

**Aus der Medizinischen Klinik III - Hämatologie, Onkologie und Palliativmedizin
des Zentrums für Innere Medizin der
Medizinischen Fakultät der Universität Rostock
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. Mathias Freund**

**Dosiseskalation der toxisitätsreduzierten
Konditionierungstherapie mit Treosulfan und
Fludarabin vor allogener Stammzelltransplantation**

**Inauguraldissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin
der Universitätsmedizin Rostock**

vorgelegt von
Friederike Endler,
geboren am 27.04.1985 in Brandenburg an der Havel

Rostock 2012

Dekan: Prof. Dr. med. Emil Christian Reisinger

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Mathias Freund
Zentrum für Innere Medizin, Medizinische Klinik III - Hämatologie,
Onkologie und Palliativmedizin, Universitätsmedizin Rostock

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Jochen Casper
Klinik für Innere Medizin II - Onkologie/ Hämatologie, Klinikum
Oldenburg

3. Gutachter: Prof. Dr. med. Daniel Wolff
Klinik und Poliklinik für Innere Medizin III - Hämatologie und
Internistische Onkologie, Universitätsklinikum Regensburg

Datum der Einreichung: 26. November 2012

Datum der Verteidigung: 06. August 2013

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis	VIII
Tabellenverzeichnis	IX
1 Einleitung	1
1.1 Hämatopoetische Stammzelltransplantation	1
1.2 Konventionelle allogene Stammzelltransplantation	2
1.3 Entwicklung intensitätsreduzierter Konditionierungsprotokolle vor allogener Transplantation	4
1.3.1 Pathophysiologie der GvHD	4
1.3.2 Vom GvL-Effekt zur intensitätsreduzierten Konditionierungstherapie	7
1.4 Treosulfan in der Konditionierungstherapie vor einer Stammzelltransplantation	8
1.4.1 Eigenschaften von Treosulfan	8
1.4.2 Treosulfan in tierexperimentellen Studien	9
1.4.3 Erfahrungen mit Treosulfan vor autologer Stammzelltransplantation	11
1.5 Die Konditionierungstherapie mit Treosulfan in Kombination mit Fludarabin vor allogener Stammzelltransplantation	12
1.6 Fragestellung und Zielsetzung der vorliegenden Arbeit	14
2 Material und Methoden	16
2.1 Patientenkollektiv	16
2.2 Datenerfassung	17
2.3 Evaluation der Komorbiditäten	18
2.4 Allogene Stammzelltransplantation	19
2.4.1 Spenderauswahl	19
2.4.2 Konditionierungstherapie	20
2.4.3 Supportive Therapie	20
2.4.4 GvHD-Prophylaxe	21
2.5 Evaluation der Toxizität	21
2.6 Engraftment	22
2.7 Chimärismus-Analyse	22
2.8 Akute und chronische GvHD	23
2.9 Überleben	24
2.10 Auswertung und Statistik	25
3 Ergebnisse	27
3.1 Patientenkollektiv	27
3.2 Komorbiditäten	28
3.3 Toxizität vor Beginn der Konditionierungstherapie	30
3.3.1 Gastrointestinaltrakt	30
3.3.2 Herz-Kreislauf-System	30
3.3.3 Respirationstrakt	30
3.3.4 Haut	30
3.3.5 Allgemeinsymptome	31
3.3.6 Infektionen	31
3.3.7 Schmerzen	31
3.3.8 Laborparameter	31
3.3.9 Grad 3 und 4 Toxizitäten vor Beginn der Konditionierungstherapie	31
3.4 Toxizität seit Beginn der Konditionierungstherapie	32

3.4.1	Gastrointestinaltrakt	32
3.4.2	Herz-Kreislauf-System	34
3.4.3	Respirationstrakt	34
3.4.4	Haut.....	34
3.4.5	Allgemeinsymptome	34
3.4.6	Vaskuläres System.....	34
3.4.7	Lymphatisches System	34
3.4.8	Infektionen.....	35
3.4.9	Schmerzen	35
3.4.10	Laborparameter.....	35
3.5	Toxizität durch die Konditionierungstherapie mit Treosulfan	36
3.5.1	Gastrointestinaltrakt.....	37
3.5.2	Herz-Kreislauf-System	38
3.5.3	Respirationstrakt.....	38
3.5.4	Haut	39
3.5.5	Allgemeinsymptome	39
3.5.6	Vaskuläres System	39
3.5.7	Lymphatisches System.....	39
3.5.8	Infektionen	40
3.5.9	Schmerzen.....	40
3.5.10	Laborparameter	41
3.6	Engraftment.....	41
3.6.1	Engraftment der Leukozyten	41
3.6.2	Engraftment der neutrophilen Granulozyten.....	42
3.6.3	Engraftment der Thrombozyten.....	42
3.7	Chimärismus	45
3.8	GvHD	46
3.8.1	Akute GvHD.....	46
3.8.2	Chronische GvHD	48
3.9	Überleben.....	49
3.9.1	OS	49
3.9.2	EFS.....	52
3.9.3	NRM	54
4	Diskussion.....	56
4.1	Dosiseskalation der toxizitätsreduzierten Konditionierung mit Treosulfan und Fludarabin vor allogener HSZT	56
4.2	Engraftment und Chimärismus.....	58
4.3	Konditionierungsbedingte extrahämatologische Toxizität.....	60
4.3.1	Gesamthäufigkeit extrahämatologischer Grad 3 und 4 Toxizitäten	60
4.3.2	Gastrointestinale Toxizität und Hauttoxizität	62
4.3.3	Weitere extrahämatologische Toxizitäten.....	63
4.4	GvHD	63
4.4.1	Akute GvHD	63
4.4.2	Chronische GvHD	64
4.5	Therapieassoziierte Mortalität	65
4.6	Rezidivrate und Gesamtüberleben	66
4.7	Methodenkritik.....	68
5	Zusammenfassung	70
6	Thesen	72
7	Literaturverzeichnis.....	75
8	Anhang	87
	Danksagung	105

Selbstständigkeitserklärung.....	106
---	------------

Abkürzungsverzeichnis

AGIHO	Arbeitsgruppe Infektionen in der Hämatologie und Onkologie
aGvHD	<i>acute graft-versus-host-disease</i> = akute Transplantat-gegen-Wirt-Erkrankung
ALAT	Alaninaminotransferase
ALL	akute lymphatische Leukämie
AML	akute myeloische Leukämie
ANZ	absolute Neutrophilenzahl
AP	Alkalische Phosphatase
APC	aktiviertes Protein C
APZ	Antigenpräsentierende Zelle
art.	arteriell(e)
ASAT	Aspartataminotransferase
ATG	Anti-Thymozyten-Globulin
BMI	<i>Body mass index</i>
BS	Blastenschub
bzw.	beziehungsweise
Ca ²⁺	Kalzium
cGvHD	<i>chronic graft-versus-host-disease</i> = chronische Transplantat-gegen-Wirt-Erkrankung
Chim.	Chimärismus
CLL	chronische lymphatische Leukämie
CML	chronische myeloische Leukämie
CMV	Zytomegalievirus
CP	chronische Phase
CR	<i>complete remission</i> = komplette Remission
Crea	Kreatinin
CSA	Ciclosporin A
CTC	<i>Common Toxicity Criteria</i> = Allgemeine Toxizitätskriterien
CTCAE	<i>Common Toxicity Criteria of Adverse Events</i> = Allgemeine Toxizitätskriterien unerwünschter Ereignisse
CVE	zerebrovaskuläre Erkrankung
d	Tag
DGHO	Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie
DIC	<i>disseminated intravascular coagulation</i> = disseminierte intravasale Gerinnung

DLI	<i>donor lymphocyte infusion</i> = Spenderlymphozytentransfusion
D. m.	Diabetes mellitus
EFS	<i>event-free survival</i> = ereignisfreies Überleben
EK	Erythrozytenkonzentrat
FAI	Fludarabin, Cytarabin und Idarubicin
FB	Fludarabin und Busulfan
FEV1	forcierte Einsekundenkapazität
FM	Fludarabin und Melphalan
G – CSF	<i>granulocyte-colony-stimulating factor</i> = Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor
GGT	Gammaglutamyl-Transpeptidase
GIT	Gastrointestinaltrakt
Gpt/l	Gigapartikel pro Liter ($\times 10^9/l$)
GvH	<i>graft-versus-host</i> = Transplantat gegen Wirt
GvHD	<i>graft-versus-host-disease</i> = Transplantat-gegen-Wirt-Erkrankung
GvL-Effekt	<i>graft-versus-leukaemia-effect</i> = Transplantat-gegen-Leukämie-Effekt
GvT-Effekt	<i>graft-versus-tumor-effect</i> = Transplantat-gegen-Tumor-Effekt
Gy	<i>Gray</i> = SI-Einheit der durch ionisierende Strahlung verursachten Energiedosis
HCT–CI	<i>Hematopoietic Cell Transplantation-specific Comorbidity Index</i> = spezifischer Komorbiditätsindex für die hämatopoetische Stammzelltransplantation
HKE	Herzklappenerkrankung
HLA	Humane Leukozytenantigene
HSZT	hämatopoetische Stammzelltransplantation
HvG	<i>host-versus-graft</i> = Wirt-gegen-Transplantat
IDE	inflammatorische Darmerkrankung
IFN	Interferon
INR	International Normalized Ratio
i. S.	im Serum
i. v.	intravenös
J.	Jahre
K ⁺	Kalium
KG	Körpergewicht
KHK	Koronare Herzkrankheit
KM	Knochenmark
KÖF	Körperoberfläche

MDS	Myelodysplastisches Syndrom
Mg ²⁺	Magnesium
MHC	Majorhistokompatibilitäts-Komplex
mis MUD	<i>mismatched-unrelated donor</i> = nicht-HLA-identer unverwandter Spender
MM	Multiplles Myelom
MMF	Mycophenolat Mofetil
MRD	<i>matched-related donor</i> = HLA-identer verwandter Spender
MTX	Methotrexat
MUD	<i>matched-unrelated donor</i> = HLA-identer unverwandter Spender
Na ⁺	Natrium
n. e.	nicht evaluiert
NIH	<i>National Institutes of Health</i> = Behörde des Ministeriums für Gesundheitspflege und Soziale Dienste der Vereinigten Staaten Amerikas
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
hm NHL	hochmalignes NHL
nm NHL	niedrigmalignes NHL
Nr.	Nummer
NRM	nicht-rezidivbedingte Mortalität
NYHA	Klassifikation des Schweregrades der Herzinsuffizienz der <i>New York Heart Association</i>
OS	<i>overall survival</i> = Gesamtüberleben
Pat.	Patient
PBSC	<i>peripher blood stem cells</i> = Stammzellen aus dem peripheren Blut
PD	<i>progressive disease</i> = Progress der Erkrankung
PFS	<i>progression-free survival</i> = progressionsfreies Überleben
Po ₄ ⁻	Phosphat
PR	partielle Remission
Range	<i>range</i> = Spannweite im Sinne von „von – bis“
RCA	rechte Koronararterie
RE	Rheumatische Erkrankung
RIVA	Ramus interventricularis anterior
RT	Radiotherapie
STR	<i>short tandem repeats</i> = kurze repetitive DNA-Sequenzen (Mikrosatelliten)
sv Tachy	supraventrikuläre Tachykardie
TAG	Triacylglyceride

TBI	<i>total body irradiation</i> = Ganzkörperbestrahlung
TIA	transitorische ischämische Attacke
TK	Thrombozytenkonzentrat
TNF	Tumornekrosefaktor
T-reg	regulatorische T-Zellen
UA	Unterarm
VOD	<i>veno-occlusive disease</i> = Venenverschlusskrankheit
vorh.	vorherig(e)
vs.	versus
Z. n.	Zustand nach
↑	erhöht
↓	erniedrigt
†	verstorben

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Pathophysiologische Vorgänge bei der Entwicklung der akuten GvHD	5
Abbildung 2: Pathophysiologie der chronischen GvHD	6
Abbildung 3: Strukturformel und spontane Aktivierung des Treosulfans	9
Abbildung 4: Verlauf der Zellzahlen Median	44
Abbildung 5: Häufigkeit der akuten GvHD	47
Abbildung 6: Organbeteiligung und Schweregrade der akuten GvHD	47
Abbildung 7: Häufigkeit der chronischen GvHD	49
Abbildung 8: Gesamtüberleben (OS) nach Kaplan-Meier	50
Abbildung 9 a) bis d): Todesursachen	51
Abbildung 10: Ereignisfreies Überleben (EFS) nach Kaplan-Meier	53
Abbildung 11: Rezidiv-Wahrscheinlichkeit nach Kaplan-Meier	53
Abbildung 12: Nicht-Rezidiv-bedingte Mortalität (NRM) nach Kaplan-Meier	55

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Kriterien zur Bestimmung des Gratwohl Scores.....	18
Tabelle 2: Konditionierungsschema Fludarabin/ Treosulfan	20
Tabelle 3: Organstadien der akuten GvHD.....	24
Tabelle 4: Klinische Schweregrade der akuten GvHD	24
Tabelle 5: Patientencharakteristika.....	28
Tabelle 6: Komorbiditäten/ Sorrow Score	29
Tabelle 7: °3 und °4 Toxizität nach CTC in den 14 Tagen vor Beginn der Konditionierungstherapie – alle Organsysteme	32
Tabelle 8: °3 und °4 Toxizität nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT – alle Organsysteme	33
Tabelle 9: °3 und °4 Toxizität durch die Konditionierungstherapie mit Treosulfan nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT – alle Organsysteme	37
Tabelle 10: Auswertung Engraftment nach HSZT	43
Tabelle 11: Vollständiger Spenderchimärismus.....	46
Tabelle A1: Zusammenfassung der Patientencharakteristika.....	87
Tabelle A2: Übersicht über die Transplantationsdaten.....	88
Tabelle A3: Sorrow Score: Punktzahl für Störungen einzelner Organsysteme.....	89
Tabelle A4: Zusätzliche Erkrankungen und Gratwohl Score für an CML erkrankte Patienten	90
Tabelle A5: Toxizität nach CTC in den 14 Tagen vor Beginn der Konditionierungstherapie: Gastrointestinaltrakt, Herz–Kreislauf–System, Allgemeinsymptome, Respirationstrakt, Infektionen, Schmerzen.....	91
Tabelle A6: Toxizität nach CTC in den 14 Tagen vor Beginn der Konditionierungstherapie – Laborparameter.....	92

Tabelle A7: Toxizität nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT - Gastrointestinaltrakt, Herz– Kreislauf-System, Haut, Allgemeinsymptome, Respirationstrakt.....	93
Tabelle A8: Toxizität nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT– Gefäßsystem, lymphatisches System.....	94
Tabelle A9: Toxizität nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT - Infektionen, Schmerz.....	95
Tabelle A10: Toxizität nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT – Laborparameter.....	96
Tabelle A11: Toxizität durch die Konditionierungstherapie mit Treosulfan nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT - Gastrointestinaltrakt, Respirationstrakt, Haut, Allgemeinsymptome.....	97
Tabelle A12: Toxizität durch die Konditionierungstherapie mit Treosulfan nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT – Infektionen und Schmerz.....	98
Tabelle A13: Toxizität durch die Konditionierungstherapie mit Treosulfan nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT – Laborparameter.....	99
Tabelle A14: Engraftment in Tagen nach HSZT (Tag 0).....	100
Tabelle A15: Chimärismus an Tag 28 (+/-3), Tag 100 (+/-10) und maximaler Chimärismus.....	101
Tabelle A16: Akute GvHD nach HSZT bis Tag 100.....	102
Tabelle A17: Chronische GvHD nach HSZT ab Tag 101.....	103
Tabelle A18: Überlebensdaten.....	104

1 Einleitung

1.1 Hämatopoetische Stammzelltransplantation

Die hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSZT) ist fester Bestandteil in der Therapie hämatologischer Neoplasien. Für einige Erkrankungen stellt sie den einzigen kurativen Therapieansatz dar. Grundsätzlich unterscheidet man die allogene, autologe und syngene HSZT [1]. Während bei der autologen HSZT zuvor von dem Patienten durch Apherese gewonnene Stammzellen nach einer Hochdosischemotherapie bzw. Radiochemotherapie reinfundiert werden, kommen bei der allogenen HSZT Stammzellen eines Familien- oder Fremdspenders und bei der syngenen HSZT Stammzellen eines Zwillingsgeschwisters zum Einsatz [1]. Die Auswahl eines geeigneten, gesunden Stammzellspenders erfolgt hauptsächlich anhand der Kompatibilität der Merkmale des HLA-Systems (Humane Leukozytenantigene), der Blutgruppe, des CMV-Status (Zytomegalievirus) und des Geschlechts des Spenders. Stammzellen können aus dem Knochenmark, nach Mobilisierung mit G-CSF (Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor) aus dem peripheren Blut oder aus Nabelschnurblut gewonnen werden [2].

