zellen und NK-Zellen, aber auch durch $\text{TNF}\alpha$ und IL-1.

$\text{TNF}\alpha$ fñhrt durch weitere Signalkaskaden zu direkten Schäden in der Haut und im Gastrointestinaltrakt, durch weiteren massive Zytokineinfluss auch in Leber und Lunge. $\text{TNF}\alpha$ wird zusätzlich noch aktiviert durch Lipopolysaccharide, die den Weg durch die von der Konditionierung geschädigten Schleimhaut gefunden haben (18).

Die Pathophysiologie der chronischen GvHD unterscheidet sich von der akuten. Auch sie wurde hauptsächlicly am Mausmodell untersucht, das aber beim Auftreten chronischer GvHD im menschlichen Organismus Parallelen zeigt. Die Pathophysiologie lässt sich grob in drei Schritte unterteilen, die jedoch nicht streng in dieser Reihenfolge oder auch generell vorkommen müssen:

1. Eine Entzündungsreaktion
2. Eine Fehlregulation der T- und B-Zellen
3. Eine Fibrosierung (19)

In der ersten Phase verursachen Konditionierungstherapien und/ oder auch eine akute GvHD Entzündungsprozesse im Thymus. Diese Schäden führen in dem 2. Schritt zur gestörten T-und B-Zell Regulation. Die Entstehung von regulatorischen Spender T-Zellen und die negative Selektion der autoreaktiven T-Zellen werden beeinträchtigt und letzteren gelingt der Weg aus dem Thymus. Auch die T-Helferzellen des Gespendeten werden in

sekundären lymphatischen Organen vermehrt, was wiederum die B-Zellen in ihrer Entwicklung, Vermehrung und Differenzierung zu Plasmazellen anregt.

B-Zellen erhalten außerdem noch weitere Anregungen über andere Signalwege während der chronischen GvHD. Durch ihre Funktion mit der Produktion von Immunglobulinen die sich gegen den EmpfängerIn richten, wirken B-Zellen schädigend auf das EmpfängerInnengewebe. Im letzten Schritt führen im Gewebe eingelagerte Mediatoren der Plasmazellen, bestimmte Immunglobuline zu einer Stimulierung zur Fibrosierung die u.a. durch TGF- β ausgelöst wird (19).

Organmanifestationen

Die betroffenen Organe der akuten GvHD sind Haut, Magen-Darm Trakt und Leber.

Man unterteilt sie in Schweregrad I bis IV, von mild, moderat, schwer bis sehr schwer reichend.

Am häufigsten und oftmals auch als erstes betroffen ist die Haut. Ein makulopapulöses Exanthem mit Juckreiz das sich fast am ganzen Körper, oft mit Ausnahme des Kopfes ausbreiten kann tritt auf und führt in schlimmen Fällen zu Blasen bis hin zu Ulzerationen.

Gastrointestinale Beschwerden sind Übelkeit, Erbrechen, Bauchschmerzen und wässrige/ blutige Durchfälle (18).

Ist die Leber betroffen zeigt sich dies als cholestatische Hyperbilirubinämie (11).

Die chronische GvHD kann sich aus einer erfolgreich behandelten oder auch einer frustran therapierten akuten GvHD entwickeln, aber auch ohne einer davor stattgehabten akuten GvHD auftreten. Man unterscheidet eine milde, moderate und schwere Form.

Sie kann theoretisch an jedem Organ auftreten, ist sehr vielfältig und kann einen autoimmunen Charakter aufweisen (11).

Auf der Haut können sich Veränderungen Sklerose- oder Lichen planus ähnlich zeigen, eine Poikilodermie, eine Nageldystrophie oder der Verlust von Nägeln kann vorkommen.

Im Mund, wo häufig die erste Manifestation einer chronischen GvHD in der Schleimhaut auftritt, sind lichenoide Veränderungen, Mundtrockenheit oder Ulzera-typische Symptome.

Gastrointestinale Symptomatik kann von Appetitlosigkeit über Gewichtsverlust bis hin zu Stenosen reichen. Die Leberschädigung kann sich unter anderem in einem Ikterus oder

einer Fibrose äußern. Kontrakturen, Faszitis oder eine Myositis können am Bewegungsapparat auftreten.

Lungenschäden können sich als restriktive oder obstruktive Ventilationsstörungen in der Lungenfunktion äußern, beispielsweise als Bronchiolitis obliterans. Auch Pleuraergüsse oder eine Pericarditis können auftreten. Hämatologisch kann eine Neutropenie und/ oder eine Thrombozytopenie erscheinen (18).

Risikofaktoren

Der bedeutenste Risikofaktor, eine akute GvHD zu entwickeln, ist ein HLA-Mismatch von SpenderIn und EmpfängerIn (20). Weitere Faktoren sind das Alter der Empfangenden sowie der Spendenden, nicht verwandte SpenderInnen und EmpfängerInnen und das Geschlecht des Spendenden. So ist das Risiko erhöht, wenn ein männlicher Empfänger ein Transplantat einer weiblichen Spenderin (die schon Kinder geboren hat) bekommt (20). Auch die Art der Spende spielt eine Rolle, bei einer PBSC-Spende ist aufgrund einer größeren Anzahl an T-Zellen die Gefahr höher, eine GvHD zu entwickeln als bei einer Knochenmarkspende (21). Eine hohe Dosis an CD 34+ Zellen, eine Konditionierungstherapie mit Ganzkörperbestrahlung, maligne Vorerkrankungen und vorangegangene Schädigungen des Gastrointestinaltrakts begünstigen ebenfalls das Entstehen einer GvHD. Diese Risikofaktoren treffen vor allem für pädiatrische PatientInnen zu (20).

Prophylaxe

Bei dieser schwerwiegenden Komplikation der Stammzelltransplantation ist es durchaus sinnvoll, bereits präventiv Maßnahmen zu ergreifen, um einer GvHD vorzubeugen.

Als pharmakologische Prophylaxe werden Substanzen aus den Gruppen der Calcineurin Inhibitoren und Zytostatika oder Immunsuppressiva eingesetzt. Hauptvertreter der Calcineurin-Inhibitoren sind Cyclosporin A und Tacrolimus. Eines der beiden wird meist in Kombination mit Methotrexat (Zytostatikum) oder Mycophenolat Mofetil (Immunsuppressivum) verwendet. Am meisten Evidenz gibt es laut den Leitlinien zur allogenen Stammzelltransplantation der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für

Knochenmarks- und Blutstammzelltransplantation für die Kombination von Cyclosporin A und Methotrexat (22).

Als Hauptverursacher der GvHD gelten $\alpha\beta$ T-Zellen (21). Die gezielte ex-vivo-Depletion von $\alpha\beta^+$ T-Zellen im Apheresat ermöglicht die effektive Reduktion dieses T-Zell-Subtyps, während $\gamma\delta$ T-Zellen und NK Zellen im Transplantat erhalten bleiben, was auch einen positiven Effekt auf das Engraftment, also das „Anwachsen“ des Transplantats und auf die Immunrekonstitution nach Transplantation mit geringerem Auftreten von Infektionen hat (21). Mit der gleichzeitigen Depletion von $CD19^+$ B-Zellen wird das Risiko einer PTLD (Post-transplant lymphoproliferative disease) minimiert.

Therapie

Ist trotz vorbeugender Maßnahmen eine GvHD ausgebrochen, so wird abhängig von dem Schweregrad und der betroffenen Organe behandelt.

Die Erstlinientherapie der akuten GvHD besteht aus der Gabe von Corticosteroiden. Ab dem Schweregrad II sollte laut oben genannter Leitlinie systemisch therapiert werden. Eine orale immunsuppressive Therapie sollte auf i.v. adaptiert werden, sowie der Cyclosporin A Spiegel in einem gewissen Bereich gehalten werden. Bei Hautbeteiligung sollte eine Hautpflege ohne Urea erfolgen, Tacrolimus kann lokal angewandt werden.

Für die Darm-GvHD sollte eine antifugale Therapie zusätzlich erfolgen, Budesonid als Corticosteroid sollte oral verabreicht werden. Als Zweitlinientherapie stehen unter anderem Mycophenolat Mofetil, eine extrakorporale Photopherese (ECP), Etanercept, Sirolimus oder Ruxolitinib zur Verfügung. Diese Therapie erfolgt meist sehr individuell und wird angewandt, wenn Corticosteroide nicht wirken (22). Eine ECP zeigt teilweise Erfolge, vor allem bei Lungen, Leber, Augen, Haut und Schleimhaut Beteiligung (18).

Die Therapie der chronischen GvHD ist teilweise schwer kalkulierbar, als Erstlinientherapie werden auch hier Corticosteroide verwendet, die auch zusammen mit Calcineurin-Inhibitoren gegeben werden können. Einerseits gilt es, mit einer immunsuppressiven Therapie nach einer hämatopoietischen Stammzelltransplantation das Auftreten einer GvHD zu verhindern oder eine bereits aufgetretene GvHD zu unterdrücken, andererseits birgt eine höher dosierte und längerfristige Therapie mit Immunsuppressiva ein erhöhtes Risiko für ein Graftversagen und die Gefahr von schweren Infektionen, die nicht selten tödlich enden können (18).

1.2 Stammzelltransplantationen in der Kinderklinik

1.2.1 Indikationen

Grundsätzlich kann eine Stammzelltransplantation bei malignen aber auch nicht-malignen Krankheiten erforderlich werden, wann immer ein primärer Defekt, eine Fehlregulation oder das Auftreten von malignen Klonen im körpereigenen hämatopoietischen System eine Erkrankung verursacht.

Bei bestimmten Erkrankungen fehlen Eigenschaften von hämatopoetischen Zellen, die zu Immundefekten, Anämien und anderen Problemen führen. Wenn die Fähigkeit zur notwendigen Bildung von Blutzellen sehr stark vermindert ist, resultieren Anämien. Sehr schwere Formen der Anämien die eine Knochenmarkstransplantation erforderlich machen können, sind die schwere aplastische Anämie oder die Fanconi-Anämie.

Schwerwiegende Störungen der Erythrozytenfunktion wie etwa bei der Thalassämie oder der Sichelzellerkrankung mit entsprechender Schädigung verschiedener Organe können eine Stammzelltransplantation notwendig machen.

Ein funktionierendes Immunsystem ist ein komplexes Zusammenspiel aus zellulärer und humoraler Abwehr des Organismus mit angeborenen und erworbenen Fähigkeiten. Liegt ein Defekt der T-Zellen vor, auch kombiniert mit B- oder NK-Zellen, die sich klinisch in einer auffällig erhöhten Infektanfälligkeit manifestieren, spricht man von einem schweren kombinierten Immundefekt. Immundefekte sind vor allem genetisch bedingt, können aber auch durch andere Faktoren wie z.B. Virusinfektionen getriggert werden.

Eine Dysbalance im Immunsystem, z.B. durch eine unzureichende Funktion von NK-Zellen und zytotoxischen T-Zellen, die in weiterer Folge zu einer überschießenden Entzündungsreaktion mit erhöhter Aktivität von Makrophagen führt, ist charakteristisch bei der hämophagozytischen Lymphohistiozytose. Hier existieren primär familiäre und sekundäre (z.B. durch Viren getriggerte) Formen.

Ist die Funktion der Phagozyten (neutrophile Granulozyten, Makrophagen) aufgrund eines Defekts der NADPH-Oxidase gestört, kommt es in weiterer Folge zu rezidivierenden granulomatösen Entzündungen, verursacht durch Bakterien und Pilze, mit dem Bild einer septischen Granulomatose.

Auch den Stoffwechsel betreffende Erkrankungen können in schweren Fällen eine Knochenmarkstransplantation erfordern.

Bei Störungen im Lipidstoffwechsel, genauer einem Arylsulfatase-A Mangel, wie es bei der metachromatischen Leukodystrophie der Fall ist, kommt es zur Demyelinisierung der Nervenfasern. Ist die Galacocerebrosidase defekt, spricht man von einer Globoidzell-Leukodystrophie. Bei dieser Art von Erkrankungen hat eine Knochenmarkstransplantation oftmals das Ziel neurokognitive Funktionen zu stabilisieren (23).

Eine der häufigsten Indikationen für allogene Stammzelltransplantation sind akute Leukämien, bei denen es zur übermäßigen Bildung und/ oder auch Ausschwemmung unreifer, nicht funktionstüchtiger und bösartiger Klone der myeloischen oder lymphatischen Zellreihe ins Blut kommt. Demnach unterscheidet sich die akute lymphatische Leukämie und die akute myeloische Leukämie.

Auch myelodysplastische Syndrome, die in den meisten Fällen aufgrund genetischer Veränderungen zu Defekten hämatopoetischer Stammzellen führen, können vor allem bei jungen PatientInnen eine Knochenmarkstransplantation erfordern.

1.2.2 Durchführung/ Ablauf der Transplantation

Eine allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation umfasst folgende wesentliche Schritte nach geeigneter Auswahl: die Stammzellgewinnung der SpenderIn, die Konditionierung der EmpfängerIn durch eine myeloablative Vorbehandlung, die Infusion der (vorbehandelten) Stammzellen und die begleitende Behandlung der EmpfängerIn.

Auf die Auswahl der Spendenden, die Arten der Entnahme sowie die Vorbehandlung der Empfangenden wurde bereits in dem vorherigen Kapitel genauer eingegangen.

Folgende Zellen befinden sich nach Entnahme im Transplantat, die hinsichtlich positiver, aber auch negativer Wirkungen im Empfängerorganismus hauptsächlich relevant sind:

- CD 34+ Stammzellen
- CD 3+ T-Zellen: diese setzen sich zusammen aus ca 95% α/β T-Zellen (CD 4+ und CD 8+) und 5% γ/δ T-Zellen
- CD 19+ B-Zellen
- CD 56+ NK-Zellen

Ideal ist eine Anzahl an CD34+ hämatopoetischen Stammzellen für pädiatrische PatientInnen von 40×10^6 Zellen pro kgKG des Empfangenden.

Es folgt die Aufarbeitung des Transplantates und speziell die Depletion.

Die Depletion der Stammzellen erfolgt mithilfe eines Systems der Firma Miltenyi Biotec, dem CliniMACS device ® TCR $\alpha\beta$ -Biotin (21).

Die Begleittherapie einer/ eines Knochenmarkstransplantierten beinhaltet vorwiegend eine Immunsuppression. Diese soll, abgesehen von der Abstoßung des Grafts, eine GvHD verhindern, im Zweifel diese auch behandeln, sowie weiteren möglichen transplantationsassoziierten Folgeerscheinungen entgegenwirken (24).

Substanzen die hierbei hauptsächlich eingesetzt werden sind: Calcineurininhibitoren (Cyclosporin, Tacrolimus), Mycophenolat Mofetil, Methotrexat, Sirolimus, ATG (Anti Thymozyten Globulin) und Cyclophosphamid (24).

1.2.3 Komplikationen

Die am häufigsten vorkommenden Komplikationen einer Stammzelltransplantation sind infolge der Konditionierungstherapie bedingte Toxizitäten der Organe, eine akute oder chronische GvHD, Reaktivierung von Virusinfektionen und pulmonale Erkrankungen.

Bei der Konditionierung können durch Chemotherapeutika oder auch Bestrahlung Symptome direkt oder kurz danach auftreten. Am häufigsten zu nennen sind Übelkeit, Erbrechen, Diarrhoe, Exantheme der Haut, Fieber, entzündete Speicheldrüsen, akute allergische Reaktionen.

Viele PatientInnen leiden nach der Konditionierung an einer Mukositis. Diese kann den gesamten Magen-Darm Bereich betreffen. Brennende Schmerzen im Mund, der Speiseröhre, erschwertes Schlucken, Bauchschmerzen sind die Hauptbeschwerden dieser Komplikation und können eine enterale Ernährung untragbar machen.

Weiteres Gewebe das durch eine Konditionierungstherapie geschädigt werden kann, ist das Gefäßendothel. Man spricht hierbei von einer transplantatsassoziierten Mikroangiopathie, die sich grundsätzlich in jedem Organ manifestieren kann.

Bei der thrombotisch-thrombozytopenische Purpura kommt es zur Entstehung von Thromben, es kann zur Nierenschädigung und auch zu ZNS Auffälligkeiten kommen.

In der Leber hat diese Art von Mikroangiopathie zur Folge dass sich Venen verschließen, man spricht von einem Sinusoidal Obstructive Syndrome. Ein kompletter Verschluss kann

zur Folge haben, dass sich der Pfortaderflusskreis umkehrt und somit Symptome wie Aszites, erhöhte direkter Bilirubinspiegel, Druckschmerz im Bereich der Leber und ein erhöhter Verbrauch an Thrombozyten auftreten. Ein schwerer Verlauf kann von Multiorganversagen bis zum Tod führen.

Auf die GvHD wurde bereits im vorherigen Kapitel ausführlich eingegangen.

Komplikationen die die Lungen betreffen sind, abgesehen von Infekten, das idiopathische Pneumonie-Syndrom und die Bronchiolitis obliterans ohne oder mit organisierter Pneumonie. Diese betreffen zum einen das alveoläre zum anderen das Bronchialsystem der Lunge. Teilweise sind sie mit einer GvHD assoziiert. Ein idiopathisches Pneumonie-Syndrom mit der akuten Form, die Bronchiolitis obliterans mit der chronischen Form können auftreten (25).

Nicht seltene und auch gefürchtete Komplikationen nach einer Stammzelltransplantation sind Infektionen. Bakterielle oder fungale Infektionen haben vor allem in der Aplasiaphase das höchste Risiko. Zwei hauptausschlaggebende Faktoren begünstigen Infektionen: 1. eine Neutropenie 2. das Vorhandensein einer Mukositis. Die physiologische Barrierefunktion des Gastrointestinaltraktes entfällt und dadurch wird der Keimeintritt weitgehend erleichtert. Darmbakterien wie E.coli, Pseudomonas, Klebsiellen können eine gramnegative Sepsis hervorrufen; die sogenannte Kathetersepsis, mit dem Hauptverursachern Staphylokokken, eine grampositive.

Die beiden Hauptvertreter einer fungalen Infektion, Candida und Aspergillus, manifestieren sich vorrangig an Nieren, Leber, Milz (Candida) und Lunge (Aspergillus). Letzterer kann auch zu einer lebensbedrohlichen Infektion des ZNS führen.

Virale Infektionen treten vor allem innerhalb des ersten halben Jahres nach Stammzelltransplantation auf. Hauptursächlich hierfür sind Immunsuppression und ein (noch) nicht ausreichend funktionierendes T-Zellsystem, was meist zu einer Reaktivierung von Viren führt. Zytomegalie- und Adenovirus, aber auch Herpes-simplex und das Epstein-Barr-Virus seien hier als wichtigsten Vertreter genannt. Ein eigenes Krankheitsbild löst das EBV aus, die sogenannte EBV associated posttransplant lymphoproliferative disease (EBV-PLTD). Das Krankheitsbild kann dem der zugrunde liegenden Erkrankung der infektiösen Mononukleose sehr ähnlich sein, kann aber auch bis zur Symptomatik eines proliferierenden malignen Lymphoms reichen und somit akut lebensbedrohlich werden.

Eine seltene aber schwere Komplikation ist ein Versagen des Transplantates. Man unterscheidet hierbei zwei Formen: das Nichtanwachsen und das Abstoßen des Grafts.

Ersteres ist gekennzeichnet, dass im Empfängerorganismus innerhalb von 28 Tagen nach Transplantation keine blutbildenden Zellen des Spenders nachgewiesen werden können. Die Konsequenz daraus ist eine erneute Stammzellspende desselben Spenders, ein sogenannter Boost oder gar eine neuerliche Transplantation.

Ein Anwachsen des Transplantats („Engraftment“) ist folgendermaßen definiert:

mehr als 500 Neutrophile/ μ l an mindestens 3 aufeinanderfolgenden Tagen im peripheren Blut des Empfängers (11).

Bei einer Abstoßung kommt es durch Wirkung von Zytokinen, u.a. TNF- α , IFN- γ , IL-1 die aktiviert werden von resistenten T-Zellen des Empfängers, die nicht bei der Konditionierung zerstört wurden. Dadurch werden Spenderzellen zerstört, nachdem bereits ein Engraftment stattgefunden hat. Eine Abstoßung erkennt man an Fieber, das kaum therapierbar ist, einem Anstieg von LDH, CRP und Ferritin und einem Abfall von Leukozyten, Hämoglobin und Thrombozyten im Blutbild, bis schließlich keine Zellen des Spenders mehr vorhanden sind. Es muss nun eine erneute Konditionierung und eine Stammzellspende eines anderen Spenders erfolgen.

Eine nach initial anwachsendem Transplantat auftretende Verminderung der Blutzellen, jedoch ohne Reaktion einer Abstoßung und meist durch einen Virus hervorgerufen nennt man ein sekundäres Transplantatversagen. Hierbei wird ein Boost des gleichen Spenders nötig.

Leider ist eine Stammzelltransplantation nicht immer kurativ, es kann trotzdem zu einem Rezidiv, vor allem von malignen Grunderkrankungen kommen. Individuell muss hierbei über eine weitere Transplantation entschieden werden.

Weitere Spätfolgen nach SZT, die endokrinologischer Herkunft sind, sind eine Schilddrüsenhormoninsuffizienz, ein vermindertes Längenwachstum durch Wachstumshormonmangel und Gonadenfunktionsstörungen, die nicht selten bis zur Infertilität reichen. Erkrankungen wie die Osteoporose oder auch Osteonekrosen können durch eine Funktionsstörung von Hormonen, die die Knochenstabilität beeinträchtigen, bedingt sein. (26).

Sekundärmalignome, die vor allem aufgrund der Konditionierungstherapien auftreten können, kann man in drei Kategorien unterteilen:

1. Posttransplantations-lymphoproliferative Erkrankungen
2. Hämatologische Erkrankungen
3. Solide Tumore

Zu 1. kann man sagen, dass es sich hierbei meist um eine monoklonale B-Zell-Proliferation handelt, die durch EBV getriggert wurde. Unter 2. fallen Erkrankungen wie ein sekundäres myelodysplastisches Syndrom und eine akute myelische Leukämie. 3. Diverse solide Tumore können auftreten (27).

Auch psychische Beeinträchtigungen nach schwerer Krankheit, langen Krankenhausaufenthalten, Umgang mit chronischen Erkrankungen, nicht zuletzt einer chronische GVHD, können sich sehr stark auf die Lebensqualität Betroffener auswirken und diese einschränken.

Nicht zu vergessen die soziale Folgen die eine Stammzelltransplantation mit sich bringen kann. Durch oftmals langandauernde Krankheitsphasen, Krankenhausaufenthalte, körperliche und psychische Beeinträchtigungen, kann die Wiedereingliederung in einen normalen Alltag (Schule, Beruf, Gesellschaft) sehr schwer fallen.

2 Material und Methoden

Studiendesign

Bei dieser Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Datenanalyse. Daten wurden aus (elektronischen) Krankenakten, Ambulanzakten und OP Berichten der Abteilung für pädiatrische Hämatookologie des LKH Graz gesammelt. Die Studienpopulation umschließt 23 PatientInnen, die zwischen 2014 und 2019 eine CD3/19 TCR- α/β depletierte hämatopoetische Stammzelltransplantation erhalten haben. Es handelt sich um Kinder und Adoleszente in einem Alter von 0 bis 22 Jahren, die aufgrund unterschiedlichster Grunderkrankungen eine SCTx benötigten.

Die Studie wurde von der zuständigen Ethikkommission genehmigt und datenschutzrechtliche Bestimmungen wurden eingehalten. Die PatientInnen wurden mit fortlaufenden Nummern pseudonymisiert und die auszuwertenden Daten nur anhand dieser Codierung in einer Excel-Tabelle auf einem PC mit Zugangsbeschränkung an der Abteilung für pädiatrische Hämato-/Onkologie gespeichert und ausgewertet. Auf diese Daten haben lediglich autorisierte Personen Zugriff. Es wurden 51 Merkmale der PatientInnen eingegeben, zum Teil wurden diese auch umgerechnet und relative Häufigkeiten, verschiedene Einheiten, Subtraktionswerte wie Behandlungsdauer oder Gesamtüberleben erhoben. Außerdem wurden Untersuchungsergebnisse wie Laborwerte und spezielle biologische Analysen (FACS) eingetragen. Auch wurden Merkmale der eingesetzten Stammzelltransplantate aufgelistet. Die unten aufgeführten Zielgrößen sind zum Teil direkt übernommene Rohdaten, aber auch kalkulierte Daten, die aus unterschiedlichen Merkmalen berechnet wurden.

Zielgrößen

Die festgelegte Hauptzielgröße ist das Outcome nach SCTx bzw die Immunrekonstitution. Nebenzielparameter sind, neben der Diagnose, das Alter bei Stammzelltransplantation, der Remissionsstatus vor SCTx, durchgeführte Vortherapien und die Art der Konditionierungstherapie. Außerdem wurden Daten zur HLA-Konstellation (HLA-Typ, Match, Mismatchlocus, Blutgruppe von EmpfängerIn/ SpenderIn) und zum CMV Status

bei EmpfängerIn und SpenderIn erhoben, wie auch Gesamt- und spezifische Zellzahlen (CD 34⁺, CD3⁺, CD 19, CD 56, TCR - α/β , TCR - γ/δ), die Dauer und Art der Immunsuppression und das Auftreten und die Art von Infektionen.

Die Angaben der Zielparameter erfolgten nominal oder metrisch, um eine adäquate Auswertung zu ermöglichen.

Statistik

Die Datenanalyse erfolgte mittels deskriptiver Statistik.

Die Daten wurden zunächst in einer Excel-Tabelle gesammelt, im Bedarfsfall gruppiert. Einfache Größen wie Mittelwert, Median und Standardabweichungen wurden auch in Excel berechnet. Für weitergehende statistische und grafische Darstellung wurden die Daten in einer strukturierten Form aufgearbeitet und mithilfe einer Statistik Software, SPSS (Version 28 und 29) ausgewertet. Mithilfe von berechneten Größen wie dem Mittelwert, Standardabweichung, Median, absoluten und relativen Häufigkeiten werden Verteilungen der Zielparameter ausgewertet. Im Einzelfall wurden die Ergebnisse in verschiedenen Diagrammen (Streu-/ Balkendiagramme, Boxplots und Histogramme) visualisiert.

Ebenso wurden die Ergebnisse teilweise in Tabellenform dargestellt. Zusammenhänge wurden auch in Kreuztabellen kenntlich gemacht.

3 Ergebnisse

Die unterschiedlichen Merkmale der oben beschriebenen PatientInnen werden im Folgenden als erhobene Untersuchungsbefunde in grafischer, tabellarischer und in Textform dargestellt.

Geschlechterverteilung

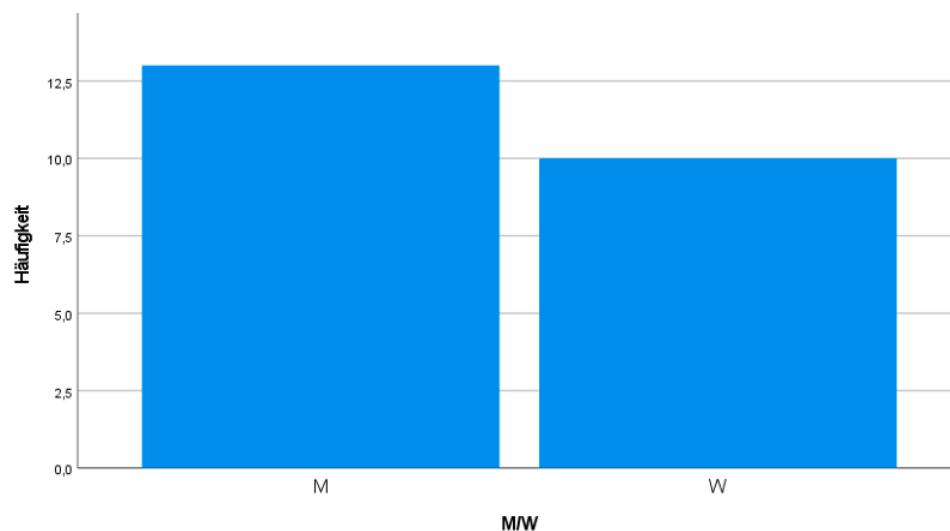


Abbildung 1 - Geschlechterverteilung

In der obigen Abbildung ist die Geschlechterverteilung zu sehen, 56,5% der PatientInnen sind männlich und 43,5% weiblich. Damit überwiegen die Männer diskret.

Verteilung der Grunderkrankungen

Grunderkrankung	Anzahl der Betroffenen
ALL	6
AML	1
Myelodysplastisches Syndrom mit sekundärer AML	2
T-Lymphom	1

Neuroblastom	1
Hämophagozytische Lymphohistiozytose	2
juvenile metachromatische Leukodystrophie	2
Sichelzellerkrankung	2
Septische Granulomatose	1
Morbus Krabbe	1
Schwere aplastische Anämie	1
Thalassämie	1
Profunder kombinierter Immundefekt	1
Kongenitale Agranulozytose	1

Tabelle 1 - Grunderkrankungen

Die 23 Erkrankungen verteilen sich auf 11 maligne und 12 benigne Krankheiten.