Vor einer HSZT wird eine Konditionierungstherapie durchgeführt, die eine Kombinationschemotherapie bzw. eine Radiochemotherapie beinhaltet [1]. In der Folge der zytostatischen Wirkung der Konditionierungstherapie entwickeln die Patienten zunächst eine Panzytopenie [1]. In dieser Phase sind die Betroffenen aufgrund der Neutropenie insbesondere durch das Auftreten von Infektionen gefährdet [1]. Zusätzlich kommt es zur Anämie und im Rahmen der Thrombozytopenie kann eine erhöhte Blutungsneigung auftreten [1]. Um die Zeit bis zur Regeneration des Blutbildes zu verkürzen erfolgt anschließend die HSZT. Die Regeneration des Blutbildes ist Ausdruck eines erfolgreichen Anwachsens des Transplantates.

Initial diente die Übertragung eines Stammzelltransplantats im Anschluss an eine myeloablative Konditionierungstherapie lediglich als Ausgleich der konditionierungsbedingten Panzytopenie [3]. Durch den Transplantat-gegen-Leukämie-Effekt (GvL-Effekt), einer Immunreaktion der mit dem Transplantat übertragenen Lymphozyten mit den malignen Zellen des Empfängers, kann die

allogene HSZT, im Gegensatz zur autologen HSZT, jedoch zusätzlich zur erfolgreichen Behandlung der Grunderkrankung beitragen [4-5].

Bei einer konventionellen HSZT wird eine myeloablative Konditionierungstherapie durchgeführt [6]. Aufgrund der therapieassoziierten toxischen Nebenwirkungen fand dieses Verfahren hauptsächlich bei jüngeren Patienten ohne signifikante Komorbiditäten Anwendung [7]. Da viele hämatologische Erkrankungen mit potentieller Transplantationsindikation, wie z. B. die akute myeloische Leukämie (AML) oder das Myelodysplastische Syndrom (MDS), bevorzugt bei älteren Patienten auftreten [8] und gerade diese Patienten vermehrt Komorbiditäten aufweisen [9], bestand die Notwendigkeit alternative Konditionierungsschemata zu entwickeln. Mit den toxizitätsreduzierten Konditionierungsprotokollen wurde es zunehmend möglich, die Therapieoption der allogenen HSZT auch älteren Patienten mit Begleiterkrankungen anzubieten [4]. Hierbei wird die Intensität der Konditionierungstherapie zu Gunsten einer intensivierten Immunsuppression reduziert. Eines dieser toxizitätsreduzierten Protokolle besteht in der Kombination von Treosulfan mit Fludarabin. Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist es, im Rahmen eines toxizitätsreduzierten Verfahrens, den Einfluss einer Dosisescalation des Treosulfans auf die Wirksamkeit und das Nebenwirkungsprofil der Konditionierungstherapie zu untersuchen.

1.2 Konventionelle allogene Stammzelltransplantation

Die zu Beginn der Transplantationsära angewandten konventionellen myeloablativen Konditionierungsschemata beinhalteten eine hochdosierte, systemische Chemotherapie mit oder ohne begleitende Ganzkörperbestrahlung (TBI) [7]. Ziel dieses Verfahrens war sowohl die Eradikation des malignen Zellklons als auch eine, für die Akzeptanz des anschließend übertragenen allogenen Stammzelltransplantats erforderliche, suffiziente Immunsuppression [7]. Die ersten Hochdosistherapien bestanden zumeist aus maximal tolerablen Dosen von TBI oder Cyclophosphamid [10]. Unter alleiniger Konditionierungstherapie mit TBI traten zum Einen viele Rezidive auf und zum Anderen zeigten sich in einzelnen Fällen, in Folge einer Induktion onkogener Viren, leukämische Transformationen der Spenderzellen [10]. Im Rahmen der ersten konventionellen HSZT waren eine hohe transplantationsassoziierte Mortalität sowie hohe rezidivbedingte Mortalitätsraten zu verzeichnen [11-14]. Zu Beginn der achtziger Jahre schuf man mit der Kombination

von Cyclophosphamid und Busulfan eine Alternative zu den auf TBI basierenden Konditionierungsregimen [15]. In einer klinischen Studie unterzogen sich insgesamt 51 an einer akuten Leukämie erkrankte Patienten der Konditionierungstherapie mit den beiden oben genannten Substanzen [15]. Anschließend erfolgte die allogene HSZT vom HLA-identen Geschwisterspender. Im Rahmen dieser myeloablativen Behandlung beobachtete man als signifikante Toxizitäten Mukositiden, Virusinfektionen und interstitielle Pneumonien. Die in Progression transplantierten Patienten erreichten hinsichtlich des Überlebens die schlechtesten Ergebnisse und die besten Überlebensraten wurden in der Gruppe der in erster Remission transplantierten Patienten beobachtet. Als führende Todesursachen wurden akute Transplantat-gegen-Wirt-Erkrankungen (aGvHD) und Infektionen beobachtet [15]. Einige Jahre später wurden die Resultate einer randomisierten Studie publiziert, welche die Konditionierung mit Cyclophosphamid und TBI im Vergleich zu Cyclophosphamid kombiniert mit Busulfan prüfte [16]. Untersucht wurden in dieser Studie Patienten mit einer chronischen myeloischen Leukämie (CML) in chronischer Phase (CP) [16]. Dabei wurden beide Verfahren hinsichtlich Effektivität, Überleben und nicht-rezidivbedingter Mortalität (NRM) als vergleichbar beurteilt. Ein anschließender Vergleich der beiden Regime, unter Einbeziehung von Patienten mit AML, ergab eine nicht signifikante, um 10 % niedrigere Überlebensrate nach der Kombinationstherapie von Cyclophosphamid mit Busulfan [17]. Wenngleich nach einer Behandlung mit Cyclophosphamid und TBI ein höheres Risiko einer Katarakt beobachtet wurde bzw. nach einer Therapie mit Cyclophosphamid und Busulfan ein gesteigertes Risiko einer irreversiblen Alopezie bestand, so wurden hinsichtlich des Auftretens von Spät komplikationen in dieser Untersuchung beide Verfahren als gleichwertig eingeschätzt [17].

Die Durchführbarkeit dieser myeloablativen Behandlungsoptionen zeigt, dass der Einsatz der HSZT, im Rahmen der Therapie der zugrunde liegenden Erkrankung, eine Intensivierung der Chemotherapie ermöglicht hatte. Allerdings limitierte die Toxizität auf die nicht-hämatopoetischen Organe wie den Gastrointestinaltrakt, die Leber, die Niere, die Lunge oder das Herz die Dosis eskalation [7]. Zusätzlich ist ein Anstieg der therapiebedingten Toxizität mit zunehmendem Alter des Patienten und zunehmenden Komorbiditäten zu verzeichnen [4]. Dadurch bedingt ergaben sich eine Vielzahl von Kontraindikationen für die Anwendung dieses Verfahrens, wie zum Beispiel ein Alter jenseits von 50 bis 60 Lebensjahren oder das Vorliegen von Begleiterkrankungen [5]. Dementsprechend stellt die HSZT mit myeloablativer

Konditionierung zwar insbesondere für junge Patienten mit gutem Allgemeinbefinden und fehlenden Komorbiditäten eine Therapiemöglichkeit dar, aber aufgrund des jenseits des 55. Lebensjahres liegenden Häufigkeitsgipfels vieler hämatologischer Erkrankungen konnten nur vergleichsweise wenige Patienten von der Therapieoption einer (konventionellen) HSZT profitieren [18]. Eine Lösung dieses Problems eröffnete sich mit den Kenntnissen der adoptiven Immuntherapie und der sich daraus ergebenden Möglichkeit einer Dosisreduktion der Konditionierungstherapie.

1.3 Entwicklung intensitätsreduzierter Konditionierungsprotokolle vor allogener Transplantation

Ein wichtiger Meilenstein in der Entwicklung der HSZT war die Beschreibung des erfolgreichen Einsatzes von Spenderlymphozyten (DLI) bei Patienten, welche ein Rezidiv nach erfolgter Knochenmarktransplantation erlitten hatten [19]. Die Entdeckung und Aufklärung des GvL-Effektes bzw. des Transplantat-gegen-Tumor-Effektes (GvT-Effekt) zeigte, dass durch die mit dem allogenen Stammzelltransplantat übertragenen immunkompetenten Zellen zusätzlich eine Aktivität gegen die maligne entarteten Zellen zur Behandlung der Grunderkrankung erzielt werden kann, was als adoptive Immuntherapie bezeichnet wird [20].

1.3.1 Pathophysiologie der GvHD

Bei einer Transplantat-gegen-Wirt-Erkrankung (GvHD) sind multiple Wechselwirkungen zwischen den antigenpräsentierenden Zellen des Empfängers und den T-Lymphozyten des Stammzellspenders pathophysiologisch bedeutsam [21]. Nach Billingham müssen für die Entstehung einer GvHD drei Kriterien erfüllt sein [22] :

1. Das Transplantat muss immunkompetente Zellen enthalten.
2. Der Empfänger muss den Spenderzellen unbekannte Oberflächenantigene exprimieren.
3. Der Empfänger darf nicht in der Lage sein, eine effektive Immunantwort zu entwickeln um die transplantierten Zellen zu beseitigen.

Die Entwicklung einer aGvHD lässt sich in drei Phasen gliedern [23]. Der erste Schritt (Konditionierungsphase) ist durch die Aktivierung antigenpräsentierender Zellen (APZ) durch die Grunderkrankung sowie die Konditionierungstherapie gekennzeichnet. Während der zweiten Phase kommt es durch Antigenpräsentation

zur Aktivierung und Proliferation von Spender-T-Lymphozyten, welche sich in CD4-positive Helferzellen und CD8-positive zytotoxische Zellen differenzieren. In der dritten Phase (Effektorphase) wirken zelluläre Mediatoren (T-Lymphozyten, Natürliche Killerzellen, Makrophagen) und inflammatorische Mediatoren (z. B. Tumornekrosefaktor (TNF) α , Interferon γ , Interleukin 1) auf die Empfängerzellen der Haut, des Gastrointestinaltraktes und der Leber und verursachen somit die Gewebeschädigung im Rahmen der GvHD [23]. Die pathophysiologischen Abläufe bei der Entstehung der aGvHD sind im Einzelnen in Abbildung 1 dargestellt.

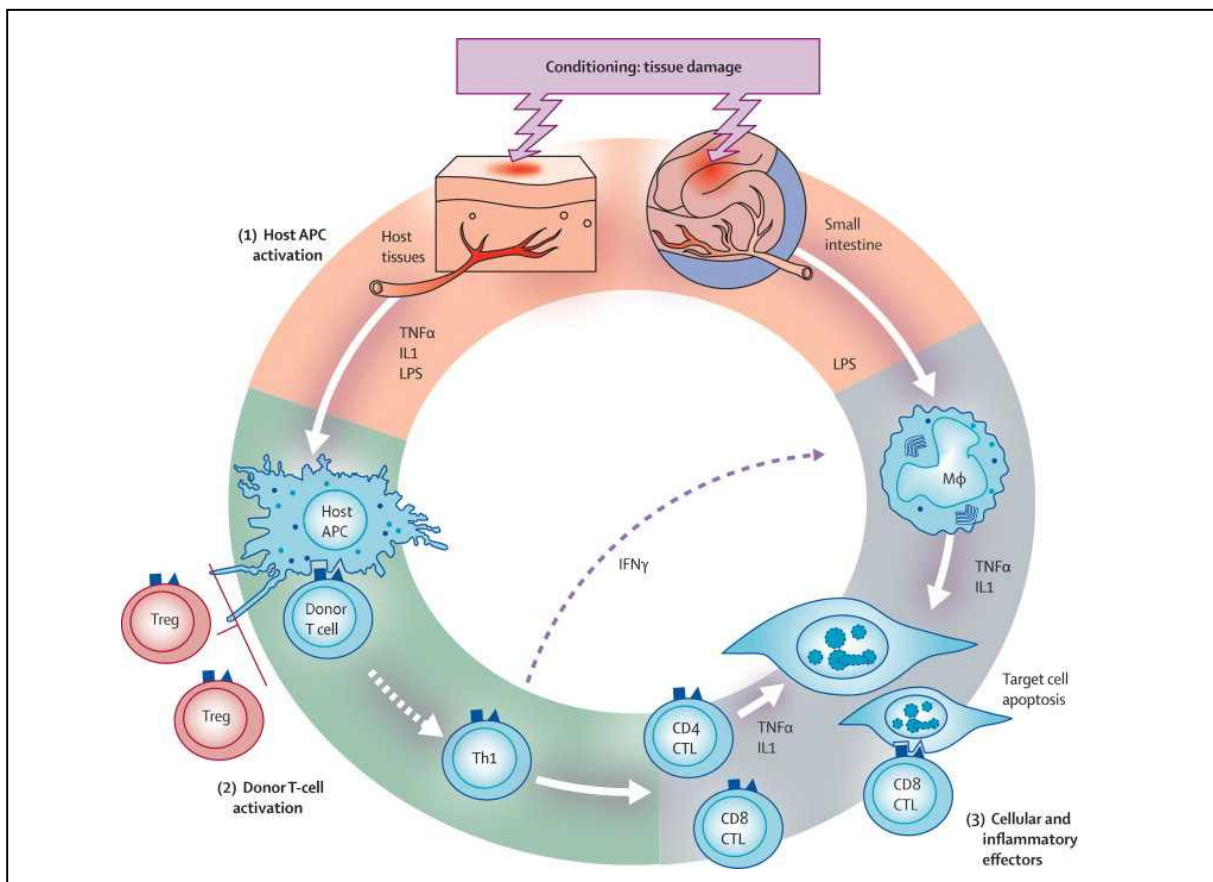


Abbildung 1: Pathophysiologische Vorgänge bei der Entwicklung der akuten GvHD [23]

Dargestellt sind die drei Phasen der Entstehung einer aGvHD [23]: 1. Freisetzung von Mediatoren und Aktivierung von Empfänger-APZ durch die Konditionierungstherapie und die zu Grunde liegende Erkrankung. 2. Antigenpräsentation und Aktivierung alloreaktiver Spender-T-Zellen. 3. Interaktion von T-Lymphozyten, Makrophagen, Natürlichen Killerzellen sowie inflammatorischen Mediatoren (z. B. TNF α , Interleukin 1) mit dem Zielgewebe des Empfängers.

Im Gegensatz zur aGvHD ist die Pathophysiologie der chronischen GvHD (cGvHD) bisher nur unvollständig verstanden [24]. Bislang wurden 4 Theorien entwickelt um die Entstehung einer cGvHD zu erklären [24-25] (siehe Abbildung 2):

1. Durch Thymusepithelschädigung in Folge der Konditionierungstherapie und/oder einer aGvHD kommt es zur Störung zentraler Toleranzmechanismen.
2. Ein Mangel an regulatorischen T-Zellen (CD4-positiv und CD25-positiv, T-reg) scheint mit der Entstehung der cGvHD assoziiert zu sein, wobei die Bedeutung von T-reg kontrovers diskutiert wird.
3. Neben T-Zellen sind auch B-Lymphozyten an der Entstehung der cGvHD beteiligt [26].
4. Über verschiedene Mediatoren und Zytokine kommt es zu chronisch-entzündlichen Veränderungen mit folgender Fibrose.

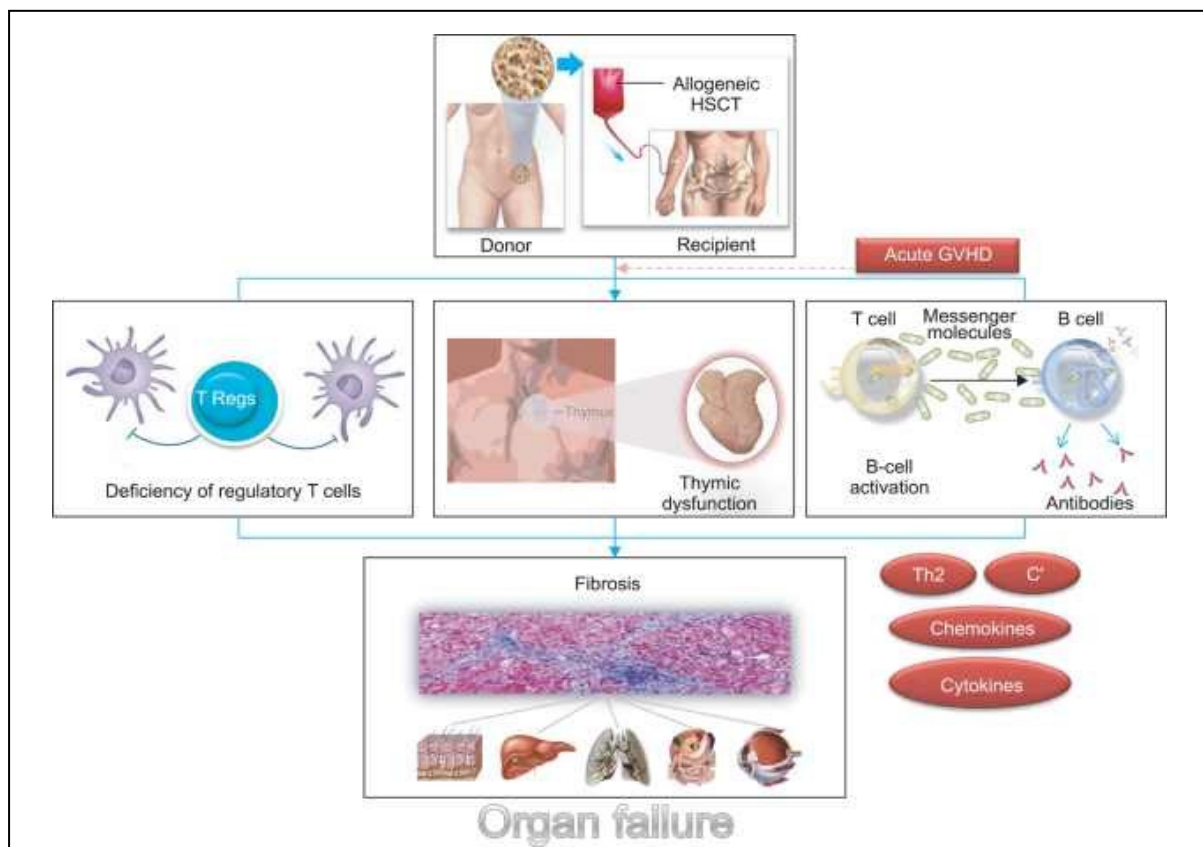


Abbildung 2: Pathophysiologie der chronischen GvHD [25]

Nach den bisherigen Erkenntnissen gibt es 4 Theorien zu pathophysiologisch bedeutsamen Faktoren bei der cGvHD [24-25]: 1. Störung zellulärer Toleranzmechanismen in Folge einer Thymusschädigung durch die Konditionierungstherapie und/oder aGvHD. 2. Assoziation der cGvHD mit einem Mangel an regulatorischen T-Zellen (T-reg) 3. Induktion der cGvHD durch B-Lymphozyten 4. Durch verschiedene Mediatoren vermittelte chronische Entzündung und konsekutive Fibrose.