Alter zum Diagnosezeitpunkt

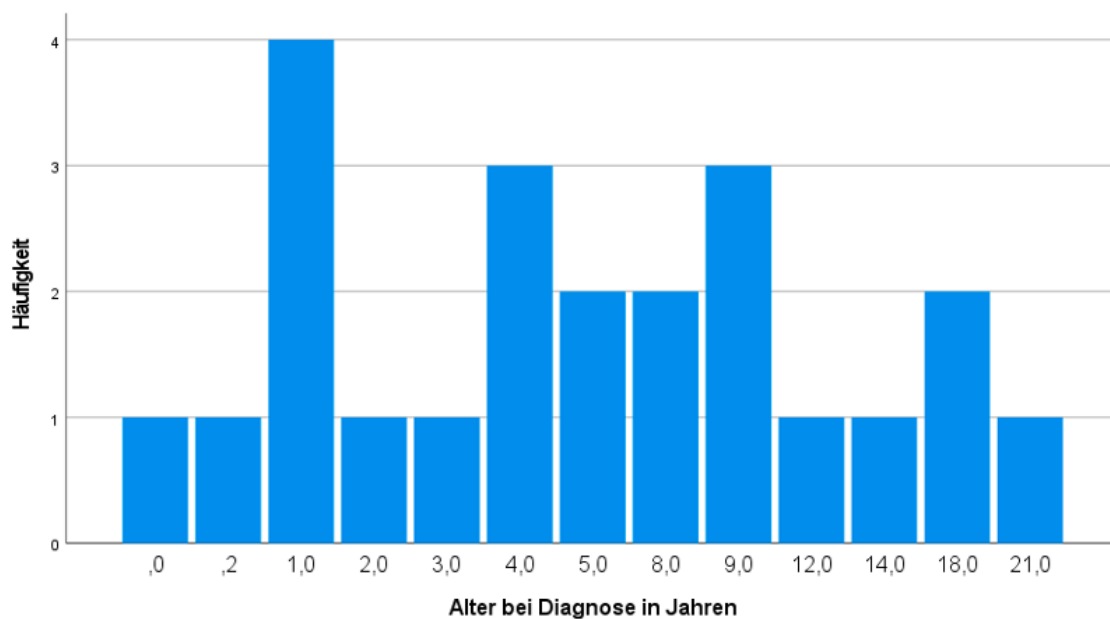


Abbildung 2 - Alter zum Diagnosezeitpunkt

In der Altersverteilung zeigt sich ein erster Gipfel um das erste Lebensjahr, im Weiteren sind vor allem Kinder zwischen 4 und 9 Jahren betroffen und ein weiterer Peak erscheint um das 18. Lebensjahr.

Der erste Gipfel erklärt sich durch angeborene Erkrankungen. Die Manifestation zwischen dem vierten und neunten Lebensjahr erklärt sich durch erworbene und spät manifestierte konnatale Erkrankungen. Der Median ist 5,0 Jahre und der Mittelwert beträgt 6,8 Jahre. Das Alter lag zwischen der Neugeborenenuntersuchung und dem 21. Lebensjahr.

Alter bei Transplantation

Das Alter der Betroffenen zum Zeitpunkt der Transplantation lag zwischen 0,3 und 22 Jahren mit einem Mittelwert von 9,4 Jahren und einem Median von 9,0 Jahren.

Gewicht

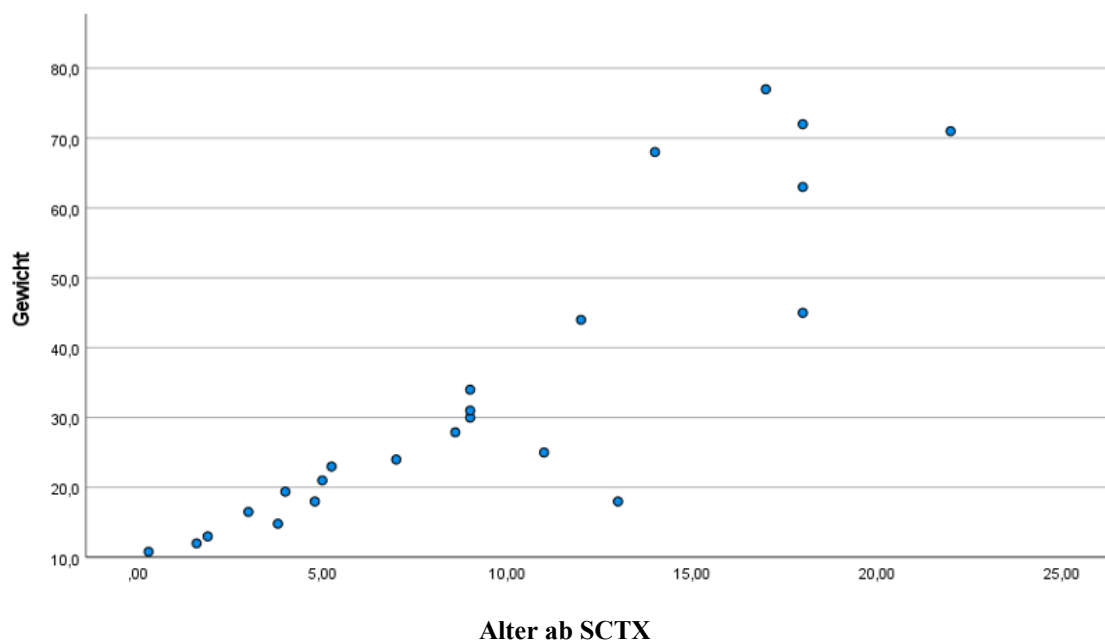


Abbildung 3 - Gewicht bei SCTX

Im Streudiagramm erkennt man eine Häufung bis zum 9. Lebensjahr mit einer relativ homogenen Gewichtsverteilung. Ab dem 10. Jahr gibt es einige deutlich untergewichtige PatientInnen, sowie auch Ausreißer nach oben. Der Mittelwert beträgt 33,8kg, der Median 25kg bei Werten zwischen 10,8 und 77kg.

Remissionsstatus

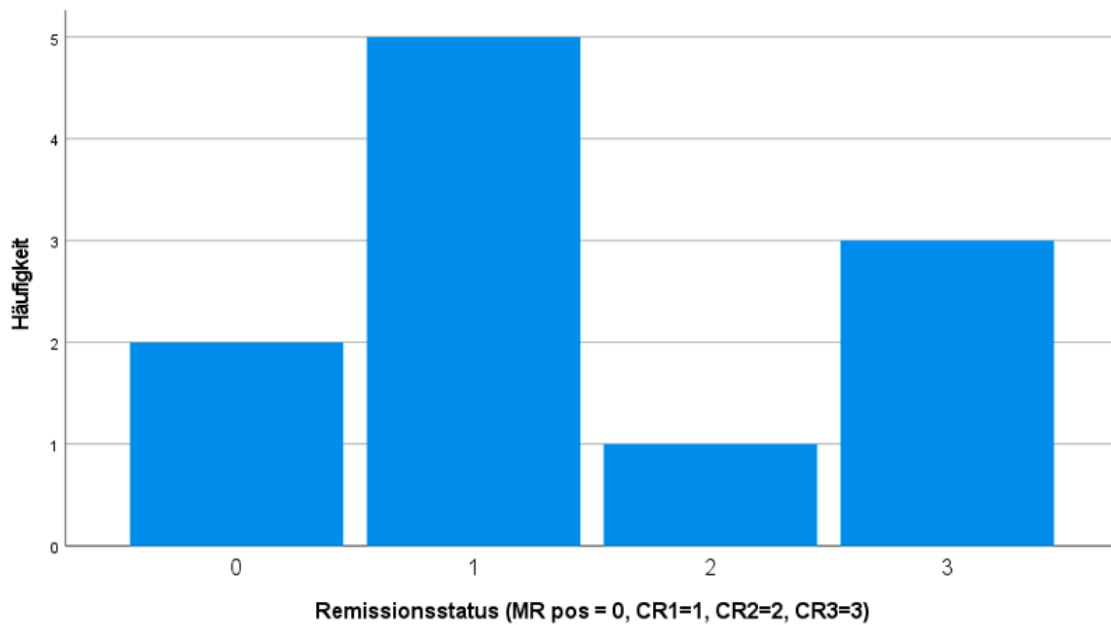


Abbildung 4 – Remissionsstatus

Bei den 11 PatientInnen mit Leukämien zeigt sich die dargestellte Stratifizierung der Remission, wobei 18% an einer aktiven Erkrankung litten und dementsprechend 82% in Remission waren.

Vortheraipen

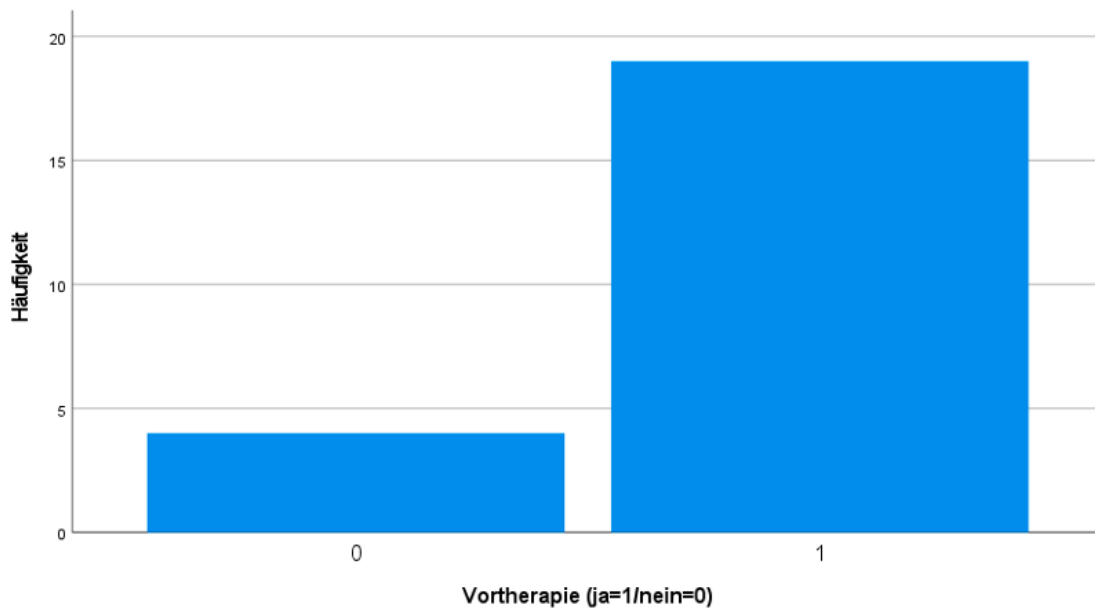


Abbildung 5 - Vortheraipen

Von den 23 PatientInnen hatten 83% eine Vorbehandlung und 17% keine. Damit ist klar erkennbar, dass die Stammzelltransplantation in den allermeisten Fällen eine sekundäre oder noch später nachgelagerte Therapie war.

Konditionierung

	Basistherapie	Gesamtgaben
myeloablativ	21	
Busulfan (Bu) basiert	2	2
Melphalan (Mel) basiert	1	4
Treo sulfan (Treo) basiert	17	17
Ganzkörperbestrahlung	1	1
nicht myeloablativ	2	
Cyclophosphamid	2*	5
Fludarabin		19
Antikörper	20	
Anti-Thymozyten-Globulin (ATG)	17	17
Alemtuzumab	3	3

*Cyclophosphamid/ Fludarabin basierte, nicht myeloablative Immunsuppression

Tabelle 2 - Konditionierung

Von den 23 Transplantierten erhielten 21 eine myeloablative Konditionierungstherapie und zwei eine nicht-myeloablative Konditionierung mit Cyclophosphamid und Fludarabin. Bei der myeloablativen Konditionierung erhielten zwei PatientInnen eine Busulfan (Bu, Bu-Mel) basierte Konditionierung, eine Patientin eine Melphalan basierte Therapie, 17 PatientInnen eine Treosulfan (15x Treo, 2x Treo-Mel) basierte myeloablative Konditionierung und ein Patient eine Ganzkörperbestrahlung. Von den myeloablativ vorbehandelten PatientInnen erhielten außerdem als weitere immunsuppressive Therapie drei Cyclophosphamid und 17 Fludarabin.

Antileukämisch wirkend erhielten 17 Transplantierte Thiotepa. Eine Antikörpertherapie bekamen 20 PatientInnen, drei davon mit Alemtuzumab und 17 mit ATG.

Blutgruppen

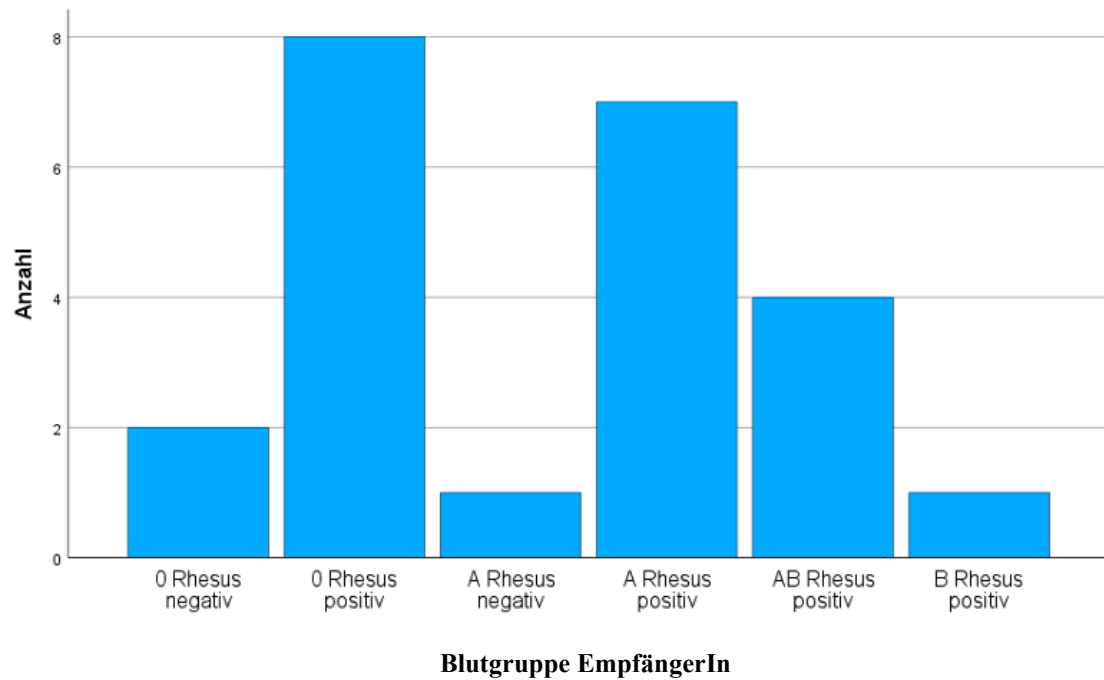


Abbildung 6 - Blutgruppe EmpfängerIn

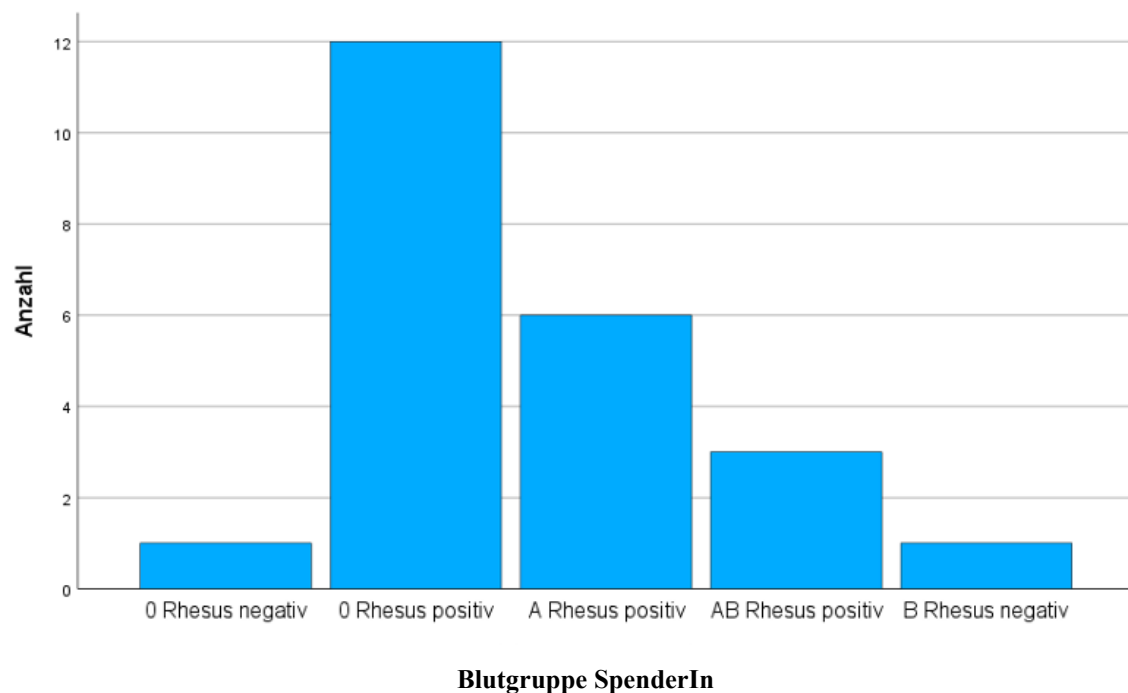
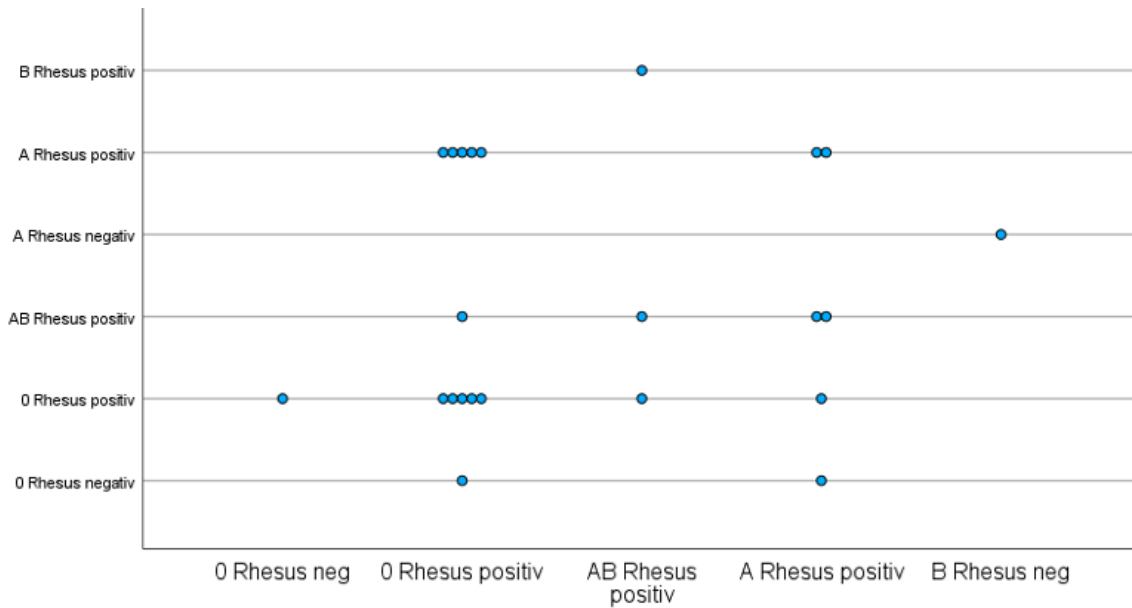


Abbildung 7 - Blutgruppe SpenderIn

Blutgruppe EmpfängerIn



Blutgruppe SpenderIn

Abbildung 8 - Blutgruppenverteilung EmpfängerIn/ SpenderIn

Sowohl bei den EmpfängerInnen, als auch bei den SpenderInnen dominierten die Blutgruppen O+ und A+.

Im Streudiagramm ist zu erkennen, dass von den 23 PatientInnen lediglich 8 eine Übereinstimmung von SpenderInnen und EmpfängerInnen aufwiesen, hiervon fünf O+, zwei A+ und eine(r) AB+. Bezüglich der Kompatibilität der Blutgruppen lässt sich bei den nicht übereinstimmenden Empfangenden eine Major Kompatibilität in 8 Fällen (A/O; AB/O; AB/A), eine Minor Kompatibilität in 4 Fällen (B/AB; O/AB; O/A) und weder major noch minor kompatibel in einem Fall (A/B) erkennen.

Geschlechterverteilung Spendende/ Empfangende

		Spendergeschlecht		Gesamt
		männlich	weiblich	
Empfänger- geschlecht	M	6	7	13
	W	7	3	10
M/W				
Gesamt		13	10	23

Tabelle 3 - Geschlechterverteilung EmpfängerIn/ SpenderIn

Die Geschlechtsverteilung der SpenderInnen entspricht mit 13 männlichen (56,5%) und 10 weiblichen (43,4%) der der EmpfängerInnen. Eine geschlechteridente Transplantation erfuhren nur 6 männliche und 3 weibliche EmpfängerInnen.

Mismatch

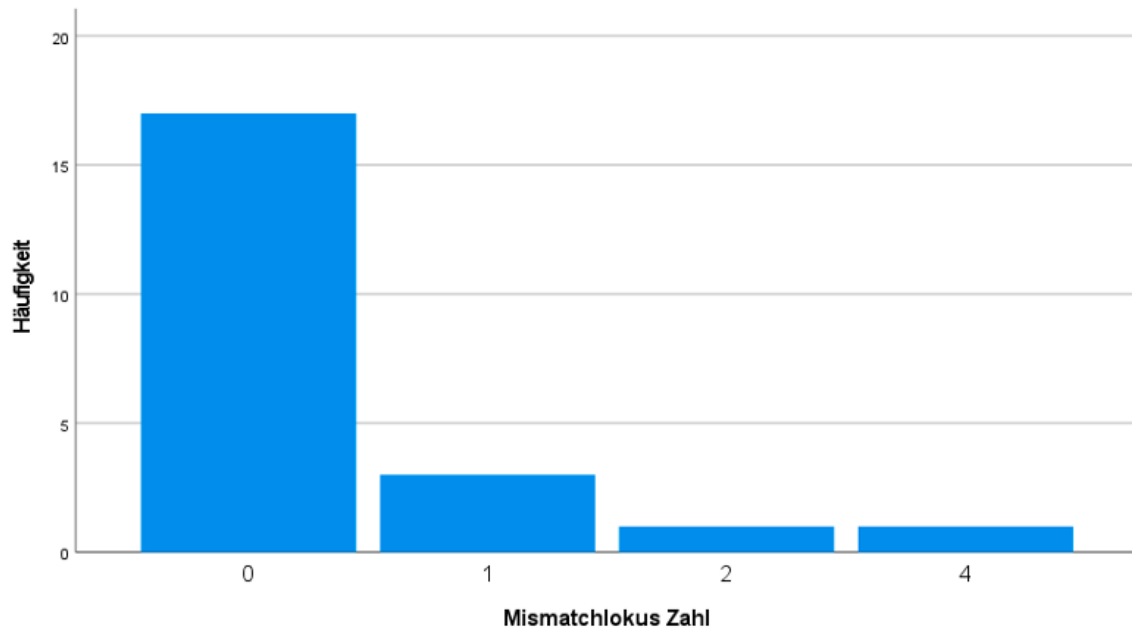


Abbildung 9 - Mismatchlocus

13 PatientInnen erhielten eine Fremdspende und 10 PatientInnen die Spende einer verwandten Person. Eine Spende war haploident, die anderen HLA ident.

Wie in der Abbildung erkennbar, gab es bei 74% der Transplantierten keinen Mismatchlokus, bei 13% einen, sowie jeweils 4% mit 2 und 4 Missmatchloci.

CMV Status

		CMV Status SpenderIn		Gesamt
		negativ	positiv	
CMV Status EmpfängerIn	unklar	1	0	1
	negativ	9	3	12
	positiv	2	8	10
Gesamt		12	11	23

Tabelle 4 - CMV Status

Bei dem in der Tabelle als nicht klassifizierte(n) EmpfängerIn war der CMV Status unklar, er erhielt ein CMV negatives Transplantat. 9 negative EmpfängerInnen erhielten ein negatives Transplantat (41%), 3 Negative erhielten ein positives* Transplantat (14%), 2 positive EmpfängerInnen erhielten ein CMV negatives Transplantat (9%) und 8 Positive ein ebenfalls CMV positives* Transplantat (36%).

Zellzahlen im Engraftment

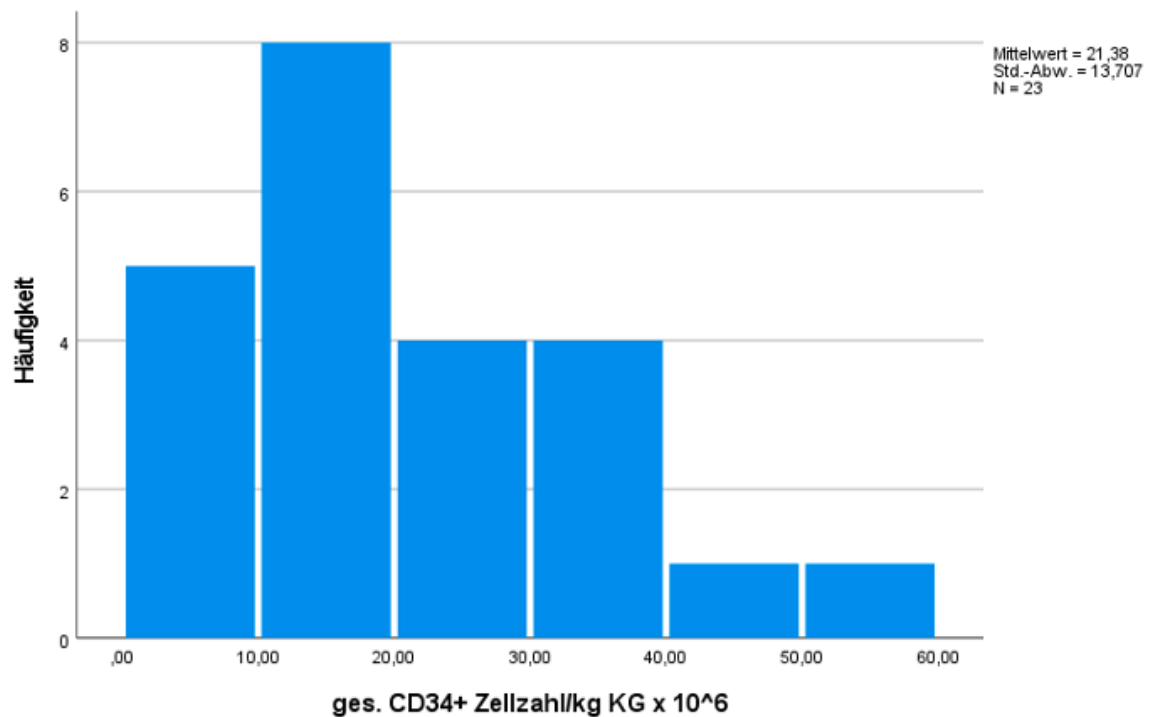


Abbildung 10 - CD34+ Zellzahl

Die Anzahl der CD34+ Stammzellen bewegte sich in einem Bereich von 5,7 bis 59,4 Zellen/kgKG x 10⁶ mit einem Mittelwert von 21,4; einer Standardabweichung von 13,7 und einem Median von 19,3 Zellen/kgKG x 10⁶.

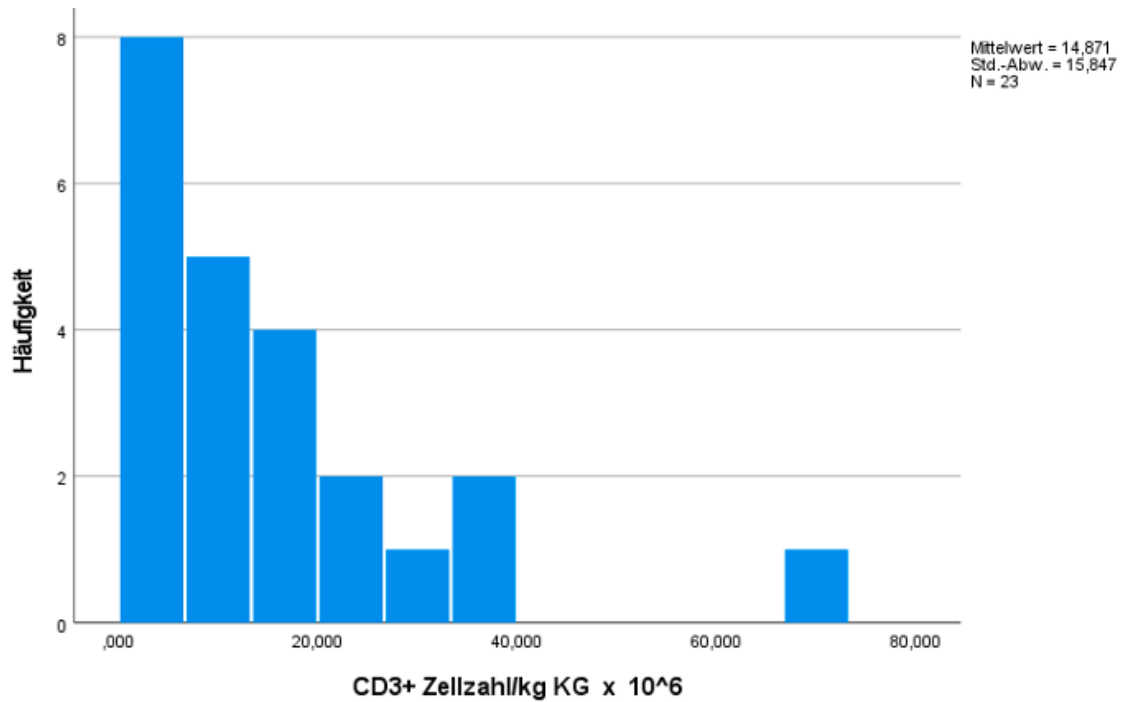


Abbildung 11 - CD3+ Zellzahl

Die Anzahl der CD3+ positiven T-Zellen betrug zwischen 0,001 und 70 Zellen/kgKG x 10⁶ mit einem Mittelwert von 14,9, einer Standardabweichung von 15,9 und einem Median von 11 Zellen/kgKG x 10⁶.