1.3.2 Vom GvL-Effekt zur intensitätsreduzierten Konditionierungstherapie

Die Erkenntnis, dass mit der GvHD auch eine Aktivität gegen die malignen Zellen erzielt wird, bewirkte nicht nur ein neues Verständnis der Wirkungsweise der allogenen HSZT, sondern eröffnete gleichzeitig neue Perspektiven in der Therapie von hämatologischen Erkrankungen bei Patienten, die aufgrund des Lebensalters oder aufgrund von Komorbiditäten ungeeignet für eine konventionelle Konditionierungstherapie waren. Fortan fokussierte die Forschung auf eine gezielte Ausnutzung des GvL-Effektes, um diesen zur Therapie der malignen Grunderkrankungen einzusetzen [27]. Mit der Nutzung des GvL-Effektes zur Tumoreradikation ergab sich die Möglichkeit, die Intensität der Konditionierung und die damit verbundene Toxizität zu reduzieren, um das Verfahren einem erweiterten Patientenkreis zugänglich zu machen [28].

Im Zuge dessen wurden dosisreduzierte Konditionierungsregime entwickelt. Auch bei diesen Verfahren ist eine suffiziente Immunsuppression erforderlich, um eine Abstoßung des Transplantats zu verhindern, das Engraftment zu ermöglichen und das Risiko einer schwerwiegenden GvHD zu minimieren. Die medikamentöse Immunsuppression vor und nach der HSZT erlaubt bei diesem Behandlungsprinzip eine Reduktion der Zytotoxizität der Konditionierungstherapie [29]. Dass mit Hilfe der medikamentösen Immunsuppression, wie zum Beispiel mit Methotrexat (MTX), Ciclosporin A (CSA) oder Mycophenolat Mofetil (MMF), nach nicht-myeloablativer Konditionierung ein stabiler gemischter Chimärismus nach allogener HSZT erreicht werden kann, wurde zunächst im Hundemodell gezeigt [30]. Aufbauend auf den Erkenntnissen dieser Untersuchung entstand ein Studiendesign, mit welchem 44 Patienten nach einer Konditionierung mit 2 Gray (Gy) TBI und einer anschließenden Immunsuppression durch CSA und MMF HLA-ident allogene transplantiert wurden [27]. Initial zeigte sich in allen Fällen ein Engraftment. Bei 20 % der Patienten trat jedoch eine Abstoßungsreaktion gegenüber dem Transplantat auf [27]. Unter Erweiterung des Regimes um Fludarabin sank die Abstoßungsrate auf 3 % [10]. Insgesamt wurde die Konditionierungstherapie mit 2 Gy TBI und anschließender Immunsuppression bei niedrigen Toxizitätsraten und einer NRM von 6,7 % als sicheres und nebenwirkungsarmes Verfahren bewertet. In Bezug auf die Effektivität wurden jedoch, bei einem Gesamtüberleben (OS) von 67 % und einer rezidivassozierten Mortalität von 26,7 %, Verbesserungen als erstrebenswert erachtet [27].

Ein weiterer nicht-myeloablativer Therapieansatz verzichtete ganz auf die TBI als Konditionierungsbestandteil [31]. Nach einer Konditionierung mit Fludarabin, Anti-Thymozyten-Globulin (ATG) und Busulfan sowie CSA als GvHD-Prophylaxe wurden 26 Patienten periphere Stammzellen HLA-identer Geschwister transfundiert. Verglichen mit myeloablativen Protokollen wurde dieses Regime insgesamt deutlich besser toleriert. Es traten keine typischen Toxizitäten Grad 3 oder 4 nach CTC (Common Toxicity Criteria) auf. Ein kompletter Spenderchimärismus stellte sich bei 65 % der Patienten ein. Nach im Median acht Monaten zeigte sich bei einer NRM von 15 % und einem krankheitsfreien Überleben von 81 % ein OS von 85 %. Zusammenfassend wurde das angewandte Verfahren als geeignet bewertet und als möglicher Ausgangspunkt für die Realisierung ähnlicher Protokolle vor der HSZT zwischen Nicht-Verwandten gesehen [31]. Insgesamt erwiesen sich die zunächst entwickelten intensitätsreduzierten Verfahren als durchführbar und im Vergleich mit den Ergebnissen nach myeloablativer Konditionierung als nebenwirkungsärmer und besser verträglich. Hinsichtlich der Effektivität blieb jedoch Raum für Verbesserungen.

1.4 Treosulfan in der Konditionierungstherapie vor einer Stammzelltransplantation

1.4.1 Eigenschaften von Treosulfan

In dem Bestreben die therapeutischen Optionen nicht-myeloablativer HSZT weiter zu entwickeln und noch effektivere Konditionierungsmodelle zu etablieren geriet die alkylierende Substanz Treosulfan, als Alternative zu Busulfan, in den Fokus des Interesses. Treosulfan wurde erstmalig 1961 synthetisiert und unterscheidet sich strukturell vom Busulfan durch zwei an den Kohlenstoffatomen 2 und 3 eingeführte Hydroxylgruppen [32]. Während Busulfan als primäres Methansulfonat alkylierend wirkt, fungiert Treosulfan als Prodrug aktiver Epoxid-Metabolite [33]. Durch eine nicht-enzymatische, jedoch pH-Wert- und temperaturabhängige Aktivierung des Treosulfans entstehen die Epoxidderivate 1,2-Epoxy-3,4-Butandiol-4-Methansulfonat und L-Diepoxybutan als wirksame Reaktionsprodukte [32]. Über DNA-Alkylierung am Guanin, DNA-Crosslinking sowie DNA-Einzel- und Doppelstrangbrüche wird der zytotoxische Effekt erzielt [32, 34]. Abbildung 3 zeigt die Strukturformel des Treosulfans sowie die spontane Transformation in die aktiven Metaboliten. Bekannt ist Treosulfan bereits aus der Therapie des fortgeschrittenen

Ovarialkarzinoms [35]. Darüber hinaus belegten verschiedene Studien auch die Effektivität gegenüber anderen soliden Tumoren wie beispielsweise dem Mammakarzinom, dem Nierenzellkarzinom oder dem Bronchialkarzinom [36-38].

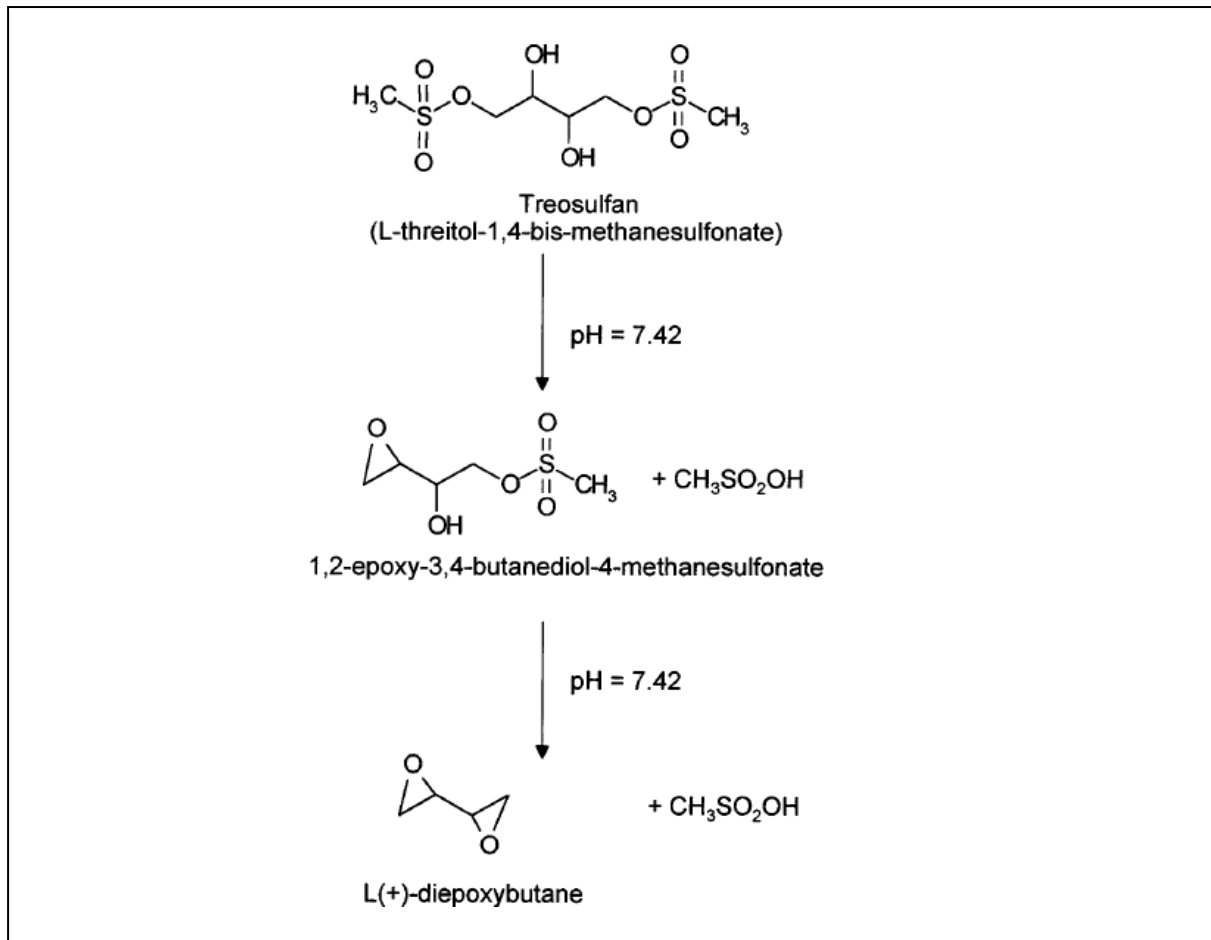


Abbildung 3: Strukturformel und spontane Aktivierung des Treosulfans [32]

Dargestellt ist die nicht-enzymatische, pH-Wert- und temperaturabhängige Umwandlung des Prodrugs Treosulfan (L-Threitol-1,4-bis-Methansulfonat; Dihydroxybusulfan) in seine wirksamen Metabolite 1,2-Epoxy-3,4-Butandiol-4-Methansulfonat und L-Diepoxybutan [32].

1.4.2 Treosulfan in tierexperimentellen Studien

Eine dem Busulfan ähnliche dosisabhängige Wirkung auf primitive hämatopoetische Stammzellen konnte anhand muriner Zellen nachgewiesen werden [39]. Die antileukämische *In-vivo*-Aktivität des Treosulfans wurde im präklinischen Modell an xenotransplantierten Mäusen untersucht und mit der Aktivität äquitoxischer Dosen von Cyclophosphamid und Busulfan verglichen [40]. Dabei zeigte sich, im Vergleich der Dosen 1000 mg/kg, 2000 mg/kg und 3000 mg/kg, ein eindeutig dosisabhängiger antileukämischer Effekt des Treosulfans. Bereits die Dosis von 2000 mg/kg führte bei allen untersuchten Tieren zu einer kompletten Remission (CR), ging jedoch mit einer Rezidivrate von 100 % einher. Nach Applikation von Treosulfan in der Dosis von

3000 mg/kg zeigten alle Mäuse eine CR, ohne dass es im Verlauf zu einem Rezidiv kam. Eine weitere Gruppe Mäuse erhielt statt Treosulfan Cyclophosphamid 100 mg/kg, was zunächst zwar ebenfalls eine CR induzierte, jedoch bei keinem der Versuchstiere ein Rezidiv zu verhindern vermochte. In einem weiteren Experiment wurde die Einmalgabe von Treosulfan mit der mehrzeitigen Applikation von Treosulfan oder Busulfan verglichen [40]. Auch die Gabe von Treosulfan an drei aufeinanderfolgenden Tagen führte zu einem dosisabhängigen antileukämischen Effekt mit den besten Ergebnissen in der höchsten Dosisgruppe (3 x 1500 mg/kg Treosulfan). Die einmalige Gabe von 3000 mg/kg Treosulfan führte dagegen bei vergleichbarer Tumoreradikation in einem Fall zu letaler Toxizität. Auch für das Alternativpräparat Busulfan konnte ein dosisabhängiger antileukämischer Effekt nachgewiesen werden, der jedoch nur mit der geringsten verwendeten Treosulfanmenge vergleichbar war. Zusammenfassend ließen die Ergebnisse dieser Studie Treosulfan als ein Chemotherapeutikum mit hoher antileukämischer Aktivität und als eine, den äquitoxischen Dosen von Busulfan und Cyclophosphamid, überlegene Substanz erscheinen [40].

In einer weiteren Untersuchung wurde geprüft, ob Treosulfan im Rahmen eines nebenwirkungsarmen Konditionierungsregimes die TBI zu ersetzen und dennoch einen gemischten Chimärismus sowie eine spenderspezifische immunologische Toleranz zu ermöglichen vermag [41]. Zu diesem Zweck erhielten die untersuchten Mäuse an den drei Tagen vor der HSZT MHC-ungleicher Stammzellen (MHC = Majorhistokompatibilitäts-Komplex) Treosulfan in Gesamtdosen von 1500 bis 6000 mg/kg sowie eine Einzeldosis CD3- und CD4-Antikörper. Die Anzahl der Mäuse mit einem dauerhaften gemischten Chimärismus korrelierte mit der Dosis des Treosulfans und war nach Gabe von 3 x 1500 mg/kg bzw. 3 x 2000 mg/kg Treosulfan mit 100 % am höchsten. Zum Beleg der spenderspezifischen Toleranz erhielten alle Tiere jeweils ein Hauttransplantat vom entsprechenden Spender, ein Autotransplantat sowie ein Fremdtransplantat. Alle Tiere tolerierten dauerhaft das Autotransplantat, wohingegen das Transplantat des Spenders von chimären Mäusen akzeptiert wurde und die Fremdtransplantate einer raschen Abstoßungsreaktion unterlagen. Diesen Ergebnissen zu Folge kann Treosulfan als eine geeignete Substanz für die Induktion einer immunologischen Toleranz gegenüber MHC-ungleichem Spendermaterial angesehen werden [41].

In einer vom Prinzip her gleichermaßen angelegten tierexperimentellen Studie erfolgte dann die Untersuchung des Treosulfan-Effektes im Zusammenhang mit der Transplantation MHC-identer Stammzellen [42]. Im Wesentlichen ergaben sich dabei zwei Erkenntnisse: Erstens erlaubte die Transplantation MHC-äquivalenter Stammzellen eine Reduktion der Treosulfan-Dosis auf $3 \times 1000 \text{ mg/kg}$, ohne dabei den stabilen Chimärismus oder die immunologische Toleranzentwicklung einzubüßen, und zweitens offenbarte der Vergleich mit der HSZT nach TBI die Möglichkeit, die notwendige Dosis der CD3-Antikörper nach einer Treosulfan-haltigen Therapie zu verringern, ohne den Transplantationserfolg zu gefährden. Letztlich belegte diese Untersuchung, dass nach Treosulfan-haltiger Konditionierung, T-Zell-Suppression und Transplantation T-Zell-depletierter haploidenter Knochenmarkszellen ebenfalls ein dauerhafter Chimärismus und die spenderspezifische Toleranz erreicht werden können [42].

1.4.3 Erfahrungen mit Treosulfan vor autologer Stammzelltransplantation

In einer Phase-I-Studie wurden 22 Patienten mit hämatologischen bzw. onkologischen Grunderkrankungen mit Treosulfan und einer autologen HSZT behandelt [43]. Die Treosulfan-Applikation erfolgte im Rahmen einer Dosisescalation von $20,0$ bis $56,0 \text{ g/m}^2$. Daran schloss sich zwei Tage später die autologe HSZT an, welche bei allen Patienten zu einem Engraftment führte. In der Gruppe der Patienten mit einer Gesamtdosis von $26,0$ oder $39,0 \text{ g/m}^2$ Treosulfan wurden keinerlei Toxizitäten Grad 2 bis 4 nach CTC beschrieben. Bei den Patienten, die mit einer Dosis von $20,0 \text{ g/m}^2$ und $47,0 \text{ g/m}^2$ Treosulfan behandelt worden waren, wurden lediglich Toxizitäten Grad 2 nach CTC beobachtet. Nach Applikation einer Gesamtdosis von $56,0 \text{ g/m}^2$ Treosulfan ließ sich eine deutliche Zunahme der Inzidenz und des Schweregrades der nicht-hämatologischen Toxizitäten verzeichnen, so dass die maximal tolerable Dosis Treosulfan mit nachfolgender HSZT auf $47,0 \text{ g/m}^2$ Treosulfan als Einmalgabe festgelegt wurde. Ohne nachfolgende HSZT liegt die maximal tolerable Dosis bei 10 g/m^2 Treosulfan [44]. Als dosislimitierende Toxizitäten wurden Diarrhoe, Mukositis/ Stomatitis, toxische epidermale Nekrolyse und Azidose deklariert [43]. Alle 22 Patienten hatten bereits mindestens zwei Vortherapien erhalten. Trotz der intensiven vorausgehenden Therapien und erworbener Chemoresistenzen konnte bei mehreren Patienten die Anti-Tumor-Aktivität der Behandlung mit Treosulfan nachgewiesen werden. Eine Tumorregression $> 50 \%$ zeigte sich bei vier Patienten, bei drei weiteren Patienten

konnte, trotz Krankheitsprogression unter der Vortherapie, ein Absinken der Konzentration der Tumormarker festgestellt werden [43].

Da Treosulfan den verschiedenen präklinischen und klinischen Daten zu Folge, im Vergleich zu Busulfan oder Cyclophosphamid, bei vergleichbarer oder gar höherer Effizienz, ein insgesamt verträglicheres Nebenwirkungsprofil bietet, konnte es, in Hinblick auf die Behandlung von älteren Patienten oder von Patienten mit Komorbiditäten, als Alternative zu den etablierten Protokollen angesehen werden.

1.5 Die Konditionierungstherapie mit Treosulfan in Kombination mit Fludarabin vor allogener Stammzelltransplantation

Neben Busulfan wurde auch das Zytostatikum Fludarabin in einige intensitätsreduzierte Konditionierungsregime integriert [31, 45-46]. Fludarabin verfügt, zusätzlich zu der Aktivität gegen hämatologische Neoplasien wie beispielsweise der chronischen lymphatischen Leukämie (CLL), auch über eine immunsuppressive Wirkung [45, 47-48]. Diese Charakteristika und das günstige Toxizitätsprofil führten zur Einbeziehung in diverse Therapieprotokolle [49]. Fludarabin ist ein Purin-Analogon welches die Proliferation von Lymphozyten inhibiert und deren Apoptose begünstigt [47]. Zu den häufigeren unerwünschten Arzneimittelwirkungen zählen Granulozytopenie, Thrombozytopenie, Anämie und Infektionen, wohingegen Alopezie, Übelkeit oder Erbrechen, verglichen mit zum Beispiel Cyclophosphamid und Doxorubicin, seltener auftreten [50]. Die klinisch bedeutsamste Nebenwirkung ist die Neurotoxizität, welche jedoch mit höheren Dosen assoziiert zu sein scheint [47, 50].

Während intensitätsreduzierte Konditionierungsverfahren in Folge der Dosisreduktion des Zytostatikums mit einer Verminderung des Antitumoreffektes einhergehen und auf die Wirkung des GvL-Effektes vertrauen, so besteht das Ziel toxizitätsreduzierter Verfahren darin, durch die Dosisescalation gut verträglicher Zytostatika einen hohen Antitumoreffekt bei gleichzeitiger Ausnutzung des GvL-Effektes zu erreichen [6, 51-52]. Mit der Kombination von Treosulfan und Fludarabin als toxizitätsreduziertes Therapieverfahren wurden in einer klinischen Studie 30 Patienten konditioniert, die aufgrund des Lebensalters und/oder der Komorbiditäten nicht für die Standardtherapieoptionen geeignet waren [49]. Die Patienten, die an diversen malignen hämatologischen Erkrankungen litten, erhielten vor der allogenen HSZT

Treosulfan i. v. an drei Tagen (entsprechend einer Gesamtdosis von 30 g/m²) sowie Fludarabin i. v. an fünf Tagen (entsprechend einer Gesamtdosis von 150 mg/m²). Die GvHD-Prophylaxe bestand aus CSA. Empfänger von Stammzellen nicht-verwandter Spender erhielten zusätzlich ATG. 90 % der Patienten entwickelten nach der HSZT einen vollständigen Spenderchimärismus bei geringer extrahämatologischer Toxizität (nach CTC). Die Treosulfan-typischen Toxizitäten wie Diarrhoe, Übelkeit, Erbrechen und Mukositis waren nur in geringem Grad ausgeprägt. Toxizitäten Grad 3 oder 4 nach CTC wurden in einigen Fällen in Form eines Transaminasen- oder Bilirubinanstiegs oder in der Kategorie Infektionen beobachtet. Nach einer medianen Nachbeobachtungsdauer von 22 Monaten betrug das OS 73 % bei einer Rate des ereignisfreien Überlebens (EFS) von 49 %. In Folge dieser Ergebnisse wurde die Kombination von Treosulfan mit Fludarabin als wirksames und sicheres Konditionierungsverfahren eingeschätzt und ermutigte zu dem Versuch, mit einer prospektiven Dosisescalationsstudie die Effektivität dieses Protokolls noch zu steigern.

Demnach wurden in der folgenden Untersuchung 55 Patienten mit verschiedenen hämatologischen Erkrankungen in drei verschiedene Dosisgruppen eingeteilt [51]. Alle Patienten erhielten Fludarabin 30 mg/m² an den Tagen -6 bis -2 (entsprechend einer Gesamtdosis von 150 mg/m²) kombiniert mit Treosulfan 10 g/m² (20 Patienten) bzw. 12 g/m² (18 Patienten) bzw. 14 g/m² (17 Patienten) an den Tagen -6 bis -4 (entsprechend einer Gesamtdosis von 30 g/m² bis 42 g/m²). Anschließend erfolgte die allogene HSZT. Die immunsuppressive Therapie bestand aus MTX kombiniert mit CSA. Patienten mit einem unverwandten Spender erhielten zusätzlich ATG. Nach 100 Tagen wurde, bezogen auf die gesamte Studienpopulation, bei 94 % der Patienten ein kompletter Spenderchimärismus erreicht. Ein sekundäres Transplantatversagen wurde nicht beobachtet. Zwischen den drei Treosulfan-Dosisgruppen zeigte sich hinsichtlich des Engraftments kein signifikanter Unterschied. Die nach CTC dokumentierten Toxizitäten waren gering und korrelierten nicht mit der eingesetzten Dosis des Treosulfans. Insgesamt zeigte die Gruppe mit der höchsten Treosulfan-Dosis die wenigsten Grad 3 oder 4 Toxizitäten. Eine aGvHD Grad 2 bis 4 entwickelten 42 % aller Patienten. Bezogen auf alle drei Dosisgruppen zeigten 57 % der Untersuchten eine milde bis schwere cGvHD. Die NRM betrug nach zwei Jahren 20 %. Die Haupttodesursachen waren das Auftreten einer GvHD (11 %) oder von Infektionen (11 %). Für die gesamte Patientenpopulation wurde nach 24 Monaten ein OS von 64 % sowie ein progressionsfreies Überleben (PFS) von 49 %

erreicht. Die Rezidivrate betrug nach einem Jahr bezogen auf alle Patienten 28 % und war mit 40 % in der niedrigsten Dosisgruppe (3 x 10 g/m² Treosulfan) am höchsten. Nach zwei Jahren ergab sich für die Dosisgruppe 3 x 10 g/m² Treosulfan eine Rezidivrate von 67 % gegenüber einer Rate von 29 % bzw. 0 % nach Treosulfan in einer Dosis von 3 x 12 g/m² bzw. 3 x 14 g/m². In Folge dieser Resultate wurde die Konditionierung mit Treosulfan in der Dosierung 3 x 14 g/m² aufgrund der geringen Toxizität und der niedrigen Rezidivrate als vielversprechende therapeutische Option bewertet [51, 53-55].

1.6 Fragestellung und Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

Die vorliegende Arbeit baut auf den bisher dargestellten Ergebnissen auf. Es werden die Resultate nach einer Konditionierungstherapie mit Treosulfan und Fludarabin sowie anschließender allogener HSZT untersucht. Die Mehrzahl der Patienten ist z. B. aufgrund eines erhöhten Lebensalters oder des Vorliegens von Begleiterkrankungen für eine konventionelle HSZT ungeeignet.

In der dieser Arbeit vorausgegangenen Studie mit einer Dosisescalation von 3 x 10 g/m² Treosulfan über 3 x 12 g/m² auf 3 x 14 g/m² Treosulfan (Gesamtdosen von 30 bis 42 g/m²) [51] wurde die mit nachfolgender HSZT maximal tolerable Treosulfan-Dosis (bei Einmalgabe) von 47 g/m² nicht erreicht. Im Sinne einer toxizitätsreduzierten Konditionierungstherapie und um einen maximalen Antitumoreffekt zu erreichen, wurde der Konditionierungszeitraum verlängert und die Gesamtdosis des Treosulfans weiter erhöht. Die vorliegende Untersuchung erfolgte im Kontext der, in der Abteilung für Hämatologie und Onkologie der Klinik für Innere Medizin der Universität Rostock, durchgeführten Studien zur Dosisescalation von Treosulfan. Durch die im Rahmen der Aktivierung des Treosulfans als Nebenprodukt entstehende Methansulfonsäure ist nach der Einmalgabe von 47 g/m² Treosulfan oder höheren Dosen das Auftreten einer relevanten Azidose beschrieben [43]. Zur Vermeidung dieser Azidose und zur Gewährleistung eines ausreichenden stammzelltoxischen Effektes [39] wird die Gabe von Treosulfan in mehreren Einzeldosen empfohlen [43]. In der vorliegenden Untersuchung wurde in Einzelfällen eine Gesamtdosis von 40 g/m² Treosulfan über 5 Tage (5 x 8 g/m²) appliziert und die bekannte maximal tolerable Dosis des Treosulfans unterschritten. Aufgrund der guten Verträglichkeit wurde auf eine Dosis von 5 x 10 g/m² Treosulfan (Gesamtdosis

50 g/m²) eskaliert und die Gesamtdosis 3 g/m² über die nach einmaliger Applikation maximal tolerable Dosis von 47 g/m² Treosulfan gesteigert.

Die Evaluation der vorbestehenden Komorbiditäten erfolgt durch Ermittlung des spezifischen Komorbiditätsindex für hämatopoetische Stammzelltransplantationen (HCT-CI) und die Dokumentation der therapieassoziierten Toxizitäten erfolgt nach CTC (Common Toxicity Criteria des National Cancer Institute, USA). Zur Beurteilung dieses Therapieverfahrens hinsichtlich der Effektivität werden als Endpunkte dieser Arbeit das Engraftment und die Entwicklung eines Spenderchimärismus als Zeichen des Transplantationserfolges, die Rezidivrate und das EFS sowie OS untersucht und mit den Resultaten nach der Konditionierungstherapie mit Treosulfan in geringerer Dosierung bzw. nach intensitätsreduzierten Therapien oder nach Standardkonditionierung verglichen. Für die Beurteilung der Sicherheit der gewählten Konditionierungstherapie liegt, insbesondere in Anbetracht der Erhöhung der Dosierung, der Fokus des Interesses auf der Evaluation der Häufigkeit und der Schwere der therapieassoziierten Toxizitäten.

2 Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

In diese Untersuchung wurden 21 Patienten eingeschlossen, die sich in dem Zeitraum zwischen Dezember 2005 und August 2007 in der Klinik für Innere Medizin der Universität Rostock, Abteilung Hämatologie und Onkologie, aufgrund unterschiedlicher maligner hämatologischer Erkrankungen einer allogenen HSZT unterzogen haben.

Alle Patienten wurden über die unterschiedlichen Therapieoptionen, den Ablauf der HSZT sowie mögliche Komplikationen und Nebenwirkungen ihrer Behandlung aufgeklärt und gaben nach ausreichender Bedenkzeit ihr schriftliches Einverständnis. Die Durchführung der vorliegenden Untersuchung erfolgte als individueller Heilversuch im Kontext der in der oben genannten Abteilung durchgeführten Studien zur Dosisescalation mit Treosulfan.

Die untersuchte Patientengruppe bestand sowohl aus weiblichen (n = 8) als auch aus männlichen Patienten (n = 13) im Alter von 19 bis 69 Jahren (Median = 51 Jahre) mit unterschiedlichen hämatologischen Erkrankungen. Es waren elf Patienten an einer AML, sechs Patienten an einer CML, ein Patient an einer akuten lymphatischen Leukämie (ALL) und drei Patienten an einem Non-Hodgkin-Lymphom (NHL) erkrankt. Zum Transplantationszeitpunkt befanden sich acht Patienten (38,1 %) in CR, davon fünf (23,8 %) in erster und drei (14,3 %) in zweiter CR. Drei Patienten (14,3 %) befanden sich in erster (n = 1; 4,8 %) oder zweiter (n = 2; 9,5 %) partieller Remission (PR), vier Patienten (19,0 %) im Stadium der progressiven Erkrankung (PD), ein Patient (4,8 %) im ersten Blastenschub (BS) und fünf Patienten (23,8 %) in der ersten CP. Vier Patienten (19,0 %) sind im Rezidiv transplantiert worden. Der Zeitraum zwischen Diagnosestellung und allogener HSZT betrug zwischen fünf Wochen und 196 Monaten (16,3 Jahre). Im Median vergingen sieben Monate bis zur HSZT. Alle 21 Patienten wurden bereits zuvor chemotherapeutisch behandelt. Zwölf Patienten (57,1 %) hatten eine Vortherapie, sechs Patienten (28,6 %) zwei Vortherapien, ein Patient (4,8 %) drei Vortherapien und zwei Patienten (9,5 %) hatten vier Vortherapien erhalten. Eine autologe HSZT ging bei zwei Patienten (9,5 %) voraus. Ein hohes Rezidivrisiko bestand bei 13 Patienten (61,9 %) aufgrund

ungünstiger zytogenetischer Merkmale und/ oder eines unzureichenden bzw. fehlenden Ansprechens auf die Initialtherapie.

Die Mehrzahl der Patienten (n = 15; 71,4 %) wurde anhand eines oder mehrerer der Kriterien

- vorhergehende TBI 12 Gy
- vorhergehende Radiotherapie Thorax > 39 Gy
- forcierte Einsekundenkapazität (FEV1) < 60 %
- Diffusionskapazität < 50 %
- ausgeprägte Toxizität in der Vorbehandlung
- Multimorbidität
- Alter > 55 Jahre

als ungeeignet für die Ganzkörperbestrahlung oder für konventionelle Transplantationsschemata befunden und qualifizierte sich daher für die vorliegende Untersuchung. Da die Applikation von voll dosiertem Busulfan als im Vergleich deutlich nebenwirkungsintensiver bewertet wurde, erfolgte trotz des klinisch ausreichenden Allgemeinzustandes für eine konventionelle HSZT auch bei den anderen sechs Patienten eine toxizitätsreduzierte Konditionierung mit Treosulfan. Die sechs an einer CML erkrankten Patienten wurden aufgrund der relativ hohen Rate (molekularer) Rezidive (46 %) nach 3-tägiger Konditionierung mit Treosulfan und den dann unter adoptiver Therapie anhaltenden Remissionen [56] der Konditionierungstherapie mit Treosulfan über 5 Tage zugeführt. Für Einzelheiten zu den Patientencharakteristika siehe Tabelle A1 im Anhang.

2.2 Datenerfassung

Die Informationen bezüglich der zu untersuchenden Punkte wurden retrospektiv durch manuelle Sichtung der vollständigen Patientenakten gewonnen und mit Hilfe von Microsoft Office Excel in Tabellen dokumentiert. Dabei wurden je nach Gegenstand der Betrachtung definierte Zeiträume vor bzw. nach der HSZT untersucht. Diese werden in den weiteren Abschnitten genau aufgeführt.

Im Median wurden für diese Studie Daten bis 283 Tage (69-635 Tage) nach der HSZT erhoben. Limitierende Faktoren waren das Ende der Datenerfassung am 10.12.2007 oder der Tod des Patienten.

2.3 Evaluation der Komorbiditäten

Zur Einschätzung des allgemeinen Gesundheitszustandes der Patienten und des Transplantationsrisikos wurden die Begleiterkrankungen bzw. Einschränkungen der Organfunktionen mit Hilfe des HCT-CI nach den dort vorgegebenen Kriterien anhand von Laborparametern und Untersuchungsbefunden dokumentiert [9]. Der hierfür betrachtete Zeitraum begann drei Wochen vor Beginn der Konditionierungstherapie und reichte bis zum Tag der HSZT (d 0). Für das Kriterium „Solider Tumor“ wurden nicht nur die 14 Tage vor der HSZT beurteilt, sondern die gesamte Anamnese des Patienten. Trotz einer gewissen Flexibilität bezüglich der Untersuchungszeitpunkte konnten wegen fehlender Befunde bei einer Patientin weder die Lungenfunktion noch die kardiale Ejektionsfraktion dokumentiert werden und bei jeweils einem weiteren Patienten lagen keine Ergebnisse der Spirometrie bzw. der Echokardiographie vor. Nicht im HCT-CI berücksichtigte Erkrankungen wurden aufgrund der kleinen Patientenzahl separat aufgeführt.