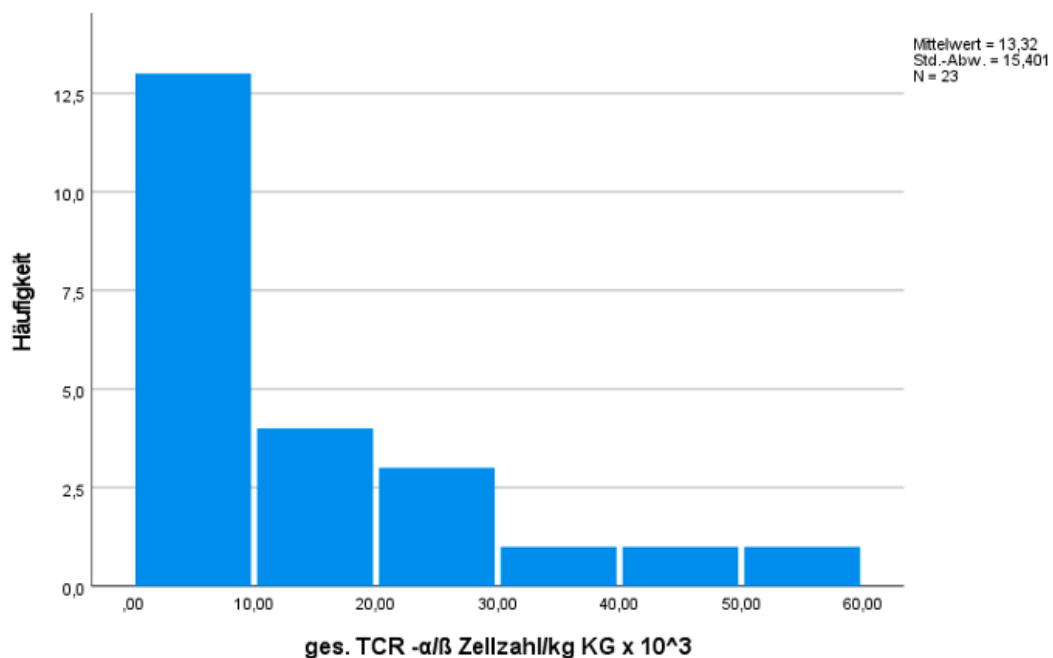


Abbildung 12 - TCR-α/β Zellzahl

Die Anzahl der TCR α/β Zellen betrug zwischen 0,97 und 56,0 Zellen/kg KG $\times 10^3$. Der Mittelwert betrug 13,3 bei einer Standardabweichung von 15,4 und einem Median von 5,7 Zellen/kg KG $\times 10^3$.

Immunsuppression

Alle PatientInnen erhielten von Tag -1 an eine Immunsuppressionstherapie. 22 PatientInnen erhielten Mycophenolat Mofetil (CellCept), ein Kind erhielt zusätzlich Tacrolimus. Ein anderes Kind erhielt Cyclosporin A und Methotrexat und ein Kind Cyclosporin A, Methotrexat und CellCept.

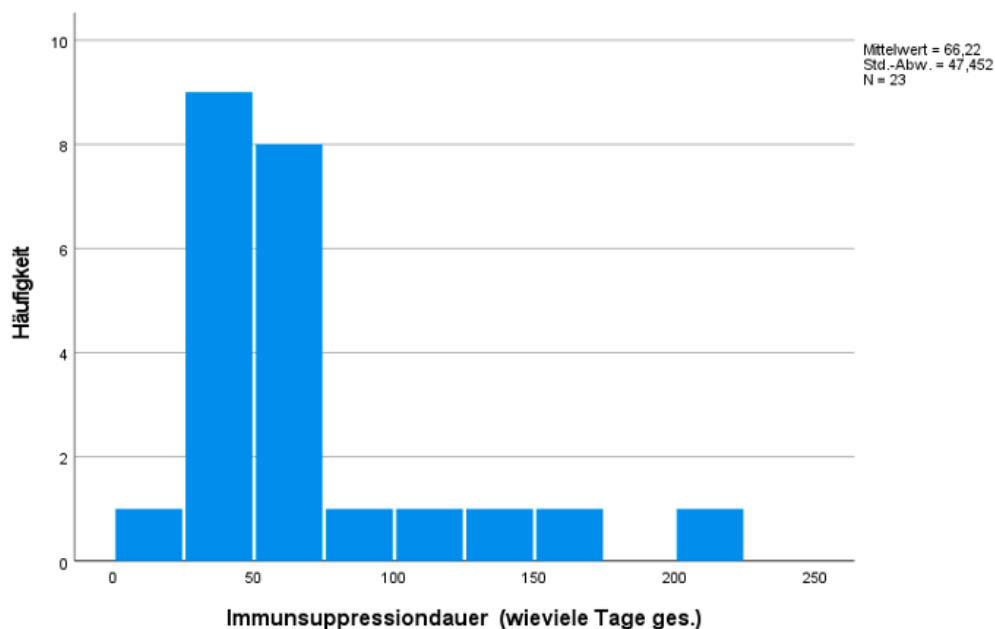


Abbildung 13 - Immunsuppressionsdauer

Die Immunsuppression dauerte von 24 Tagen bis zum maximal beobachteten Zeitraum von 222 Tagen. Der Mittelwert beträgt 66,2, die Standardabweichung 47,5 und der Median 56 Tage.

Beobachtetes Gesamtüberleben (Overall Survival, OS)

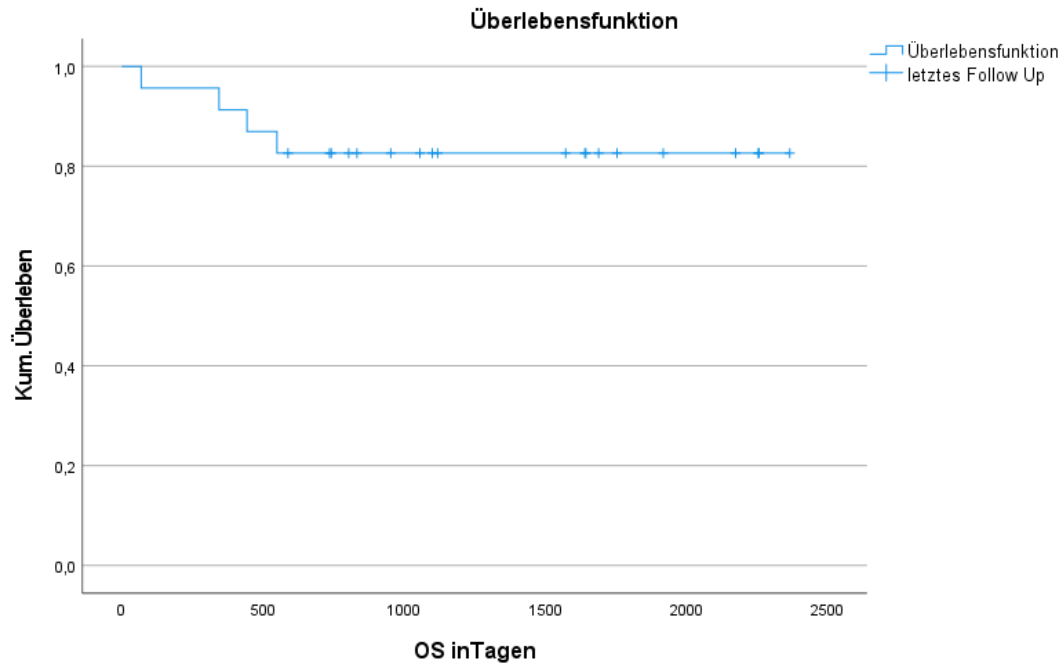


Abbildung 14 - Beobachtetes Gesamtüberleben

Von den 23 transplantierten Kindern verstarben 4. Ihre Überlebenszeit betrug 69, 345, 444 und 550 Tage. Das entspricht einem Mittelwert von 352 Tagen, einem Median von 395 Tagen und einer Standardabweichung von 206. Alle vier Kinder starben an ihren Grunderkrankungen. Zwei hatten ein Rezidiv einer ALL, ein Patient ein Revidiv eines Lymphoms und eine Patientin verstarb an einer respiratorischen Insuffizienz aufgrund einer neurologischen Verschlechterung im Rahmen der JMLD und einer Zosterpneumonie. Die Beobachtungszeit der 19 Überlebenden betrug zwischen 13 und 78 Monate. Der Mittelwert beträgt 46 Monate, die Standardabweichung 21 und der Median 51 Monate. Von den 19 Überlebenden wurde eine Überlebenszeit von 589 bis 2366 Tagen beobachtet, mit einem Mittelwert von 1432, einer Standardabweichung von 576 und einem Median von 1572 Tagen. Das 1- Jahresüberleben betrug 91% (Zahlenbasis 23 Pat.) und das 2- Jahresüberleben 82% (22 Pat.).

Beobachtetes krankheitsfreies Überleben (Disease free survival, DFS)

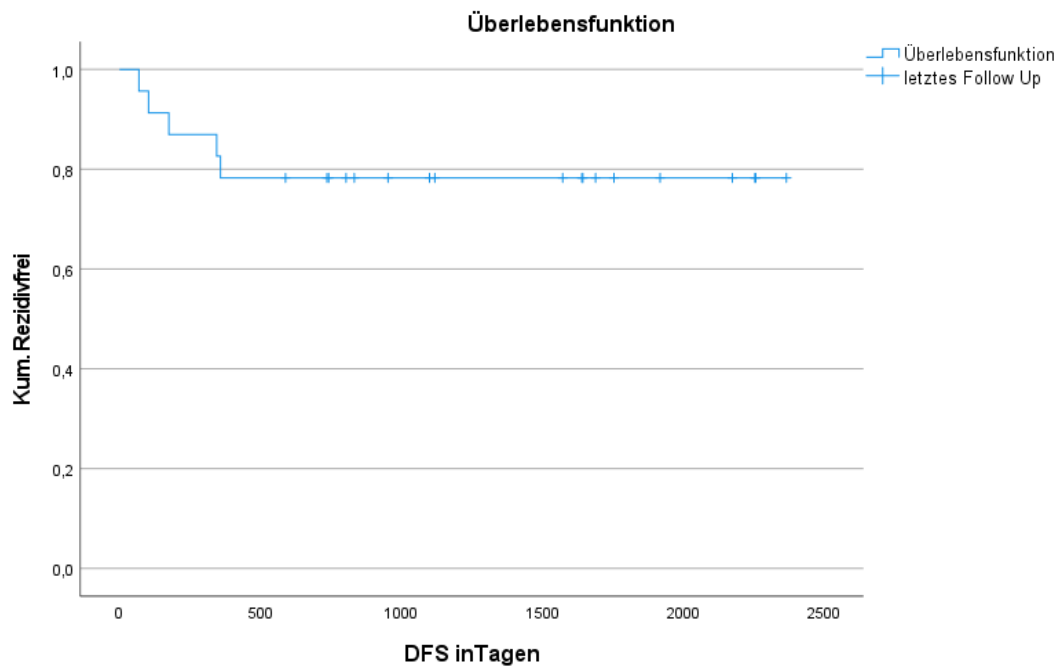


Abbildung 15 - Beobachtetes krankheitsfreies Überleben

Von den 23 Beobachteten entwickelten 5 ein Rezidiv (22%), dabei war der mittlere krankheitsfreie Zeitraum 1182 Tage mit einer Standardabweichung von 747 und einem Median von 1100 Tagen. Vier der Transplantierten mit Rezidiv verstarben, bei dem lebenden fünften Patienten war der letzte Follow up Termin 953 Tage nach der Diagnose des Rezidivs und 1056 Tage nach Transplantation, nach wie vor mit Rezidiv und in palliativer Behandlung .

Transplantatversagen/-abstoßung (Graft failure/rejection)

Von den 23 Transplantierten gab es kein Versagen oder Abstoßen des Transplantates.

Fünf PatientInnen entwickelten einen abnehmenden Spenderchimärismus, bei einer weiteren Patientin fand sich nach 30 Tagen eine MRD (minimale Resterkrankung) bei der Grunderkrankung ALL in der Knochenmarkspunktion.

Von 4 der 5 PatientInnen mit abnehmendem Spenderchimärismus lag eine Zeitangabe vor, jener trat zwischen dem 35. und 83. Tag auf mit einem Mittelwert von 54 Tagen und einem Median von 48,5 Tagen. Alle fünf PatientInnen erhielten Donorlymphozyteninfusionen,

von zwei bis 14 Gaben mit einem Median von 2 Gaben und einem Mittelwert von 5,2 Gaben.

Graft-versus Host Disease

Bei vier der 23 Transplantierten (17%) entwickelte sich eine GvHD, wovon zwei chronifizierten. Es handelt sich um drei männliche und eine weibliche Betroffene. Sie waren 4, 7, 17 und 18 Jahre alt. Zwei PatientInnen hatten eine nichtmaligne Grunderkrankung (Sichelzellanämie und Mb Krabbe) und zwei eine maligne (MDS mit sekundärer AML und ALL).

Bei GvHD PatientInnen waren zweimal ein Organ und zweimal drei Organe betroffen. Der Einzelorganbefall betraf den Darm und bei dem anderen Patienten den Gastrointestinaltrakt. Der Dreifachbefall betraf in beiden Fällen die Haut, Leber und den Darm. Die Betroffenen entwickelten nach 15, 30, 61 und 146 Tagen das Krankheitsbild. Die PatientInnen mit Darm und Beteiligung des oberen Gastrointestinaltraktes hatten jeweils Grad I. Der Patient mit Haut, Leber und Darm Beteiligung Grad I-III und der vierte Patient mit 3 beteiligten Organen Grad III.

Für die Behandlung des Darmes wurde Beclomethason, für den oberen Gastrointestinaltrakt Budesonid verwendet. Bei einer Dreifacherkrankung wurde Cyclosporin A, Prednisolon, Beclomethason, Budesonid und auch eine extrakorporale Photopherese durchgeführt. Im anderen Fall erfolgte die Behandlung mit Prednisolon und Tacrolimus als Salbe.

Zellzahlen GvHD Betroffene und Nicht-GvHD Betroffene im Vergleich

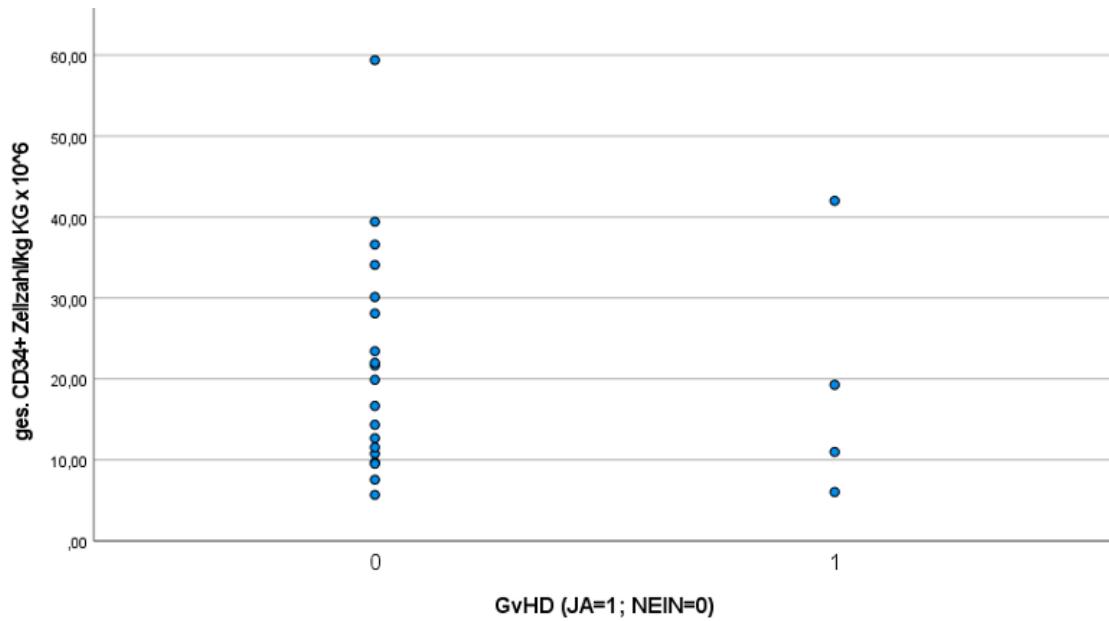


Abbildung 16 - Vergleich CD34+ Zellzahlen GvHD/ Nicht-GvHD Betroffener

Die Zahl der CD34+ Zellen bei PatientInnen mit GvHD (Mittelwert 19,6 Zellen/ kgKG x 10⁶ mit einer Standardabweichung von 15,9 und einem Median von 15,1 Zellen/ kgKG x 10⁶) ist annähernd gleich zu der der Transplantierten ohne GvHD (Mittelwert 21,8 Zellen/ kgKG x 10⁶ mit einer Standardabweichung von 13,7 und einem Median von 20,0 Zellen/ kgKG x 10⁶).

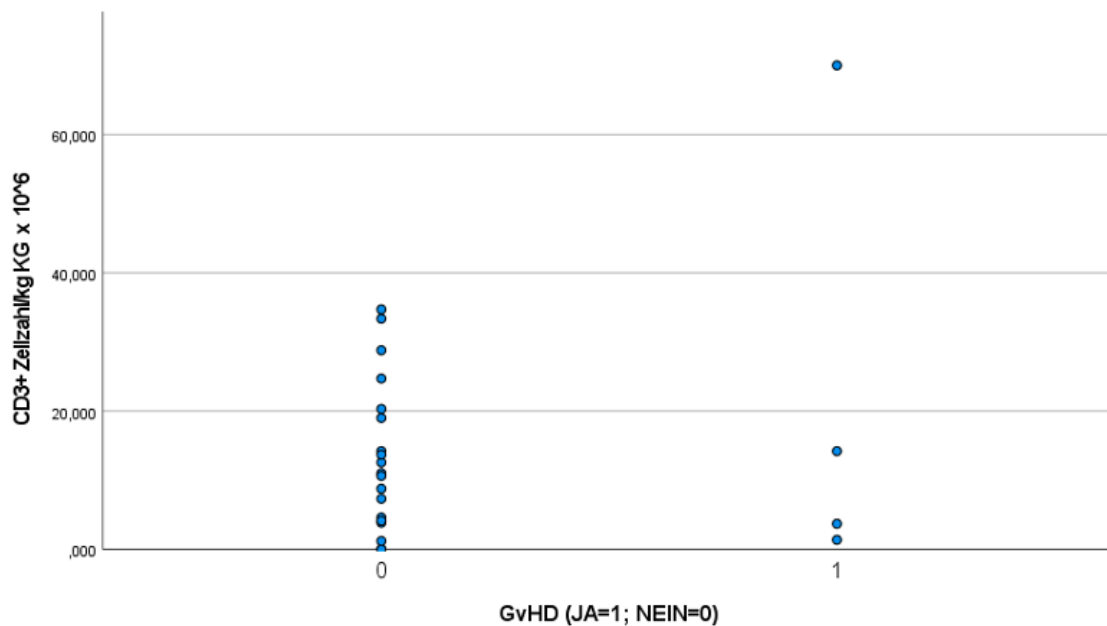


Abbildung 17 - Vergleich CD3+ Zellzahlen GvHD/ Nicht-GvHD Betroffener

Die mediane Zahl der CD3+ Zellen ist bei PatientInnen mit GvHD (Median 9,0 Zellen/ kgKG x 10⁶; Mittelwert 22,3 Zellen/ kgKG x 10⁶; Standardabweichung 32,3) etwas niedriger als bei jenen ohne GvHD (Median 11,0 Zellen/ kgKG x 10⁶; Mittelwert 13,3 Zellen/ kgKG x 10⁶; Standardabweichung 10,9).

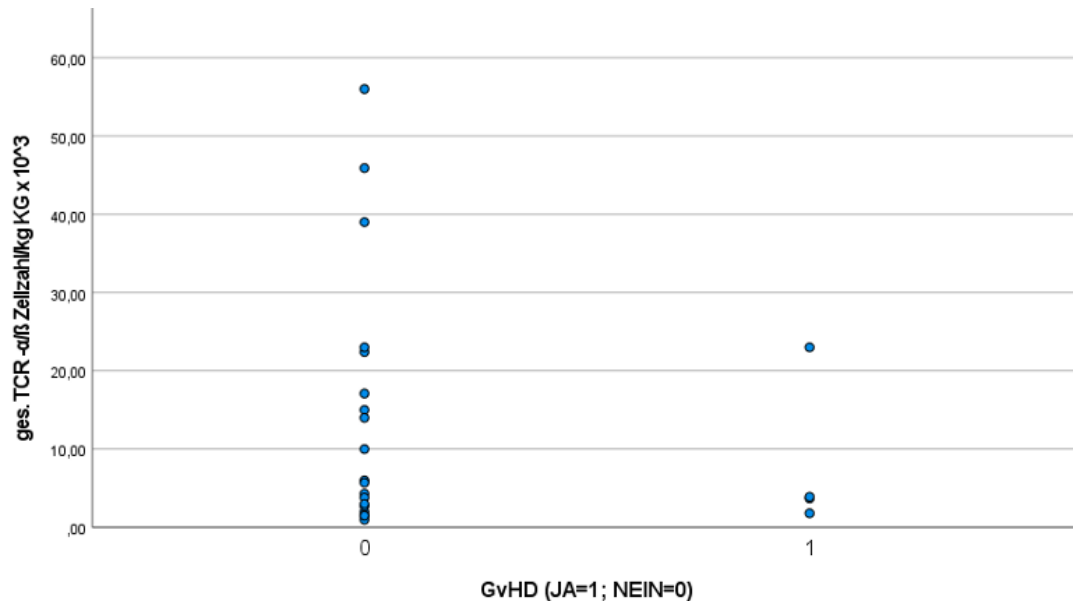


Abbildung 18 - Vergleich TCR- α/β Zellzahl GvHD/ Nicht-GvHD Betroffener

Der Mittelwert für die TCR- α/β Zellen beträgt für Betroffene mit GvHD 8,1 Zellen/ kgKG x 10³ und für nicht Betroffene 14,4 Zellen/ kgKG x 10³ mit einer Standardabweichung von 10,0 und 16,3. Der Median bei GvHD Betroffenen ist 3,8 Zellen/ kgKG x 10³ und bei nicht Betroffenen 6,0 Zellen/ kgKG x 10³.

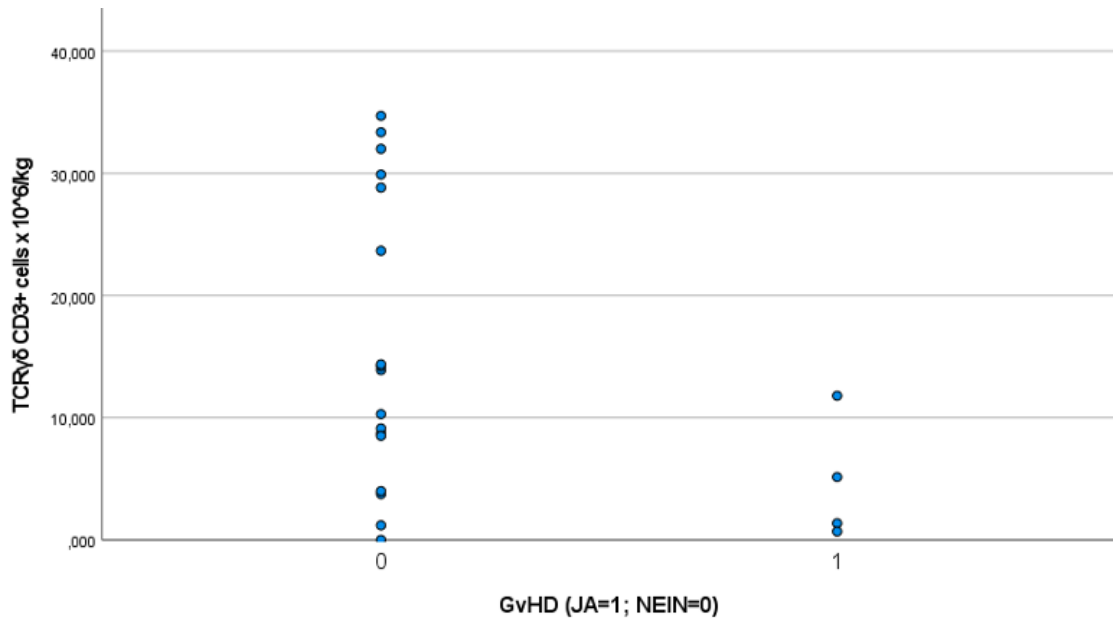


Abbildung 19 - Vergleich TCR gamma/delta Zellzahl GvHD/ Nicht-GvHD Betroffener

Bei den TCR- $\gamma\delta$ Zellen beträgt der Mittelwert bei den GvHD Betroffenen 4,7 Zellen/ kgKG x 10⁶, die Standardabweichung 5,1 und der Median 3,3 Zellen/ kgKG x 10⁶ und bei den nicht Betroffenen 16,0 Zellen/ kgKG x 10⁶, die Standardabweichung 12,0 und der Median 12,1 Zellen/ kgKG x 10⁶ wobei eine Patientin einen nicht messbaren Wert hatte. Hier lässt sich ebenfalls ein größerer Unterschied erkennen.

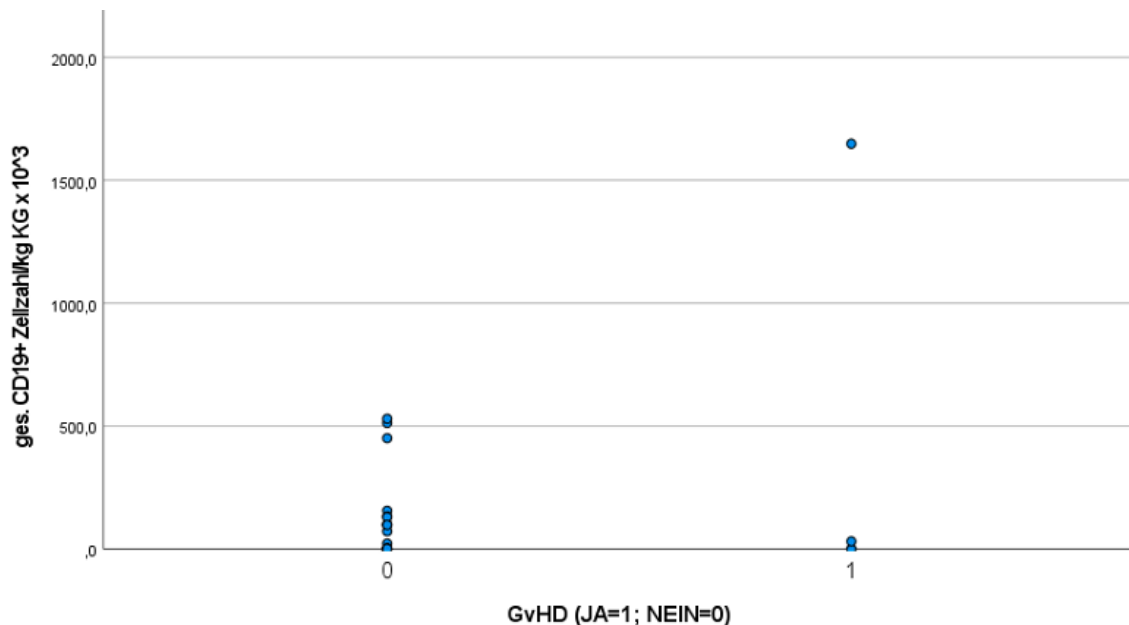


Abbildung 20 - Vergleich CD19+ Zellzahl GvHD/ Nicht-GvHD Betroffener

Von den 13 verfügbaren Werten bei den CD19+ Zellen bei nicht von GvHD Betroffenen findet sich ein Mittelwert von 177 Zellen/kgKG x 10³ mit einer Standardabweichung von 190 und einem Median von 100 Zellen/kgKG x 10³. Bei den GvHD Betroffenen ist der Mittelwert und Median bei 840 Zellen/kgKG x 10³ und die Standardabweichung beträgt 1144 bei nur zwei gemessenen Werten.

Ein t-Test bei unabhängigen Stichproben hat gezeigt, dass sich kein statistisch signifikanter Unterschied ($p > 0,05$) zwischen den Zellzahlen der GvHD-Gruppe und der Nicht-GvHD Gruppe findet. Die p-Werte betragen: CD3+ Zellen: $p=0,62$; CD 19+ Zellen: $p=0,56$; TCR- α/β Zellen: $p=0,47$; TCR- $\gamma\delta$ Zellen: $p=0,12$.