Für die sechs Patienten mit CML wurden zusätzlich die Risikofaktoren anhand des von Gratwohl veröffentlichten Scores evaluiert [57]. Berücksichtigt werden dabei die in Tabelle 1 aufgeführten Faktoren.

	0 Punkte	1 Punkt	2 Punkte
Spendertyp	HLA-identer Geschwisterspender	nicht-verwandter Spender	-
Krankheitsstadium	1. chronische Phase	akzelerierte Phase	Blastenkrise oder höhere chronische Phase
Alter des Empfängers	< 20 Jahre	20 bis 40 Jahre	> 40 Jahre
Geschlechterverhältnis Empfänger/ Spender	alle anderen Kombinationen	männlicher Empfänger und weiblicher Spender	-
Zeit zwischen Diagnose und HSZT	< 12 Monate	> 12 Monate	-

Tabelle 1: Kriterien zur Bestimmung des Gratwohl Scores [57]

2.4 Allogene Stammzelltransplantation

2.4.1 Spenderauswahl

Die Spenderauswahl erfolgte nach den Empfehlungen des Dritten Deutschen Konsensus für die immungenetische Spendersuche [58]. Eine HLA-Identität zwischen Spender und Empfänger, sog. 10/10 Match, liegt vor bei vollständiger Übereinstimmung an den Genorten HLA-A, B, C, DRB1 und DQB1. Bei Stammzellspenden unter Verwandten wird maximal ein HLA-Antigen-Mismatch in GvH-Richtung (Transplantat-gegen-Wirt) und/oder HvG-Richtung (Wirt-gegen-Transplantat) toleriert (9/10-Match). In dieser Untersuchung konnte für alle Konstellationen mit verwandtem Spender HLA-ident (10/10) transplantiert werden. Für Transplantationen zwischen Unverwandten können, sofern kein identischer Spender verfügbar ist, ebenfalls Spender mit einem HLA-Allel-Mismatch oder auch einem HLA-Antigen-Mismatch in GvH- und/oder HvG-Richtung ausgewählt werden. Bei dringender Transplantationsindikation können auch Spender mit einem < 9/10 Match in Betracht gezogen werden. Als letzte Verträglichkeitsprobe wurde eine Crossmatch-Untersuchung durchgeführt. Ein positives Ergebnis im Crossmatch führte prinzipiell zum Spenderausschluss. In Ausnahmefällen hätte bei dringender Transplantationsindikation und fehlenden Alternativspendern auch ein positiver Crossmatchtest toleriert werden können. Die Spender wurden vor der HSZT umfassend klinisch untersucht. Zudem erfolgte eine Blutentnahme um sowohl serologische (z. B. CMV-Status, Hepatitisserologie) als auch paraklinische Parameter zu erheben und bei von der Norm abweichenden Werten ggf. weitere Untersuchungen einzuleiten. Fremdspender wurden durch die Entnahmeklinik freigegeben. Am Tag der HSZT erhielten die Patienten hämatopoetische Stammzellen aus dem Knochenmark (KM) (n = 3; 14,3 %) bzw. aus dem peripheren Blut (PBSC) (n = 18; 85,7 %) HLA-identer verwandter Spender (MRD) (n = 5; 23,8 %), HLA-identer unverwandter Spender (MUD) (n = 10; 47,6 %) oder von nicht-HLA-identen unverwandten Spendern (mis MUD) (n = 6; 28,6 %). In den sechs nicht-HLA-ident durchgeführten HSZT lag bei fünf Patienten ein 9/10 Match vor und bei einem Patienten ein 8/10 Match.

Einzelheiten zu den Transplantationsdaten können der Tabelle A2 im Anhang entnommen werden.

2.4.2 Konditionierungstherapie

Die Konditionierung der Patienten erfolgte mit Fludarabin (Schering AG, Berlin) und Treosulfan (medac GmbH, Hamburg).

In dieser Untersuchung erhielten alle 21 Patienten von Tag -6 bis Tag -2 Fludarabin intravenös (i. v.) über 30 Minuten in einer Dosierung von 30 mg/m². Zusätzlich wurde an denselben Tagen Treosulfan i. v. über zwei Stunden verabreicht, für sechs Patienten in der Dosierung 8 g/m² (Gesamtdosis 40 g/m²), die anderen 15 Patienten bekamen 10 g/m² Treosulfan (Gesamtdosis 50 g/m²). Ein Patient (Nr. 10) der Gruppe 5 x 10 g/m² erhielt im Rahmen eines relevanten Transaminasenanstieges am Tag 5 keine weitere Treosulfan-Gabe. Im Rahmen eines individuellen Heilversuches mit einer Konditionierungstherapie mit Treosulfan über 5 Tage wurde bei den älteren, morbideren Patienten die maximal tolerable Treosulfan-Dosis von 47 g/m² deutlich unterschritten und es erfolgte die Zuordnung zur Dosisgruppe 5 x 8 g/m² Treosulfan. Bei den im Vergleich dazu etwas jüngeren aber dennoch gefährdeten Patienten wurde die maximal tolerable Dosis Treosulfan von 47 g/m² etwas überschritten und Treosulfan in einer Dosierung von 5 x 10 g/m² appliziert. Die allogene HSZT fand am Tag 0 statt. Die Patienten, die Treosulfan in einer Dosierung von 5 x 8 g/m² erhielten (Pat. Nr. 1 bis 6), sind in dieser Arbeit in allen Tabellen fett und schräg gedruckt. Zur übersichtlicheren Darstellung des Konditionierungsschemas siehe Tabelle 2.

	Tag						
	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0
Treosulfan i. v. (8 g/m² bzw. 10 g/m²)	X	X	X	X	X		
Fludarabin i. v. (30 mg/m²)	X	X	X	X	X		
allogene HSZT							X

Tabelle 2: Konditionierungsschema Fludarabin/ Treosulfan

Alle Patienten erhielten Fludarabin 30 mg/m² an den Tagen -6 bis -2. Die zusätzliche Gabe von Treosulfan erfolgte für 6 Patienten (Patientennummer 1 – 6) in der Dosierung 8 g/m², für die anderen 15 Patienten in der Dosierung 10 g/m².

2.4.3 Supportive Therapie

Die Unterbringung der Patienten erfolgte in Zimmern mit Laminar Air Flow. Die Prophylaxe und die Therapie von Infektionen erfolgten nach den Standards der Transplantationseinrichtung adaptiert an die Richtlinien der „Arbeitsgruppe

Infektionen in der Hämatologie und Onkologie“ (AGIHO) der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (DGHO) [59-60]. In der Regel erhielten alle Patienten eine antivirale Prophylaxe mit Aciclovir sowie ab Beginn der Neutropeniephase eine zusätzliche antibiotische Prophylaxe mit Levofloxacin.

Erythrozytenkonzentrate (EK) wurden routinemäßig ab einem Hämoglobinwert $\leq 5,0$ mmol/l transfundiert. Die Transfusion von Thrombozytenkonzentraten (TK) erfolgte bei Thrombozytenzahlen ≤ 10 Gpt/l. Traten Blutungen auf oder befanden sich die Patienten in einem septischen Zustand erfolgte die Indikationsstellung zur Transfusion von EK bzw. TK entsprechend großzügiger.

2.4.4 GvHD-Prophylaxe

Zur Prophylaxe einer GvHD erhielten alle Patienten CSA spiegeladaptiert (Ziel 100 – 250 $\mu\text{g/l}$). 19 Patienten erhielten CSA in Kombination mit MTX (CSA spiegeladaptiert; MTX 15 mg/m^2 am Tag +1, +3, +6 und +11). Patienten mit unverwandten Spendern ($n = 14$) wurden zur Prophylaxe einer GvHD zudem mit ATG (ATG 10 mg/kg , d -3 bis -1) behandelt. Bei einem Patienten (Pat. Nr. 17) wurde wegen beidseits vorhandener zerebraler Hygrome auf ATG verzichtet und alternativ Rituximab 1 x 375 mg/m^2 am Tag -5 eingesetzt. Der Patient Nr. 3 erhielt aufgrund eines höheren GvHD-Risikos bei einem HLA-Mismatch auf zwei Allelen statt ATG Alemtuzumab (Campath) 5 x 20 mg i. v. an den Tagen -6 bis -2. Nach der HSZT erhielten alle Patienten CSA. Als Zielbereich wurden CSA-Spiegel zwischen 180 – 250 $\mu\text{g/l}$ angestrebt. Bei Ausbleiben einer GvHD erfolgte eine Reduktion der Immunsuppression ab Tag 100 nach HSZT. Für Einzelheiten siehe Tabelle A2 im Anhang.

2.5 Evaluation der Toxizität

Um die möglicherweise im Zusammenhang mit der Konditionierungstherapie mit Treosulfan in Erscheinung tretenden Toxizitäten zu erfassen wurden zwei verschiedene Zeiträume auf das Auftreten von im „Common Terminology Criteria for Adverse Events Version 3.0“ (CTCAE v.3.0) definierten Ereignissen bzw. Symptomen untersucht [61].

Um neu aufgetretene Toxizitäten von schon vorher vorhandenen Veränderungen unterscheiden zu können, erfolgte eine Dokumentation der Parameter zum Einen 14 Tage vor Beginn der Konditionierungstherapie mit Treosulfan und zum Anderen während des Zeitraums von Beginn der Treosulfan-Gabe (d-6) bis Tag 28 nach

HSZT. Anschließend wurden die tabellarisch dokumentierten Toxizitäten bezüglich eines möglichen Zusammenhangs mit der Gabe von Treosulfan ausgewertet. Alle aufgetretenen Symptome, bei denen eine Korrelation mit der Treosulfan-Gabe nicht sicher ausgeschlossen werden konnte, wurden mit selbiger in einen Kausalzusammenhang gestellt.

2.6 Engraftment

Zur Beurteilung der Regeneration der Leukozyten-, Thrombozyten- und Neutrophilenzahlen wurden diese jeweils von Tag -7 bis Tag 28 (HSZT am Tag 0) dokumentiert und der Median separat für die einzelnen Dosisgruppen grafisch dargestellt. Für jeden Patienten wurde das Engraftment von den oben genannten Zellreihen bestimmt.

Das Leukozyten-Engraftment ist definiert als erster von drei aufeinander folgenden Tagen, an denen die Leukozyten Werte $> 1 \times 10^9/l$ erreichten. Gleiches gilt für die neutrophilen Granulozyten mit einem Zielwert $> 0,5 \times 10^9/l$. Bezüglich der Thrombozyten wurde sowohl der erste von drei aufeinander folgenden Tagen ohne Gabe von TK mit einer Thrombozytenzahl $> 20 \text{ Gpt } /l$ als auch mit einem Wert $> 50 \text{ Gpt } /l$ bestimmt.

Primäres Transplantatversagen (Graft Failure) ist definiert als Nichterreichen eines Engraftments bis Tag 28. Sekundäres Transplantatversagen ist definiert als Absinken der Zellzahlen unter oben genannte Zielwerte, nachdem bereits ein Engraftment erreicht worden war und andere Ursachen wie zum Beispiel Rezidiv, virale Infektionen oder Arzneimitteltoxizität ausgeschlossen wurden.

2.7 Chimärismus–Analyse

Am Tag 28 +/- 3 Tage sowie am Tag 100 +/- 10 Tage erfolgte aus peripherem Blut oder KM eine Chimärismus-Analyse durch das Institut für Rechtsmedizin der Universität Rostock. Die Chimärismus-Bestimmung wird mittels STR-Analysen durchgeführt. STR (Short Tandem Repeats) sind kurze repetitive DNA-Sequenzen. Diese kommen in verschiedenen Kombinationen bei allen Menschen, abgesehen von eineiigen Zwillingen, als individualtypisches DNA-Merkmal vor und können somit für die genetische Identifizierung von Personen herangezogen werden. Das

Resultat der Analyse ist die Bestimmung des prozentualen Anteils von Spender- und Empfängerhämatopoese.

In dieser Untersuchung wurden, sofern vorhanden, die Ergebnisse der Chimärismus-Analyse von d28 +/- 3 Tage und d100 +/- 10 Tage dokumentiert. Außerdem wurden der höchste erreichte Wert und dessen Bestimmungsdatum notiert. Patienten, die zu diesen Zeitpunkten (d28 +/- 3 Tage und d100 +/- 10 Tage) bereits verstorben waren, so dass keine Werte mehr erhoben werden konnten bzw. Patienten, bei denen aus anderen Gründen kein Resultat der Chimärismus-Analyse vorliegt, wurden bei der Berechnung der Chimärismus-Raten (Anteil kompletter Spenderchimärismen zu einem bestimmten Zeitpunkt in %) nicht berücksichtigt.

2.8 Akute und chronische GvHD

Die Diagnose einer aGvHD wurde anhand der klinischen bzw. paraklinischen Symptome der Manifestation an Haut, Darm oder Leber gestellt und histologisch gesichert. Der Schweregrad der Beteiligung der einzelnen Organe wurde nach der Glucksberg-Klassifikation eingeteilt [62]. Siehe hierfür auch Tabelle 3. Wie in Tabelle 4 dargestellt erfolgte die Festlegung des Gesamtausprägungsgrades modifiziert nach den Keystone Kriterien [63].

Dokumentiert wurden der klinische Gesamtgrad, die jeweiligen Schweregrade der im Einzelnen betroffenen Organsysteme und das Datum des Auftretens der ersten Symptome.

Behandelt wurde eine aGvHD ab dem klinischen Grad 2 in erster Linie mit Methylprednisolon, initial 2 mg/kg/Tag, und gegebenenfalls zusätzlicher Einstellung auf einen therapeutischen CSA-Spiegel. Bei Progredienz unter Therapie nach drei Tagen oder Nichtansprechen der Therapie nach fünf Tagen erfolgte die Behandlung für fünf Tage mit ATG 2,5 mg/kg zusätzlich zur Therapie mit Methylprednisolon und CSA.

Alle Patienten die länger als 100 Tage überlebten wurden anhand der Kriterien des National Institutes of Health der Vereinigten Staaten Amerikas (NIH-Kriterien) hinsichtlich des Vorliegens einer cGvHD untersucht [64]. In die Dokumentation aufgenommen wurden der Gesamtgrad, die Schweregrade der einzelnen beteiligten Organe und der Zeitpunkt der ersten Symptomatik. Patienten die vor Tag 100 verstarben wurden bei der Berechnung der cGvHD-Raten (Anteil erkrankter

Patienten zu einem bestimmten Zeitpunkt in %) nicht berücksichtigt. Die Therapie der cGvHD erfolgte in Abhängigkeit des Schweregrades der GvHD und des Rezidivrisikos des Patienten in der Regel mit Prednisolon, gegebenenfalls in Kombination mit einem Calcineurin-Inhibitor.

	Stadium 0	Stadium 1	Stadium 2	Stadium 3	Stadium 4
Haut	kein Erythem	Erythem < 25 % der KÖF	Erythem 25 % bis 50 % der KÖF	generalisiertes Erythem	generalisiertes Erythem mit Blasenbildung & Desquamation
Darm	Diarrhoe < 500 ml/Tag	Diarrhoe 500 bis 1000 ml/Tag	Diarrhoe 1000 bis 1500 ml/Tag	Diarrhoe > 1500 ml/Tag	„Akutes Abdomen“ mit oder ohne paralytischem Ileus
Leber	Bilirubin < 34 µmol/l; AP < 550 U/l	Bilirubin 34 bis 50 µmol/l; AP > 550 U/l i. S. in 2 Proben	Bilirubin 51 bis 102 µmol/l	Bilirubin 103 bis 255 µmol/l	Bilirubin > 255 µmol/l

Tabelle 3: Organstadien der akuten GvHD (modifiziert nach [62])

Grad	Haut	Darm	Leber
0	keine Beteiligung oder Stadium 0	keine Beteiligung oder Stadium 0	keine Beteiligung oder Stadium 0
1	Stadium 1 oder 2	keine Beteiligung oder Stadium 0	keine Beteiligung oder Stadium 0
2	Stadium 3 oder	Stadium 1 oder	Stadium 1
3	-	Stadium bis 4	Stadium 2 oder 3
4	Stadium 4	-	Stadium 4

Tabelle 4: Klinische Schweregrade der akuten GvHD (modifiziert nach [63])

2.9 Überleben

Die Datenerfassung endete am 10.12.2007 für alle Patienten oder vorzeitig durch den Tod des Patienten.

Als OS gilt der Zeitraum zwischen HSZT und dem Datum, an dem die Patienten während des Erhebungszeitraumes zum letzten Mal in der Nachkontrolle gesehen wurden bzw. dem Todesdatum. Entsprechend wurde der Status (lebend vs. verstorben) am jeweiligen Tag evaluiert.

Für die Zeit des EFS wurde das Datum erhoben, an welchem ein Rezidiv festgestellt werden konnte oder der Tod eintrat. Ist keines der beiden Ereignisse eingetreten, wird das Datum der letzten Kontrolle im gesamten Beobachtungszeitraum gewertet.

Zur Beurteilung der Rezidivrate wird der Tag erfasst, an dem ein Rezidiv diagnostiziert wurde bzw. bei den rezidivfreien Patienten der letzte Zeitpunkt im Beobachtungszeitraum an dem kein Anhalt für ein Rezidiv bestand.

Die NRM ist definiert als der Anteil der Patienten, die an therapiebedingten oder anderen Ursachen verstarben, ohne zuvor an einem Rezidiv der Grunderkrankung gelitten zu haben. Dafür wird der Zeitraum in Tagen bestimmt, der zwischen der HSZT und dem nicht durch ein Rezidiv verursachten Tod eines Patienten verstrichen ist. Bei Patienten mit einem Rezidiv wird die Zeitspanne bis zum Datum der Diagnosestellung des Rezidivs gezählt. Bei überlebenden Patienten ohne Rezidiv entspricht der Zeitraum dem OS. Bei den verstorbenen Patienten wurde die jeweilige Todesursache erhoben.

2.10 Auswertung und Statistik

Die erhobenen Daten wurden für drei Gruppen ausgewertet, wovon die erste Gruppe durch das gesamte Patientenkollektiv gebildet wird, die zweite Gruppe von den Patienten mit der Treosulfan-Dosierung $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ gestellt wird und die dritte Gruppe den Patienten mit der Treosulfan-Dosierung $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ entspricht. Für die untersuchten Toxizitäten wurden jeweils die absoluten und relativen Häufigkeiten in den einzelnen Gruppen bestimmt. Dies gilt auch für das Auftreten der GvHD und des vollständigen Spenderchimärismus. Das Engraftment von Leukozyten, neutrophilen Granulozyten und Thrombozyten wurde ebenfalls für diese drei Gruppen ausgewertet und der zeitliche Verlauf der Zellzahlen grafisch dargestellt. Das OS, die Rezidivrate, das EFS und die NRM wurden nach den unter 2.9. beschriebenen Kriterien dokumentiert und mit Hilfe von „Microsoft Office Excel“ nach Kaplan-Meier grafisch dargestellt. Die grafische Darstellung der Häufigkeit verschiedener Todesursachen erfolgte in Diagrammen.

Zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse der beiden Dosisgruppen erfolgte eine zusätzliche Auswertung nach Angleichung der Patientenzahlen beider Dosisgruppen. Dazu wurden aus der Gruppe der Patienten mit der Treosulfan-Dosierung $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ sieben Patienten zufällig ausgewählt und die Ergebnisse hinsichtlich des

Auftretens therapieassoziierter Toxizitäten oder einer GvHD sowie hinsichtlich der Rezidiv- und Überlebensraten zusätzlich mit den Resultaten der Gruppe Treosulfan 5 x 8 g/m² verglichen. Ziel dieser Angleichung der Fallzahlen ist es, einen möglichen Einfluss der Patientenzahlen auf die Ergebnisse auszugleichen und zu untersuchen, ob zwischen den beiden Dosisgruppen beobachtete Unterschiede auch noch bei gleicher Fallzahl bestehen. Bei den sieben zufällig ausgewählten Patienten handelt es sich um die Patienten 9; 12; 15; 18; 19; 20 und 21.

Die Berechnung statistischer Tests erfolgte mit der Software „SPSS Statistics“ [65-66]. Als Test auf Normalverteilung fand der Kolmogorov-Smirnov Test Anwendung [65, 67]. Für den statistischen Vergleich der einzelnen Dosisgruppen bezüglich binärer Merkmale wurde für Kontingenztafeln mit weniger als 30 Fällen bzw. mit weniger als 5 Beobachtungen pro Feld der Exakte Test nach Fisher genutzt [67-68]. Die Überlebenszeitanalyse erfolgte mit der Kaplan-Meier-Methode und der entsprechende Gruppenvergleich mit Hilfe des Log-Rang-Tests [66-67, 69-70].

3 Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

Während des Erhebungszeitraums wurden insgesamt 21 Patienten mit einem medianen Alter von 51 Jahren (19 bis 69 Jahre) mit einer Treosulfan-haltigen Chemotherapie (Treosulfan 5 x 8 g/m² n = 6 und Treosulfan 5 x 10 g/m² n = 15) konditioniert. Das Alter der Patienten lag bei Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test) in der Gruppe Treosulfan 5 x 8 g/m² im Median bei 61,5 Jahren (Mittelwert 60,3 Jahre) und damit im Vergleich zur Gruppe 5 x 10 g/m² Treosulfan (Median 44,0 Jahre, Mittelwert 42,7 Jahre) ca. 17 Jahre höher (t-Test für unabhängige Stichproben, statistische Signifikanz mit $t = 2,63$; $\alpha = 0,05$, FG = 19). Während in der Gruppe 5 x 8 g/m² nur männliche Patienten (100 %) vertreten waren, wurde die Gruppe 5 x 10 g/m² Treosulfan zu annähernd gleichen Teilen von männlichen (46,7 %) und weiblichen (53,3 %) Patienten gebildet.

Der Anteil der als Mismatch durchgeführten HSZT war in der 5 x 8 g/m² Gruppe um 30 % höher als in der anderen Dosisgruppe (5 x 8 g/m² 50 % vs. 5 x 10 g/m² 20 %). In beiden Gruppen erhielten die Patienten hauptsächlich PBSC (5 x 8 g/m² 100 % vs. 5 x 10 g/m² 80 %). Im Median wurden $4,26 \times 10^6$ /kg CD34⁺-Zellen transplantiert ($1,39 \times 10^6$ /kg bis $14,0 \times 10^6$ /kg). Die Anzahl der transplantierten CD34⁺-Zellen war in beiden Gruppen vergleichbar (5 x 8 g/m²: Median $5,53 \times 10^6$ /kg, Range $4,26 \times 10^6$ /kg bis $7,06 \times 10^6$ /kg; 5 x 10 mg/m²: Median $3,36 \times 10^6$ /kg, Range $1,39 \times 10^6$ /kg bis $14,0 \times 10^6$ /kg).

In der Gruppe der Patienten mit der Treosulfan-Dosierung 5 x 8 g/m² ist vergleichsweise etwa ein Jahr mehr Zeit zwischen Diagnose und HSZT vergangen und es haben signifikant mehr Patienten bereits mehr als eine Vortherapie erhalten (83,3 % vs. 26,7 %, Exakter Test nach Fisher, $p = 0,046$). Bei jeweils einem Patienten pro Dosisgruppe ist eine autologe HSZT vorausgegangen. Die Krankheitsstadien zum Transplantationszeitpunkt (5 x 8 g/m²: CR 33,3 %, Nicht-CR 66,7 % vs. 5 x 10 g/m²: CR 40 %, Nicht-CR 60 %) und die Risikofaktoren für eine konventionelle HSZT sind in beiden Gruppen ähnlich. Eine detaillierte Darstellung der Patientencharakteristika findet sich in Tabelle 5.

3.2 Komorbiditäten

Für die mit Hilfe des HCT-CI [9] dokumentierten Begleiterkrankungen ergeben sich im Einzelnen die im Anhang in Tabelle A3 aufgelisteten Ergebnisse. Die Tabelle A4 im Anhang zeigt darüber hinausgehend zusätzliche Erkrankungen, welche nicht durch den HCT-CI erfasst werden.

	Treo sulfan Dosis		
	Gesamt	5 x 8 g/m ²	5 x 10 g/m ²
Patienten (N) (%)	21 (100)	6 (100)	15 (100)
Alter in Jahren Median (Range)	51 (19-69)	61,5 (51-69)	44 (19-67)
Alter in Jahren Mittelwert (Range)	47,7 (19-69)	60,3 (51-69)	42,7 (19-67)
Weiblich	8 (38,1)	0 (0)	8 (53,3)
Männlich	13 (61,9)	6 (100)	7 (46,7)
Spender			
MRD	5 (23,8)	1 (16,7)	4 (26,7)
MUD	10 (47,6)	2 (33,3)	8 (53,3)
mis MRD	0 (0)	0 (0)	0 (0)
mis MUD	6 (28,6)	3 (50)	3 (20)
Stammzellquelle			
Knochenmark	3 (14,3)	0	3 (20)
Peripheres Blut	18 (85,7)	6 (100)	12 (80)
Zahl CD34 ⁺ Zellen x 10 ⁶ Zellen/kg Median (Range)	4,26 (1,39-14)	5,53 (4,26-7,06)	3,36 (1,39-14)
Erkrankung			
AML	6 (28,6)	1 (16,7)	5 (33,3)
hm NHL	1 (4,8)	1 (16,7)	0 (0)
nm NHL	1 (4,8)	1 (16,7)	0 (0)
sek. AML	5 (23,8)	1 (16,7)	4 (26,7)
ALL	1 (4,8)	1 (16,7)	0 (0)
sek. hm NHL	1 (4,8)	0 (0)	1 (6,7)
CML	6 (28,6)	1 (16,7)	5 (33,3)
Zeit zwischen Diagnose und HSZT Median in Jahren (Range)	0,61 (0,09-16,35)	1,81 (0,25-16,35)	0,42 (0,09-3,56)
Anzahl der Vortherapien			
0-1	12 (57,1)	1 (16,7)	11 (73,3)
> 1	9 (42,9)	5 (83,3)	4 (26,7)
Remissionsstadium zum Zeitpunkt der HSZT			
CR	8 (38,1)	2 (33,3)	6 (40)
Nicht-CR	13 (61,9)	4 (66,7)	9 (60)
Risikofaktoren für Standardkonditionierung			
Sorrow Score ≥ 3	13 (61,9)	4 (66,7)	9 (60)
keine konventionelle HSZT möglich	15 (71,4)	4 (66,7)	11 (73,3)
vorherige autologe HSZT	2 (9,5)	1 (16,7)	1 (6,7)

Tabelle 5: Patientencharakteristika

Dargestellt sind die absoluten und relativen Häufigkeiten der einzelnen Patientencharakteristika sowie der Transplantationsdaten für das gesamte Patientenkollektiv und die beiden Dosisgruppen.

Zusätzliche Erkrankungen waren bei 62 % der Patienten zu dokumentieren. Betroffen waren Patienten beider Dosisgruppen. In Tabelle A4 im Anhang ist zudem der Score nach Gratwohl [57] für die sechs an CML erkrankten Patienten dokumentiert. Bei 90 % aller Patienten waren Komorbiditäten zu dokumentieren, so dass ein Sorrow Score bzw. Punktwert nach HCT-CI > 0 erreicht wurde. In der Gruppe 5 x 8 g/m² Treosulfan war dies bei allen Patienten (100 %) der Fall und in der Dosisgruppe 5 x 10 g/m² bei 86,7 % der Patienten. Im Median betrug der Sorrow Score 3 Punkte (Range 0 bis 9 Punkte), wobei die Begleiterkrankungen und die entsprechenden Punktwerte in beiden Dosisgruppen vergleichbar verteilt waren. Einen Sorrow Score zwischen 0 und 2 Punkten erreichten insgesamt 38 % der Patienten (5 x 8 g/m² 33,3 %, 5 x 10 g/m² 40 %) und einen Punktwert ≥ 2 insgesamt 76,2 % der Patienten (5 x 8 g/m² 100 %, 5 x 10 g/m² 62,5 %). Einen Punktwert ≥ 3 erhielten in beiden Dosisgruppen etwa zwei Drittel der Patienten.

	Gesamt	Treosulfan Dosis	
		5 x 8 g/m ²	5 x 10 g/m ²
Patienten (N) (%)	21 (100)	6 (100)	15 (100)
Sorrow Score 0-2	8 (38,1)	2 (33,3)	6 (40)
Sorrow Score ≥ 2	16 (76,2)	6 (100)	10 (62,5)
Sorrow Score ≥ 3	13 (61,9)	4 (66,7)	9 (60)
Sorrow Score Median (Range)	3 (0-9)	3,5 (2-9)	3 (0-6)
Sorrow Score Mittelwert	3,2	4,3	2,8
Arrhythmie	1 (4,8)	0 (0)	1 (6,7)
BMI < 35 kg/m ²	1 (4,8)	0 (0)	1 (6,7)
Herzklappenerkrankung	5 (23,8)	1 (16,7)	4 (26,7)
Infektion	5 (23,8)	2 (33,3)	3 (20)
Lebererkrankung, mild	5 (23,8)	1 (16,7)	4 (26,7)
Lebererkrankung, moderat/ schwer	4 (19)	2 (33,3)	2 (13,3)
Nierenerkrankung, mild	4 (19)	2 (33,3)	2 (13,3)
Psychiatrische Erkrankung	1 (4,8)	0 (0)	1 (6,7)
Solider Tumor	2 (9,5)	1 (16,7)	1 (6,7)
Patienten (N) (%)	19 (100)	5 (100)	14 (100)
Kardiale Erkrankung	2 (10,5)	1 (20)	1 (7,1)
Pulmonale Erkrankung, mild	6 (31,6)	2 (40)	4 (28,6)
Pulmonale Erkrankung, moderat	5 (26,3)	3 (60)	2 (14,3)
Patienten (N) (%)	21 (100)	6 (100)	15 (100)
zusätzliche, nicht im HCT-CI erfasste Erkrankungen	13 (61,9)	5 (83,3)	8 (53,3)

Tabelle 6: Komorbiditäten/ Sorrow Score

Die Tabelle zeigt die absoluten und relativen Häufigkeiten der in den einzelnen Organsystemen dokumentierten Vorerkrankungen für das gesamte Patientenkollektiv sowie für die einzelnen Dosisgruppen.

Wegen fehlender Befunde konnten kardiale und pulmonale Vorerkrankungen nur für 19 Patienten beurteilt werden. Als führende Komorbiditäten sind in beiden Dosisgruppen pulmonale und hepatische Erkrankungen zu nennen. Zur Auswertung der erfassten Komorbiditäten siehe Tabelle 6.

3.3 Toxizität vor Beginn der Konditionierungstherapie

Um die mit der Konditionierung mit Treosulfan assoziierten Toxizitäten von bereits vorher vorhandenen Organdysfunktionen und paraklinischen Auffälligkeiten differenzieren zu können, wurde für alle Patienten der 14-tägige Zeitraum vor Konditionierungsbeginn hinsichtlich des Vorhandenseins von Symptomen, welche nach CTCAE v. 3.0 als Toxizitäten beschreibbar sind, untersucht. Dokumentiert wurden Ereignisse aller Schweregrade, wobei für die Auswertung nur Grad 3 und Grad 4 Toxizitäten berücksichtigt werden. Die bereits vor Beginn der Konditionierungstherapie mit Treosulfan bestehenden Beschwerden oder Krankheitsbilder sind für jeden Patienten in den Tabellen A5 und A6 im Anhang aufgelistet.

3.3.1 Gastrointestinaltrakt

Beschwerden im Bereich des Gastrointestinaltrakts wie Obstipation, Diarrhoe, Übelkeit, Erbrechen oder Mukositis wurden vor der Konditionierung mit Treosulfan bei sechs Patienten (28,6 %) beobachtet und erreichten maximal einen Grad 2 nach CTC.

3.3.2 Herz-Kreislauf-System

Bei fünf Patienten (23,8 %) konnte vor Konditionierungsbeginn eine arterielle Hypertonie unterschiedlichen Schweregrades dokumentiert werden.

3.3.3 Respirationstrakt

Ein Patient (4,8 %) litt bereits vor Beginn der Konditionierungstherapie an leichtem Husten (CTC Grad 1).

3.3.4 Haut

Bei drei Patienten (14,3 %) waren bereits zuvor bestehende Symptome Grad 1 und 2 nach CTC in Form eines Exanthems oder Pruritus zu verzeichnen.

3.3.5 Allgemeinsymptome

Allgemeinsymptome wie Fieber oder Schwitzen traten vor Beginn der Konditionierungstherapie bei insgesamt zwei Patienten (9,5 %) bis maximal Grad 2 nach CTC auf.

3.3.6 Infektionen

Eine Infektion Grad 2 in Form einer Enteritis bei normaler Anzahl neutrophiler Granulozyten (ANZ) oder mäßiger Neutropenie bestand vor Konditionierungsbeginn bei einem Patienten (4,8 %), eine Infektion Grad 3 bei erheblicher Neutropenie bei einem weiteren Patienten (4,8 %).

3.3.7 Schmerzen

Schmerzen in Form von Kopfschmerzen Grad 2 nach CTC waren im Vorfeld der Konditionierungstherapie bei einem Patienten (4,8 %) zu dokumentieren.

3.3.8 Laborparameter

Bei der Dokumentation paraklinischer Auffälligkeiten des 14-tägigen Zeitraums vor Beginn der Konditionierungstherapie zeigten sich nur bei einem Patienten alle untersuchten Laborparameter im Normbereich. Alle anderen Patienten (95,2 %) wiesen zumeist mehrere CTC Grad 1 oder 2 Veränderungen verschiedener Parameter auf. Bei drei Patienten (14,3 %) waren zusätzlich Grad 3 Abweichungen vom entsprechenden Normbereich bei jeweils einem Parameter auffällig.