Mismatchlokus, Blutgruppen, Spendergeschlecht

Von den 4 Betroffenen mit GvHD hatten drei keinen und einer einen Mismatchlokus.

Bei den EmpfängerInnen gliedern sich die Blutgruppen der GvHD Betroffenen in zwei O+, jeweils ein A+ und AB+ auf. Die SpenderInnen dieser vier Betroffenen haben alle die Blutgruppe O+, somit ist bei zweien die Blutgruppe SpenderIn/EmpfängerIn identisch. GvHD trat nur bei O+ SpenderInnen auf.

Die weibliche GvHD Betroffene erhielt eine Stammzellspende von ihrer Schwester, die drei männlichen Betroffenen erhielten MUD SCTX von männlichen Spendern.

CMV Status

Bezüglich des CMV Status waren bei den GvHD Betroffenen jeweils einer von 4 EmpfängerIn/ SpenderIn positiv, wobei ein negativer Empfänger eine CMV positive Spende erhielt und ein positiver Empfänger eine CMV negative Spende.

Von den Transplantierten waren von den Empfangenden 9 positiv und 9 negativ und ein Status unklar, von den Spendenden waren 10 positiv und 8 negativ, bei dem unklaren Befund war die Spende negativ.

Bei den GvHD Betroffenen waren 50% bezüglich des CMV Status gematched, bei den nicht Betroffenen 83%.

Bei den CMV negativen EmpfängerInnen entwickelten 3 von 12 eine GvHD (25%), bei den CMV Positiven 1 von 10 (10%).

Follow Up, DFS, OS

Der mediane Follow Up für die PatientInnen ohne GvHD waren 31 Monate, gestorbene ausgeschlossen waren es 37 Monate. Analog betrug die beobachtete Gesamtüberlebenszeit 2,9 Jahre, nur bei den Überlebenden 3,1 Jahre.

Für GvHD Betroffene war das Follow Up 56 Monate, bei einer beobachteten Überlebensdauer von 56 Monaten.

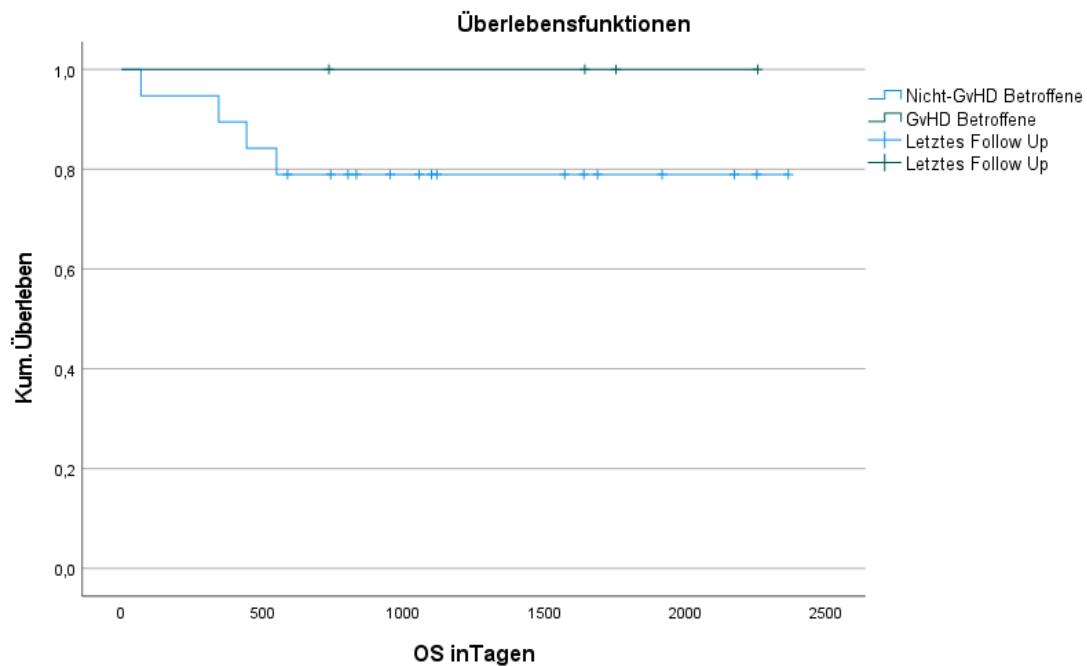


Abbildung 21 - Gesamtüberleben GvHD/ Nicht-GvHD Betroffener

Die Kaplan-Meier-Kurve stellt das Gesamtüberleben von GvHD-Betroffenen vs Nicht-GvHD Betroffenen dar. Es sind keine GvHD Betroffenen verstorben.

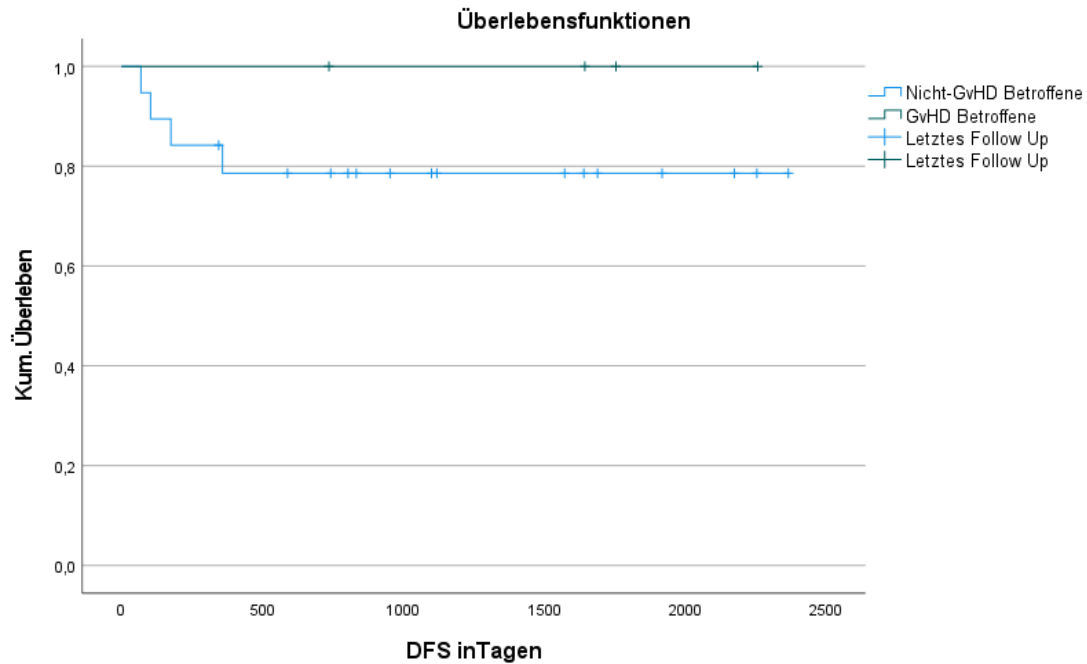


Abbildung 22 - Krankheitsfreies Überleben GvHD/ Nicht-GvHD Betroffener

Die Abbildung zeigt das Rezidivaufreten der Grunderkrankung bei Nicht-GvHD PatientInnen im Vergleich zu GvHD PatientInnen. Bei letzteren trat kein Rezidiv auf.

Infektionen

Bei Transplantierten ohne GvHD waren 7 Personen mit transplantationsassoziierten Infektionen betroffen, im Einzelnen dreimal mit Cytomegalievirus, einmal mit Epstein-Barr-Virus, dreimal mit Varicella-Zoster-Virus und zweimal mit Adenovirus. Kombinationen traten auf von EBV und VZV, sowie ADV und CMV.

Bei GvHD Betroffenen traten alle 4 obengenannten Viren einmal auf, wobei einmal VZV auftrat und einmal eine dreifach Virusreaktivierung mit EBV, CMV und ADV.

Insgesamt lag das Risiko in der Untersuchung für das Auftreten von CMV bei 17%, für EBV bei 9%, für VZV bei 17% und für ADV bei 13%.

4 Diskussion

Die Arbeit beschäftigt sich mit der Gruppe der Stammzelltransplantierten.

Es sind Personen eingeschlossen, die sowohl aufgrund maligner und nichtmaligner Indikationen eine hämatopoetische Stammzelltransplantation benötigten, im Gegensatz zu manchen Studien, in denen getrennt nach malignen und nichtmalignen Erkrankungen untersucht wurde.

In dieser Untersuchung überwiegt der männliche Anteil geringfügig, dies deckt sich mit Angaben in der Literatur (28).

Bei der Gewichtsverteilung gibt es bis auf einige geringgradig übergewichtige Kinder und drei untergewichtige Kinder aufgrund der Schwere ihrer Erkrankung keine Auffälligkeiten. Der Remissionsstatus vor Transplantation von 82% im gemischten Klientel steht in gutem Einklang mit zum Beispiel 68% in Remission nach 5 Jahren bei malignen Erkrankungen (29).

Zu der Vorbehandlung lässt sich sagen, dass zumindest alle Kinder mit malignen Erkrankungen eine Vortherapie benötigen, um im Idealfall in Remission transplantiert zu werden. Bei PatientInnen mit Immundefekten werden viele begleitende Therapien wie etwa Enzymersatztherapien und Chemotherapien von Infektionen notwendig. Dies erklärt die Rate von 83% Vorbehandlungen.

Bezüglich der Blutgruppe ist festzuhalten, dass alle vier Verstorbenen ein Mismatch aufwiesen. Auch in der Literatur zeigte sich ein möglicher Zusammenhang zwischen ABO-Inkompatibilität und Todesfällen (30). In einer anderen Studie (31) zeigten sich widersprüchliche Ergebnisse, der Blutgruppenmismatch führte zu einer geringeren Inzidenz der chronischen GvHD, während er die Inzidenz einer akuten GvHD begünstigte. In einer großen pädiatrischen Analyse zeigten sich drei unabhängige Risikofaktoren: SpenderIn kein HLA identisches Geschwister, GvHD Prophylaxe mit nur einem Medikament (CycA, MTX) und Blutgruppeninkompatibilität. Den größten Einfluss hatte die Blutgruppeninkompatibilität (32).

So gab es keine GvHD bei 258 PatientInnen ohne einen der drei oben genannten Risikofaktoren und bei Vorhandensein aller drei trat eine GvHD in zwei Dritteln der Fälle auf.

Während in einer Studie (33) das Geschlecht von EmpfängerIn und SpenderIn bei 163 pädiatrischen PatientInnen keine Rolle spielt, zeigte sich in einer anderen Untersuchung

(34) eines gemischten Klientels, dass single nucleotide Polymorphismen in 4 Genen auf dem Y-Chromosom eine akute GvHD bei männlichen Patienten mit weiblichen Spenderinnen assoziieren. Bei den Untersuchten findet sich eine Konstellation mit einem männlichen Empfänger und einer weiblichen Spenderin, bei dem es zur GvHD kam.

Während in der Literatur ein Mismatch, insbesondere bei HLA-C als Risikofaktor für GvHD möglich ist (35), fand sich bei den Untersuchten mit GvHD nur in einem Fall ein Mismatchlokus.

Bezüglich des CMV Status zeigt sich bei den vier CMV Reaktivierungen, dass alle EmpfängerInnen positiv waren und drei von vier SpenderInnen. Eine Arbeit zeigt, dass eine Prophylaxe mit Letemovir die Reaktivierung des CMV vermindern kann (36). Ein besonderes Risiko besteht sowohl für primär CMV positive EmpfängerInnen als auch für die Situation, dass bei primär CMV Negativen ein CMV positives Transplantat zum Einsatz kommt (37).

Die medianen Zellzahlen von CD 34+ Zellen in der Untersuchung betragen 19,3 (5,7-59,4) Zellen/kgKG x 10⁶, was mit der Literatur, wie zum Beispiel bei (38) mit 14,9x10⁶ (4,1-47,0) Zellen/kgKG vergleichbar ist.

Bei der CD 3+ Zellzahl ist ein größerer Unterschied zu erkennen. In der eigenen Fallgruppe lag der mediane Wert bei 11,0 (0,001-70) Zellen/kgKG x 10³, in der Studie (29) liegt er bei 6,1 (0,3-26) Zellen/kgKG x 10³.

Der mediane Wert der TCR α/β Zellen liegt bei 5,7 (0,97-56,0) Zellen/kg KG x 10³. In der bereits oben genannten Studie (38) ist der Wert 16,9 (4,0-56,0) x 10³ Zellen/kgKG, was sich doch deutlich höher zeigt. Somit kann man sagen, dass die α/β Depletion in der untersuchten Gruppe durchaus positiv auffällt.

Die Dauer der Immunsuppression mit einem medianen Wert von 56 Tagen (24-222) zeigt sich ähnlich zu einer Arbeit (39). Hier wurde bei pädiatrischen PatientInnen, die eine Kombination aus Calcineurin Inhibitor und MMF bekommen hatten, nach 45 Tagen bzw spätestens einem Jahr (ohne GvHD) nach Transplantation die Immunsuppression abgesetzt.

In einer randomisierten Phase 3 Studie mit Erwachsenen (40) hat sich gezeigt, dass die Gruppe, die als Medikation zur Immunsuppression Cyclophosphamid/ Tacrolimus/ Mycophenolat Mofetil bekam, im Vergleich zu der Gruppe mit Standardmedikation Tacrolimus/ Methotrexat ein signifikant niedriges Risiko für GvHD und ein besseres Outcome bezüglich rezidivfreiem 1-Jahresüberleben hatte.

Das beobachtete Gesamtüberleben für 1 Jahr betrug 91%, in einer vergleichbaren Studie mit nur haploidenten SZT betrug sie 51% (Lang et al.) (38) und in einer anderen haploidenten und ohne CD19 Depletion beobachteten Studie 54% (Kaynar et al.) (41). In einer Untersuchung (Balashov et al.) mit haploidenten und unverwandten SpenderInnen betrug das 1-Jahresüberleben 97% (42). Das 2-Jahresüberleben zeigte sich in der Untersuchung mit 82%, in einer vergleichbaren Studie mit haploidenten und unverwandten Transplantation bei Kindern mit AML (Maschan et al.) lag dieses bei 67% (43), in einer anderen Studie bei Kindern mit nichtmalignen Grunderkrankungen (Bertaina et al.) lag es bei 91% (44).

In all diesen Studien wurde, sofern nicht anders erwähnt, eine α , β und CD19 Depletion durchgeführt.

Bezüglich des krankheitsfreien Überlebens hat sich in der Untersuchung gezeigt, dass bei 22% ein Rezidiv auftrat. Diese Zahl ist identisch mit einer anderen Untersuchung (Gonzalez et al.) bei Kindern mit Hochrisiko Leukämien (45) und liegt im Bereich (3%-58%) der bei (21) zitierten Studien.

In der Untersuchung gab es kein Transplantatversagen, in der Zusammenfassung bei (21) war dies lediglich bei einer von sieben Studien der Fall.