3.3.9 Grad 3 und 4 Toxizitäten vor Beginn der Konditionierungstherapie

Vor Konditionierungsbeginn bestanden bei vier Patienten (19 %) Beschwerden oder Symptome des Herz-Kreislauf-Systems mit einem Grad 3 oder 4 nach CTC. In der Gruppe mit der Treosulfan-Dosis $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ war bei 20 % der Patienten eine bereits zuvor bestehende arterielle Hypertonie CTC Grad 3 oder 4 bekannt, in der Dosisgruppe $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ bei 16,7 % der Patienten. Veränderungen verschiedener Laborparameter Grad 3 oder 4 nach CTC waren insgesamt bei drei Patienten (14,3 %) festzustellen, eine Infektion Grad 3 bei schwerer Neutropenie bei einem Patienten. Die Häufigkeiten der bereits vor Beginn der Konditionierungstherapie bestehenden Grad 3 oder Grad 4 Toxizitäten in den einzelnen Dosisgruppen sind zur besseren Übersicht noch einmal in der nachfolgenden Tabelle 7 dargestellt.

	Treosulfan Dosis		
	Gesamt	5 x 8 g/m ²	5 x 10 g/m ²
Patienten (N) (%)	21 (100)	6 (100)	15 (100)
Herz-Kreislauf-System	4 (19)	1 (16,7)	3 (20)
Hypertonie	4 (19)	1 (16,7)	3 (20)
Laborparameter	3 (14,3)	0 (0)	3 (20)
Albumin ↓	2 (9,5)	0 (0)	2 (13,3)
Kalium ↓	1 (4,8)	0 (0)	1 (6,7)
Infektion bei Neutropenie °3/°4	1 (4,8)	1 (16,7)	0 (0)
Blut	1 (4,8)	1 (16,7)	0 (0)

Tabelle 7: °3 und °4 Toxizität nach CTC in den 14 Tagen vor Beginn der Konditionierungstherapie – alle Organsysteme

Ersichtlich ist jeweils die absolute Anzahl an betroffenen Patienten, die relative Anzahl betroffener Patienten bezogen auf die jeweilige Patientengesamtanzahl der verschiedenen Gruppen (6 bzw. 15) sowie die Verteilung der Toxizitäten auf die einzelnen Organsysteme.

3.4 Toxizität seit Beginn der Konditionierungstherapie

Zur Bestimmung von konditionierungsbedingten Toxizitäten wurden alle, im Zeitraum zwischen Konditionierungsbeginn (Tag -6) und Tag 28 nach HSZT aufgetretenen Ereignisse nach CTCAE v. 3.0 dokumentiert. In diesem Abschnitt erfolgt zunächst eine rein deskriptive Darstellung der Symptome ohne Berücksichtigung möglicher Ursachen oder bereits vorher bestehender Beschwerden. Eine genaue Übersicht über die insgesamt bei den einzelnen Patienten seit Beginn der Konditionierungstherapie beobachteten Ereignisse ist im Anhang in den Tabellen A7 bis A10 dargestellt. Werden bei allen Patienten nur die Toxizitäten gewertet, die einen CTC Grad 3 oder Grad 4 erreicht haben, so erhält man die in der nachfolgenden Tabelle 8 aufgelisteten Resultate.

3.4.1 Gastrointestinaltrakt

Insgesamt waren Beschwerden in Form von Diarrhoe, Erbrechen, gastroösophagealem Reflux, Mukositis, Obstipation oder Übelkeit zu beobachten. Bei der Mehrzahl der Patienten waren Mischbilder mehrerer Grad 1 oder Grad 2 Toxizitäten zu dokumentieren. Bei insgesamt drei Patienten (14,3 %) waren Beschwerden am Gastrointestinaltrakt mit einem CTC Grad 3 oder 4 zu dokumentieren. Alle drei Patienten gehören der Gruppe mit der Treosulfan-Dosis 5 x 10 g/m² an. Das Spektrum der Grad 3 oder 4 Symptome umfasste Erbrechen (4,8 %), Mukositis (9,5 %) und Obstipation (4,8 %). Bei einem Patienten (4,8 %) lagen zwei Symptome vor

	Treosulfan Dosis		
	Gesamt	5 x 8 g/m ²	5 x 10 g/m ²
Patienten (N) (%)	21 (100)	6 (100)	15 (100)
°3 oder °4 Toxizität generell	19 (90,5)	5 (83,3)	14 (93,3)
Gastrointestinaltrakt	3 (14,3)	0 (0)	3 (20,0)
Erbrechen	1 (4,8)	0 (0)	1 (6,7)
Mukositis	2 (9,5)	0 (0)	2 (13,3)
Obstipation	1 (4,8)	0 (0)	1 (6,7)
Herz-Kreislauf-System	5 (23,8)	1 (16,7)	4 (26,7)
Hypertonie	4 (19,0)	1 (16,7)	3 (20,0)
Kardiale Ischämie	2 (9,5)	0 (0)	2 (13,3)
Haut	2 (9,5)	0 (0)	2 (13,3)
Exanthem	2 (9,5)	0 (0)	2 (13,3)
Gefäße	4 (19,0)	1 (16,7)	3 (20,0)
Thrombose/ Embolie	4 (19)	1 (16,7)	3 (20)
Lymphsystem	1 (4,8)	1 (16,7)	0 (0)
Ödeme: Kopf / Hals	1 (4,8)	1 (16,7)	0 (0)
Infektion bei ANZ normal oder Neutropenie °1/°2	2 (9,5)	1 (16,7)	1 (6,7)
CMV-Reaktivierung	2 (9,5)	1 (16,7)	1 (6,7)
Infektion bei Neutropenie °3/°4	12 (57,1)	4 (66,7)	8 (53,3)
Blut	1 (4,8)	0	1 (6,7)
CMV-Reaktivierung	2 (9,5)	0 (0)	2 (13,3)
Gastrointestinaltrakt	3 (14,3)	1 (16,7)	2 (13,3)
katheterassoziiert	5 (23,8)	3 (50,0)	2 (13,3)
Lunge (Pneumonie)	4 (19,0)	2 (33,3)	2 (13,3)
Schmerz	3 (14,3)	1 (16,7)	2 (13,3)
Muskeloskeletal	3 (14,3)	1 (16,7)	2 (13,3)
Laborparameter	13 (61,9)	5 (83,3)	8 (53,3)
ALAT ↑	3 (14,3)	1 (16,7)	2 (13,3)
Albumin ↓	3 (14,3)	1 (16,7)	2 (13,3)
Alkalose	1 (4,8)	0 (0)	1 (6,7)
ASAT ↑	1 (4,8)	0 (0)	1 (6,7)
Azidose	2 (9,5)	1 (16,7)	1 (6,7)
Bilirubin ↑	3 (14,3)	0 (0)	3 (20)
Kalzium ↓	3 (14,3)	2 (33,3)	1 (6,7)
GGT ↑	3 (14,3)	2 (33,3)	1 (6,7)
Glucose ↑	6 (28,6)	4 (66,7)	2 (13,3)
Magnesium ↑	3 (14,3)	1 (16,7)	2 (13,3)
Natrium ↓	2 (9,5)	0 (0)	2 (13,3)
Phosphat ↓	3 (14,3)	1 (16,7)	2 (13,3)
Proteinurie	2 (9,5)	2 (33,3)	0 (0)
Gerinnung	1 (4,8)	1 (16,7)	0 (0)
INR	1 (4,8)	1 (16,7)	0 (0)

Tabelle 8: °3 und °4 Toxizität nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT – alle Organsysteme

Ersichtlich ist jeweils die absolute sowie die relative Anzahl betroffener Patienten bezogen auf die jeweilige Patientengesamtanzahl der verschiedenen Gruppen sowie die Verteilung der Toxizitäten auf die einzelnen Organsysteme.

3.4.2 Herz-Kreislauf-System

Arterielle Hypotonien traten bis maximal CTC Grad 2 auf. Bei vier Patienten (19 %) trat eine behandlungspflichtige arterielle Hypertonie (CTC Grad 3) auf. Bei jeweils einem Patienten (4,8 %) war in dem entsprechenden Zeitraum eine Bradykardie Grad 2 nach CTC und eine supraventrikuläre Tachykardie Grad 2 nach CTC zu beobachten. Drei Patienten (14,3 %) boten Zeichen einer koronaren Ischämie, davon bestand bei zwei Patienten (9,5 %) Interventionsbedarf (CTC Grad 3).

3.4.3 Respirationstrakt

Beschwerden im pulmonalen System in Form von Dyspnoe oder Husten wurden bei insgesamt vier Patienten (19 %) bis maximal CTC Grad 2 beobachtet.

3.4.4 Haut

Dermatologische Symptome traten bei einem Großteil der untersuchten Patienten in Form eines Exanthems auf. Bei zwei Patienten (9,5 %) erreichte dieses einen Grad 3 nach CTC. Beide Patienten gehörten der Gruppe mit der Treosulfan-Dosis $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ an. Ein Drittel der Patienten klagte über Pruritus bis maximal Grad 2 nach CTC und bei zwei Patienten (9,5 %) kam es zu einer partiellen Alopezie (CTC Grad 2).

3.4.5 Allgemeinsymptome

Fieber als alleiniges Symptom ohne Nachweis eines Infektes wurde bei einem Patienten (4,8 %) beobachtet.

3.4.6 Vasculäres System

Bei vier Patienten (19 %) kam es im beobachteten Zeitraum zu einer katheterassoziierten Venenthrombose. Aufgrund der Interventionsnotwendigkeit in Form von Antikoagulation oder Lysetherapie sind diese einem CTC Grad 3 zuzuordnen. Betroffen waren Patienten beider Dosisgruppen

3.4.7 Lymphatisches System

Bei etwa der Hälfte aller Patienten traten zumeist an den Extremitäten lokalisierte mäßige Ödeme auf. Bei einem Patienten (4,8 %) war ein Ödem Grad 3 im Kopf–Hals–Bereich zu beobachten.

3.4.8 Infektionen

Bei etwa 50 % der Patienten kam es in dem Zeitraum nach Beginn der Konditionierungstherapie mit Treosulfan bis Tag 28 nach der HSZT zu einer bzw. zu mehreren Infektion(en). Bei zwölf Patienten (57,1 %) bedurfte diese einer antibakteriellen, antiviralen oder antifungalen Therapie und war somit als CTC Grad 3 einzustufen (siehe Tabelle A9 im Anhang). Eine lebensbedrohliche Sepsis Grad 4 nach CTC trat bei einem Patienten (4,8 %) auf. Ebenfalls als eine Infektion Grad 4 nach CTC war eine der in vier Fällen (19 %) beobachteten Pneumonien einzuschätzen. Bei vier Patienten (19 %) trat eine CMV-Reaktivierung auf. Sieben Patienten (33,3 %) erlitten eine katheterassoziierte Infektion, davon fünf Patienten (23,8 %) mit einem CTC Grad 3, und drei Patienten (14,3 %) erkrankten an einer Infektion des Gastrointestinaltraktes. Beide Dosisgruppen waren von den Infektionen etwa gleichermaßen betroffen

3.4.9 Schmerzen

Schmerzen wurden von zwölf Patienten (57,1 %) geäußert und erreichten bei drei Patienten (14,3 %) einen CTC Grad 3.

3.4.10 Laborparameter

Bei den erhobenen Laborparametern waren bei ca. 60 % aller Patienten Abweichungen vom Referenzbereich auffällig, welche einen Grad 3 oder 4 nach CTC erreichten. In der Dosisgruppe 5 x 8 g/m² sind mit fünf von sechs Patienten etwa 80 % betroffen, in der Dosisgruppe 5 x 10 g/m² sind es ungefähr 50 %. Bei der Mehrheit der Patienten zeigte sich eine Transaminasenerhöhung Grad 1 oder 2 nach CTC (siehe Tabelle A10 im Anhang). Bei zwei Patienten (9,5 %) erreichte die Transaminasenerhöhung Grad 3 nach CTC, bei einem Patienten (4,8 %) CTC Grad 4. Des Weiteren war bei einer Großzahl der Patienten eine milde Erhöhung des Bilirubins und der Gammaglutamyl-Transpeptidase (GGT) zu beobachten. Eine Bilirubinerhöhung CTC Grad 3 oder 4 trat nur in der Dosisgruppe 5 x 10 g/m² auf. Alle Patienten boten erniedrigte Albuminwerte, wobei in drei Fällen (14,3 %) die Werte den CTC Grad 3 erfüllten. Bei etwa der Hälfte aller Patienten kam es im Verlauf zu einem mäßigen Anstieg des Serum-Kreatinins. Veränderungen im Elektrolythaushalt waren bei einem Großteil der untersuchten Patienten zu verzeichnen, wobei Verminderungen der Kalzium-Konzentration gefolgt von

erniedrigten Natrium- und Magnesiumkonzentrationen am häufigsten auftraten. Erhöhungen des Blutzuckerspiegels wurden im entsprechenden Zeitraum bei allen Patienten gemessen, bei fünf Patienten (23,8 %) mussten die Werte einem CTC Grad 3 zugeordnet werden.

3.5 Toxizität durch die Konditionierungstherapie mit Treosulfan

Es wurden nun alle nach Beginn der Konditionierungstherapie festgestellten und im Abschnitt 3.4 aufgeführten Toxizitäten auf einen möglichen Kausalzusammenhang mit Treosulfan hin untersucht. Allgemein gilt hier, dass für die beobachteten Symptome, die bereits vor Beginn der Konditionierungstherapie bestanden, Treosulfan nicht als Ursache angesehen wird. Für neu aufgetretene Beschwerden wird die Therapie mit Treosulfan als mögliche Ursache der Symptome betrachtet, wenn ein definierter zeitlicher Zusammenhang zwischen der Konditionierungstherapie und dem Auftreten der Toxizitäten gegeben ist und/ oder nachfolgend aufgeführte andere Ursachen der Beschwerden ausgeschlossen werden können. Die Einzelheiten zu den vermutlich durch Treosulfan verursachten Toxizitäten sind im Anhang in den Tabellen A11 bis A13 dargestellt.

Werden nur die durch die Konditionierungstherapie bedingten Toxizitäten berücksichtigt, die einen Grad 3 oder 4 nach CTC erreicht haben, ergeben sich die in der nachfolgenden Tabelle 9 dargestellten Ergebnisse. Insgesamt wurden bei 71,4 % aller untersuchten Patienten durch die Konditionierungstherapie mit Treosulfan verursachte Toxizitäten Grad 3 oder 4 nach CTC beobachtet. In der Dosisgruppe $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ war dies bei 83,3 % der Patienten der Fall und in der Gruppe $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ bei 66,7 % bzw. 57,1 % in der zu Auswertungszwecken durch zufällige Selektion verkleinerten Subgruppe $5 \times 10 \text{ g/m}^2$. Hinsichtlich der Gesamthäufigkeit therapieassoziierter Toxizitäten Grad 3 oder 4 nach CTC bestand zwischen den einzelnen Gruppen kein statistisch signifikanter Unterschied (Exakter Test nach Fisher, $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ vs. $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ $p = 0,623$ bzw. $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ vs. zufällig selektierte Subgruppe $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ $p = 0,559$). Wahrscheinlich konditionierungsbedingte Toxizitäten Grad 4 nach CTC traten insgesamt bei drei Patienten (14,3%), in der Gruppe $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ bei einem Patienten (16,7%) und in der Gruppe $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ Treosulfan bei zwei Patienten (13,3%) auf. Zwischen den beiden Dosisgruppen

bestand diesbezüglich ebenfalls kein statistisch signifikanter Unterschied (Exakter Test nach Fisher, $p = 1$).

	Treosulfan Dosis			
	Gesamt	5 x 8 g/m ²	5 x 10 g/m ²	zufällig selektierte Subgruppe 5 x 10 g/m ²
Patienten (N) (%)	21 (100)	6 (100)	15 (100)	7 (100)
°3 oder °4 Toxizität generell	15 (71,4)	5 (83,3)	10 (66,7)	4 (57,1)
°4 Toxizität generell	3 (14,3)	1 (16,7)	2 (13,3)	1 (14,3)
Gastrointestinaltrakt	2 (9,5)	0 (0)	2 (13,3)	2 (28,6)
Mukositis	2 (9,5)	0 (0)	2 (13,3)	2 (28,6)
Obstipation	1 (4,8)	0 (0)	1 (6,7)	1 (14,3)
Haut	2 (9,5)	0 (0)	2 (13,3)	1 (14,3)
Exanthem	2 (9,5)	0 (0)	2 (13,3)	1 (14,3)
Infektion generell	12 (57,1)	4 (66,7)	8 (53,3)	2 (28,6)
Infektion bei ANC normal o. Neutropenie °1/°2	2 (9,5)	1 (16,7)	1 (6,7)	1 (14,3)
CMV-Reaktivierung	2 (9,5)	1 (16,7)	1 (6,7)	1 (14,3)
Infektion bei Neutropenie °3/°4	12 (57,1)	4 (66,7)	8 (53,3)	4 (57,1)
Blut	1 (4,8)	0 (0)	1 (6,7)	1 (14,3)
CMV-Reaktivierung	2 (9,5)	0 (0)	2 (13,3)	1 (14,3)
Gastrointestinaltrakt	3 (14,3)	1 (16,7)	2 (13,3)	2 (28,6)
katheterassoziiert	5 (23,8)	3 (50,0)	2 (13,3)	0 (0)
Lunge (Pneumonie)	4 (19,0)	2 (33,3)	2 (13,3)	0 (0)
Laborparameter	5 (23,8)	1 (16,7)	4 (26,7)	2 (28,6)
ALAT ↑	3 (14,3)	1 (16,7)	2 (13,3)	0 (0)
ASAT ↑	1 (4,8)	0 (0)	1 (6,7)	0 (0)
Bilirubin ↑	3 (14,3)	0 (0)	3 (20)	2 (28,6)
GGT ↑	1 (4,8)	0 (0)	1 (6,7)	1 (14,3)

Tabelle 9: °3 und °4 Toxizität durch die Konditionierungstherapie mit Treosulfan nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT – alle Organsysteme

Die Tabelle vermittelt einen Überblick über die absolute und relative Anzahl der bei allen Patienten und in den beiden Dosisgruppen aufgetreten konditionierungsbedingten Toxizitäten Grad 3 oder 4 nach CTC.