Eine GvHD entwickelten in der vorliegenden Untersuchung 17% akut und 9% chronisch. In einer Vergleichsuntersuchung zeigten zwischen 3 und 38% mit einem Mittelwert von 23% eine akute und von 0 und 30% mit einem Mittelwert von 14% eine chronische GvHD (21). Alle PatientInnen der Studie konnten behandelt werden, nur zwei entwickelten ein chronisches Stadium, wobei es bei einer Patientin eine limitierte Form war.

Die Anzahl der CD 34+ Zellen war bei PatientInnen mit GvHD (15,1) etwas niedriger als bei PatientInnen ohne GvHD (20,0).

Die Anzahl der T-Zellen (CD3+) ist in der Untersuchung mit 9,0 bei PatientInnen mit GvHD annähernd gleich wie bei denen ohne (11,0). In einer Studie zeigt sich eine leichte Tendenz, bei der 15000 Zellen/kg mit GvHD versus 5000 Zellen/kg ohne GvHD gemessen wurden (46).

Die Depletion der alpha beta Zellen in der Untersuchung ist gut gelungen, sie liegt im unteren Bereich der sechs Vergleichsgruppen bei (21) (Range $10,6 \times 10^3$ bis 11×10^4).

Sowohl die alpha beta Zellen wie auch die gamma delta Zellen bei den GvHD PatientInnen waren niedriger als bei den nicht von GvHD Betroffenen. Hier würde man auch eine

erhöhte Anzahl von alpha und beta Zellen erwarten, jedoch zeigte auch die Arbeit (47) keinen Zusammenhang zwischen alpha beta Zellen und GvHD.

Bei der Betrachtung der CD 19+ Zellen zeigt sich, dass die Patientin mit dem höchsten gemessenen Wert eine limitierte chronische GvHD aufweist.

Der durchgeführte t-Test für den Gruppenvergleich GvHD Betroffener vs Nicht-GvHD Betroffener ist kritisch zu betrachten, da die Gruppengröße mit 4 vs 19, teilweise 2 vs 17 gering ist.

Bei allen GvHD PatientInnen dieser Untersuchung war die Spenderblutgruppe 0. Als einzigen Hinweis fand sich eine Studie bei Erwachsenen mit SpenderIn/ EmpfängerIn Inkompatibilität für die Blutgruppe 0, hier ergab sich ein höheres Risiko (hazard ratio 2,7) für thromboembolische Ereignisse bei chronischer GvHD (48).

In der untersuchten Gruppe ist die GvHD bei CMV Negativen mit 25% höher als bei CMV Positiven mit 10% aufgetreten. In einer Studie zeigte sich bei Erwachsenen eine geringere Wahrscheinlichkeit für CMV Negative (49).

Die Häufigkeit des Auftretens einer CMV Infektion beträgt in einer Literaturübersicht in etwa 50% bei vier Arbeiten (21) und damit mehr als in der Untersuchung mit 9%. Die EBV Infektion war in einer Studie 50% (43) und somit auch deutlich höher als in der untersuchten Gruppe (9%). Ein potentieller Zusammenhang mit der differenzierten Immunrestitution nach vorangegangener CD 3 Depletion und intensitätsreduzierter Konditionierung scheint eine Verringerung der Virusinfektionen zu bewirken wie in der Untersuchung (50) gezeigt wird.

Literaturverzeichnis

1. Arastéh K, Baenkler H-W, Bieber C, al. E. Innere Medizin. Duale Reihe Innere Medizin. 4., überarbeitete Auflage ed: Georg Thieme Verlag KG; 2018.
2. Hof H, Schlüter D. Medizinische Mikrobiologie. Duale Reihe Medizinische Mikrobiologie. 8. unveränderte Auflage ed: Georg Thieme Verlag KG; 2022.
3. Pezzutto A, Ulrichs T, Burmester G-R. Taschenatlas der Immunologie: Grundlagen, Labor, Klinik: Georg Thieme Verlag; 2007.
4. Speckmann E-J, Hescheler J, Köhling R. Physiologie Das Lehrbuch. 7. Auflage ed: Elsevier GmbH, Deutschland; 2019.
5. Fluhner R, Hampe W. Biochemie und Molekularbiologie hoch 2. 2. Auflage ed: Elsevier GmbH, Deutschland; 2023.
6. Siu JHY, Surendrakumar V, Richards JA, Pettigrew GJ. T cell Allorecognition Pathways in Solid Organ Transplantation. *Front Immunol.* 2018;9:2548.
7. Hallbach J. Klinische Chemie und Hämatologie. 3., überarbeitete Auflage ed: Georg Thieme Verlag KG; 2011.
8. Gessner AM, Arndt T. Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. 3. Auflage ed: Springer, Berlin, Heidelberg; 2019.
9. Abel AM, Yang C, Thakar MS, Malarkannan S. Natural Killer Cells: Development, Maturation, and Clinical Utilization. *Front Immunol.* 2018;9:1869.
10. SGE Marsh EA, WF Bodmer, RE Bontrop, B Dupont, HA Erlich, M Fernández-Vina, DE Geraghty, R Holdsworth, CK Hurley ML, KW Lee, B Mach, WR Mayr, M Maiers, CR Müller, P Parham, EW Petersdorf, T Sasazuki, JL Strominger, A Svejgaard PT, JM Tiercy, J Trowsdale. Nomenclature for factors of the HLA system 2010 [Available from: <https://hla.alleles.org/nomenclature/index.html>].
11. Niemeyer C, Eggert A. Pädiatrische Hämatologie und Onkologie. 2., vollständig überarbeitete Auflage ed: Springer-Verlag GmbH GDeutschland; 2018.
12. Passweg JR, Baldomero H, Bader P, Bonini C, Cesaro S, Dreger P, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014: more than 40 000 transplants annually. *Bone Marrow Transplant.* 2016;51(6):786-92.
13. Chen SH, Wang TF, Yang KL. Hematopoietic stem cell donation. *Int J Hematol.* 2013;97(4):446-55.
14. Information über Stammzellspende: Bundesministerium für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz (BMSGPK); [updated 21. Dezember 2021. Available from: <https://www.gesundheit.gv.at/gesundheitsleistungen/stammzellregister/information-stammzellspende.html>].
15. Österreichisches Stammzellregister: Gesundheit Österreich GmbH [Available from: https://goeg.at/Oesterreichisches_Stammzellregister].
16. World Marrow Donor Association (WMDA) 2023 [Available from: <https://wmda.info>].
17. Possinger K, Regierer AC, Eucker J. Facharztwissen Hämatologie Onkologie. 5. Auflage ed: Elsevier GmbH, Deutschland; 2020.
18. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *Lancet.* 2009;373(9674):1550-61.
19. Hill GR, Betts BC, Tkachev V, Kean LS, Blazar BR. Current Concepts and Advances in Graft-Versus-Host Disease Immunology. *Annu Rev Immunol.* 2021;39:19-49.
20. Gatzka E, Reddy P, Choi SW. Prevention and Treatment of Acute Graft-versus-Host Disease in Children, Adolescents, and Young Adults. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020;26(5):e101-e12.

21. Abdelhakim H, Abdel-Azim H, Saad A. Role of alphabeta T Cell Depletion in Prevention of Graft versus Host Disease. *Biomedicines*. 2017;5(3).
22. Zeiser R, Dreger P, Finke J, Greinix H, Holler E, Luft T, et al. Leitlinien zur allogenen Stammzelltransplantation von der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Knochenmark- und Blutstammzelltransplantationen (DAG-KBT) [updated Stand November 2016. Version 2 [Available from: https://www.dag-hszt.de/files/downloads/Leitlinien_Kap-09_GvHD-Prophylaxe%20und%20Therapie.pdf.
23. INSERM US14 CAR, Director of Service N° 14. orphanet website: Institut national de la santé et de la recherche médicale, 96, rue Didot, 75014 Paris, Frankreich; [Available from: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=DE&data_id=112.
24. Michniacki TF, Choi SW, Peltier DC. Immune Suppression in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Handb Exp Pharmacol*. 2022;272:209-43.
25. Haddad IY. Stem cell transplantation and lung dysfunction. *Curr Opin Pediatr*. 2013;25(3):350-6.
26. Dvorak CC, Gracia CR, Sanders JE, Cheng EY, Baker KS, Pulsipher MA, et al. NCI, NHLBI/PBMTC first international conference on late effects after pediatric hematopoietic cell transplantation: endocrine challenges-thyroid dysfunction, growth impairment, bone health, & reproductive risks. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011;17(12):1725-38.
27. Majhail NS. Long-term complications after hematopoietic cell transplantation. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. 2017;10(4):220-7.
28. de Oliveira da Silva P, Orlandini GM, Paz A, Dillenburg CS, Michalowski MB, Daudt LE. Impact of allogeneic stem cell transplantation in childhood and adolescence on quality of adulthood life: A case-control study. *Pediatr Transplant*. 2022;26(7):e14330.
29. Seitz CM, Eyrich M, Greil J, Schlegel P, Feuchtinger T, Bader P, et al. Favorable immune recovery and low rate of GvHD in children transplanted with partially T cell-depleted PBSC grafts. *Bone Marrow Transplant*. 2019;54(1):53-62.
30. Ataca Atilla P, Akkus E, Atilla E, Gokmen N, Civriz Bozdog S, Kocak Toprak S, et al. Effects of ABO incompatibility in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transfus Clin Biol*. 2020;27(3):115-21.
31. Yang N, Guan L, Liu Z, Ding Y, Zhu C, Luo L, et al. ABO Blood Type Incompatibility Is Not a Risk Factor of Outcomes for Acute Myeloid Leukemia (AML) Patients After Unmanipulated Haplo-identical Peripheral Blood Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Ann Transplant*. 2019;24:350-8.
32. Svennilson J, Remberger M, Ringden O. Risk factors for moderate-to-severe acute graft-vs.-host disease after allogeneic stem cell transplantation in children. *Pediatr Transplant*. 2003;7(2):130-6.
33. Wang Z, Tao F, Tang W, Nie YM, Yang L, Chen Z, et al. [Clinical Study of Intestinal Acute Graft-Versus-Host Disease after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2022;30(2):600-6.
34. Wang W, Huang H, Halagan M, Vierra-Green C, Heuer M, Brelsford JE, et al. Chromosome Y-encoded antigens associate with acute graft-versus-host disease in sex-mismatched stem cell transplant. *Blood Adv*. 2018;2(19):2419-29.
35. Fuchs EJ, McCurdy SR, Solomon SR, Wang T, Herr MR, Modi D, et al. HLA informs risk predictions after haploidentical stem cell transplantation with posttransplantation cyclophosphamide. *Blood*. 2022;139(10):1452-68.
36. Richert-Przygonska M, Jaremek K, Debski R, Konieczek J, Lecka M, Dziedzic M, et al. Letemovir Prophylaxis for Cytomegalovirus Infection in Children After Hematopoietic Cell Transplantation. *Anticancer Res*. 2022;42(7):3607-12.

37. Kotton CN, Torre-Cisneros J, International CMV SF, Aguado JM, Alain S, Baldanti F, et al. Cytomegalovirus in the transplant setting: Where are we now and what happens next? A report from the International CMV Symposium 2021. *Transpl Infect Dis.* 2022;24(6):e13977.
38. Lang P, Feuchtinger T, Teltschik HM, Schwinger W, Schlegel P, Pfeiffer M, et al. Improved immune recovery after transplantation of TCRalpha/beta/CD19-depleted allografts from haploidentical donors in pediatric patients. *Bone Marrow Transplant.* 2015;50 Suppl 2:S6-10.
39. King AA, Kamani N, Bunin N, Sahdev I, Brochstein J, Hayashi RJ, et al. Successful matched sibling donor marrow transplantation following reduced intensity conditioning in children with hemoglobinopathies. *Am J Hematol.* 2015;90(12):1093-8.
40. Bolanos-Meade J, Hamadani M, Wu J, Al Malki MM, Martens MJ, Runaas L, et al. Post-Transplantation Cyclophosphamide-Based Graft-versus-Host Disease Prophylaxis. *N Engl J Med.* 2023;388(25):2338-48.
41. Kaynar L, Demir K, Turak EE, Ozturk CP, Zararsiz G, Gonen ZB, et al. TCRalpha/beta-depleted haploidentical transplantation results in adult acute leukemia patients. *Hematology.* 2017;22(3):136-44.
42. Balashov D, Shcherbina A, Maschan M, Trakhtman P, Skvortsova Y, Shelikhova L, et al. Single-Center Experience of Unrelated and Haploidentical Stem Cell Transplantation with TCRalpha/beta and CD19 Depletion in Children with Primary Immunodeficiency Syndromes. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015;21(11):1955-62.
43. Maschan M, Shelikhova L, Ilushina M, Kurnikova E, Boyakova E, Balashov D, et al. TCR-alpha/beta and CD19 depletion and treosulfan-based conditioning regimen in unrelated and haploidentical transplantation in children with acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 2016;51(5):668-74.
44. Bertaina A, Merli P, Rutella S, Pagliara D, Bernardo ME, Masetti R, et al. HLA-haploidentical stem cell transplantation after removal of alpha/beta+ T and B cells in children with nonmalignant disorders. *Blood.* 2014;124(5):822-6.
45. Gonzalez M, Molina B, Deltoro M, Sevilla J, Ramirez M, Diaz MA. Haploidentical Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HaploHSCT) using TCRAB/CD19 depleted grafts in children with high-risk leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2017;23:S61-S2.
46. Lang P, Klingebiel T, Bader P, Greil J, Schumm M, Schlegel PG, et al. Transplantation of highly purified peripheral-blood CD34+ progenitor cells from related and unrelated donors in children with nonmalignant diseases. *Bone Marrow Transplant.* 2004;33(1):25-32.
47. Shah RM, Elfeky R, Nademi Z, Qasim W, Amrolia P, Chiesa R, et al. T-cell receptor alpha/beta(+) and CD19(+) cell-depleted haploidentical and mismatched hematopoietic stem cell transplantation in primary immune deficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2018;141(4):1417-26 e1.
48. El Jurdi N, Elhusseini H, Beckman J, DeFor TE, Okoev G, Rogosheske J, et al. High incidence of thromboembolism in patients with chronic GVHD: association with severity of GVHD and donor-recipient ABO blood group. *Blood Cancer J.* 2021;11(5):96.
49. Mehdizadeh M, Parkhideh S, Salari S, Roshandel E, Kazemi MH, Bonakchi H, et al. Risk Factors of Graft-Versus-Host Disease in the Iranian Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A 10-Year Experience. *Med J Islam Repub Iran.* 2021;35:145.
50. Chen X, Hale GA, Barfield R, Benaim E, Leung WH, Knowles J, et al. Rapid immune reconstitution after a reduced-intensity conditioning regimen and a CD3-depleted haploidentical stem cell graft for paediatric refractory haematological malignancies. *Br J Haematol.* 2006;135(4):524-32.