3.5.1 Gastrointestinaltrakt

Traten Diarrhoe, Erbrechen, Übelkeit, Mukositis, Gastritis oder Obstipation an den Tagen der Treosulfan-Gabe sowie in den zehn darauf folgenden Tagen auf, so gilt die Konditionierung mit Treosulfan als mögliche Ursache der genannten Beschwerden sofern sich keine offensichtliche andere Genese (z. B. Laxantiengabe oder Verursachung durch zeitgleiche Verabreichung anderer Arzneimittel mit typischem Nebenwirkungsprofil z. B. Zienam®) feststellen ließ. Unter

Berücksichtigung dieser Kriterien ließen sich bei einem Großteil der Patienten Mischbilder mehrerer Toxizitäten mit einem Grad 1 oder Grad 2 nach CTC dokumentieren. Insgesamt 18 Patienten (85,7 %) erlitten eine Mukositis die mit der Treosulfan-Gabe in einen Kausalzusammenhang gestellt werden muss. Bei zwei Patienten der Dosisgruppe $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ (13,3 %) bzw. der zufällig selektierten Subgruppe $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ (28,6 %) erreichte diese einen CTC Grad 3. Einer dieser beiden Patienten erlitt zusätzlich eine Obstipation Grad 3 nach CTC. In der Dosisgruppe $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ wurden keine gastrointestinalen Toxizitäten Grad 3 oder 4 nach CTC beobachtet. Dieser Unterschied war im Vergleich zu der höheren Dosisgruppe mit $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ Treosulfan (ganze Gruppe bzw. zufällig selektierte Subgruppe) jedoch nicht statistisch signifikant (Exakter Test nach Fisher, $p = 1,0$ bzw. $p = 0,462$).

3.5.2 Herz-Kreislauf-System

Eine neu aufgetretene arterielle Hypertonie wird als möglicherweise durch die Konditionierung mit Treosulfan verursacht angesehen, wenn sie an den Tagen der Treosulfan-Gabe festgestellt wurde und nicht von einer Verursachung durch andere Arzneimittel z. B. CSA auszugehen ist. Arterielle Hypotonie, Rhythmusstörungen und kardiale Ischämien sind laut Fachinformation als Nebenwirkung nicht bekannt und wurden deshalb nicht als durch Treosulfan verursacht gewertet. Dementsprechend traten im untersuchten Patientenkollektiv keine durch die Konditionierung mit Treosulfan bedingten Toxizitäten des Herz-Kreislauf-Systems auf.

3.5.3 Respirationstrakt

Im Bereich des respiratorischen Systems sind nach Gabe von Treosulfan laut Fachinformation in sehr seltenen Fällen eine allergische Alveolitis, Pneumonie oder Lungenfibrose beobachtet worden. Ebenfalls als treosulfanassoziiert gelten neu aufgetretene Beschwerden wie Dyspnoe oder Hypoxie wenn sie im Rahmen konditionierungsbedingter Infektionen oder allergischer Reaktionen auftreten. Insgesamt war bei zwei Patienten (9,5 %) eine konditionierungsassoziierte Dyspnoe zu verzeichnen, die maximal den Grad 2 nach CTC erfüllte. Die beobachteten Hypoxien konnten in keinem der Fälle der Konditionierungstherapie zur Last gelegt werden. Toxizitäten des Respirationstraktes Grad 3 oder 4 nach CTC waren bei dem hier untersuchten Patientenkollektiv nicht zu dokumentieren.

3.5.4 Haut

Traten Exantheme, Pruritus oder eine Alopezie im Zusammenhang mit der Konditionierungstherapie neu auf, so wird Treosulfan als potentieller Verursacher angesehen, sofern keine offensichtliche andere Ursache anzunehmen ist und eine GvHD der Haut zeitlich, klinisch und histologisch ausgeschlossen werden konnte. Nach diesem Bewertungsmaßstab kam es bei einem Großteil der Patienten zu Exanthenen CTC Grad 1 bis 2 mit oder ohne Pruritus. Bei zwei Patienten der Dosisgruppe $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ (13,3 %) bzw. einem Patienten der zufällig selektierten Subgruppe $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ (14,3 %) erfüllte das Exanthem die Kriterien eines Grad 3 nach CTC. In der Dosisgruppe $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ wurden keine Hauttoxizitäten Grad 3 oder 4 nach CTC beobachtet. Vergleicht man die Dosisgruppen miteinander, so ergibt sich kein statistisch signifikanter Unterschied (Exakter Test nach Fisher, jeweils $p = 1,0$). Wenige Patienten litten an einem Pruritus CTC Grad 2 ohne Ausbildung eines Exanthems. Eine Alopezie Grad 2 war bei zwei Patienten (9,5 %) zu beobachten.

3.5.5 Allgemeinsymptome

Fieber ohne Nachweis eines infektiösen Fokus wird im Sinne einer febrilen Neutropenie als treosulfanassoziiert interpretiert. Dementsprechend wird das bei einem Patienten (4,8 %) aufgetretene Fieber CTC Grad 1 als konditionierungsbedingt gewertet.

3.5.6 Vasculäres System

Aufgetretene Thrombosen in entsprechender Lokalisation werden bei liegendem zentralen Venenkatheter als katheterassoziiert angesehen. Daher waren in der untersuchten Patientengruppe keine durch die Konditionierungstherapie verursachten Toxizitäten des vaskulären Systems zu beobachten.

3.5.7 Lymphatisches System

Ödeme werden bei gleichzeitig bestehender Hypalbuminämie, Herzinsuffizienz oder Niereninsuffizienz nicht als durch Treosulfan verursacht angesehen. Demnach wurden bei dem gesamten Patientenkollektiv keine konditionierungsbedingten Toxizitäten des lymphatischen Systems beobachtet.

3.5.8 Infektionen

Für im entsprechenden Zeitraum aufgetretene Infektionen wird die Treosulfan-Gabe aufgrund der konditionierungsbedingten Panzytopenie als ursächlich angesehen. Insgesamt traten in der Dosisgruppe 5 x 8 g/m² bei 66,7 % der Patienten Infektionen Grad 3 oder 4 nach CTC auf. In der Dosisgruppe 5 x 10 g/m² bzw. in der zufällig selektierten Subgruppe 5 x 10 g/m² war dies bei 53,3 % bzw. 28,6 % der Patienten der Fall (Unterschied zwischen den einzelnen Dosisgruppen statistisch nicht signifikant, Exakter Test nach Fisher, 5 x 8 g/m² vs. 5 x 10 g/m² p = 0,659 bzw. 5 x 8 g/m² vs. zufällig selektierte Subgruppe 5 x 10 g/m² p = 0,286). Bei normaler Neutrophilenzahl oder milder Neutropenie entwickelten zwei Patienten (9,5 %; je ein Patient pro Dosisgruppe) eine CMV-Reaktivierung CTC Grad 3 (kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Dosisgruppen, Exakter Test nach Fisher, 5 x 8 g/m² vs. 5 x 10 g/m² p = 0,5 bzw. 5 x 8 g/m² vs. zufällig selektierte Subgruppe 5 x 10 g/m² p = 1,0). Im Rahmen einer schweren Neutropenie mit Neutrophilenzahlen < 1.0 x 10⁹/l erkrankten insgesamt zwölf Patienten (57,1 %) an Infektionen die in der Mehrzahl der Fälle einen Grad 3 nach CTC erfüllten. Dabei waren aus der Gruppe mit der Treosulfan-Dosierung 5 x 8 g/m² vier Patienten (66,7 %) betroffen, acht Patienten (53,3 %) gehörten der Gruppe 5 x 10 g/m² an bzw. vier Patienten (57,1 %) der zufällig selektierten Subgruppe 5 x 10 g/m². Bei den unter schwerer Neutropenie beobachteten Infektionen handelte es sich in einem Fall (4,8 %) um eine Sepsis, zwei Patienten (9,5 %) erlitten eine CMV-Reaktivierung, drei Patienten (14,3 %) eine Infektion des Gastrointestinaltraktes, fünf Patienten (23,8 %) eine katheterassoziierte Infektion und vier Patienten (19,0 %) erkrankten an einer Pneumonie. In zwei Fällen kam es zu Infektionen mehrerer Organsysteme.

Hinsichtlich der Häufigkeit von Infektionen Grad 3 oder 4 nach CTC im Rahmen einer schweren Neutropenie besteht zwischen den einzelnen Dosisgruppen kein statistisch signifikanter Unterschied (Exakter Test nach Fisher, 5 x 8 g/m² vs. 5 x 10 g/m² p = 0,659 bzw. 5 x 8 g/m² vs. zufällig selektierte Subgruppe 5 x 10 g/m² p = 1,0).

3.5.9 Schmerzen

Bei im entsprechenden Zeitraum aufgetretenen Schmerzen wird ein kausaler Zusammenhang mit der Konditionierungstherapie als möglich angesehen, wenn die Schmerzen zeitlich im Zusammenhang mit der Infusionsgabe festzustellen waren und nicht durch eine offensichtliche andere Ursache zu erklären sind. Unter

Berücksichtigung dieser Kriterien können bei zwei Patienten Schmerzen mit einem Grad 2 nach CTC als konditionierungsbedingt bewertet werden.

3.5.10 Laborparameter

Veränderungen von Laborparametern gelten ebenfalls als konditionierungsbedingt, wenn sich kein Anhalt für eindeutige andere Ursachen wie z. B. eine GvHD der Leber oder eine Beeinflussung durch die Komedikation z. B. mit CSA ergab. Bei fast allen Patienten waren konditionierungsbedingte Erhöhungen der Parameter ALAT (Alaninaminotransferase), ASAT (Aspartataminotransferase), Bilirubin oder GGT zu erheben. Diese liegen in den meisten Fällen als gleichzeitige Veränderungen mehrerer Parameter vor und erreichen bei der Mehrheit der Patienten einen Grad 1 oder 2 nach CTC. Bei fünf Patienten (23,8 %) waren auch CTC Grad 3 oder 4 Erhöhungen bei einem oder mehreren der genannten Parameter messbar. Ein Grad 4 nach CTC wurde bei insgesamt zwei Patienten (9,5%) (Gruppe 5 x 10 g/m²; ALAT- bzw. GGT-Erhöhung) erreicht. Bei einem Patienten der Gruppe 5 x 10 g/m² musste am 5. Konditionierungstag aufgrund eines relevanten Transaminasenanstieges auf die Treosulfan-Gabe verzichtet werden. Zwischen den einzelnen Dosisgruppen besteht bezüglich der Häufigkeit von Laborveränderungen Grad 3 oder 4 nach CTC kein Unterschied mit statistischer Signifikanz (Exakter Test nach Fisher, $p = 1,0$)

3.6 Engraftment

Als Engraftment wird der Wiederanstieg von Leukozyten, neutrophilen Granulozyten und Thrombozyten auf die im Folgenden definierten Zielwerte bezeichnet. In keinem der dokumentierten Fälle trat ein primäres oder sekundäres Transplantatversagen auf. Eine genaue Übersicht zum Engraftment für jeden einzelnen Patienten befindet sich im Anhang in Tabelle A14. Zur Auswertung der Patientengesamtheit siehe nachfolgende Tabelle 10.

3.6.1 Engraftment der Leukozyten

Als Leukozyten-Engraftment wurde der erste von drei aufeinander folgenden Tagen mit einer Leukozytenzahl $\geq 1,0 \times 10^9/l$ definiert. Dieses wurde von allen Patienten (100 %) im Median nach 19 Tagen (Range 10 bis 35 Tage) erreicht. Während dies bei allen Patienten (100%) mit der geringen Treosulfan-Dosis (5 x 8 g/m²) am Tag 28

erreicht war, war es bei einem Patienten (6,7 %), der Treosulfan in der Dosis $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ erhalten hatte, an Tag 28 noch ausstehend. Bezogen auf die Gesamtgruppe entsprach dies einem Leukozyten-Engraftment von 95,2 % an Tag 28. Bei Patienten mit einem verwandten Spender (MRD, $n = 5$) wurde das Leukozyten-Engraftment nach im Median 16 Tagen (Range 12 bis 17 Tage) erreicht. Bei Patienten mit einem unverwandten Spender (MUD oder misMUD, $n = 16$) war dies im Median nach 21 Tagen (Range 10 bis 35 Tage) der Fall.

3.6.2 Engraftment der neutrophilen Granulozyten

Bei allen Patienten (100 %) konnte ein Wiederanstieg der neutrophilen Granulozyten auf Zahlen $\geq 0,5 \times 10^9/\text{l}$ beobachtet werden. Es wurde der erste von drei aufeinander folgenden Tagen mit diesen Werten als Datum des Neutrophilen-Engraftments dokumentiert. Dieses war im Median nach 21 Tagen (Range 11 bis 37 Tage) nachweisbar. Am Tag 28 wiesen 95,2 % aller Patienten, 100 % der Patienten der Dosisgruppe $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ sowie 93,3 % der Patienten der Gruppe Treosulfan $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ ein Engraftment der neutrophilen Granulozyten auf. Patienten mit einem verwandten Spender (MRD, $n = 5$) erreichten das Neutrophilen-Engraftment nach im Median 17 Tagen (Range 16 bis 19 Tage), Patienten mit einem unverwandten Spender (MUD oder misMUD, $n = 16$) nach im Median 23 Tagen (Range 11 bis 37 Tage).

3.6.3 Engraftment der Thrombozyten

Für die Thrombozytenzahlen wurde jeweils der erste von drei aufeinanderfolgenden Tagen dokumentiert, an welchem die Thrombozyten ohne Transfusion Werte $\geq 20 \text{ Gpt/l}$ bzw. $\geq 50 \text{ Gpt/l}$ erreichten. Ein Patient (4,8 %) verstarb vor Erreichen der beiden Grenzwerte. Bei drei Patienten (14,3 %) sanken die Zahlen im Verlauf nicht unter 20 Gpt/l . Alle anderen Patienten (80,9 % bzw. 95,2 %) boten im Median nach 16 Tagen (11 bis 30 Tage) Thrombozytenzahlen $\geq 20 \text{ Gpt/l}$ bzw. im Median nach 22 Tagen (11 bis 38 Tage) Werte $\geq 50 \text{ Gpt/l}$. Am Tag 28 lagen bei 90,2 % der Patienten die Thrombozyten bei Werten $\geq 20 \text{ Gpt/l}$ ($5 \times 8 \text{ g/m}^2$ 83,3 % bzw. $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ 93,3 %). In der Gruppe der Patienten mit einem verwandten Stammzellspender (MRD, $n = 5$) wurden Thrombozytenzahlen $\geq 50 \text{ Gpt/l}$ nach im Median 14 Tagen (Range 11 bis 21 Tage) dokumentiert, bei Patienten mit unverwandtem Spender (MUD oder misMUD, $n = 16$) nach im Median 25 Tagen (Range 11 bis 38 Tage). Die

drei Patienten, bei denen die Thrombozytenzahlen nicht unter 20 Gpt/l sanken, gehörten zu den fünf Patienten mit einem verwandten Spender (MRD).

		Treo sulfan Dosis	
		Gesamt	5 x 8 g/m ²
Patienten (N) (%)	21 (100)	6 (100)	15 (100)
Leukozytenzahl $\geq 1,0 \times 10^9/l$			
Anzahl Patienten (Leukozytenzahl erreicht) (%)	21 (100)	6 (100)	15 (100)
Median Zeit bis Engraftment in Tagen (range)	19 (10-35)	18 (15-25)	19 (10-35)
Granulozytenzahl (Neutrophile) $\geq 0,5 \times 10^9/l$			
Anzahl Patienten (Granulozytenzahl erreicht) (%)	21 (100)	6 (100)	15 (100)
Median Zeit bis Engraftment in Tagen (range)	21 (11-37)	20 (15-26)	21 (11-37)
Thrombozytenzahl ≥ 20 Gpt/l			
Anzahl Patienten (Thrombozytenzahl erreicht) (%)	20 (95,2)	5 (83,3)	15 (100)
Median Zeit bis Engraftment in Tagen (range)	16 (11-30)	16 (12-18)	16 (11-30)
Thrombozytenzahl ≥ 50 x Gpt/l			
Anzahl Patienten (Thrombozytenzahl erreicht) (%)	20 (95,2)	5 (83,3)	15 (100)
Median Zeit bis Engraftment in Tagen (range)	22 (11-38)	26 (18-38)	19 (11-33)

Tabelle 10: Auswertung Engraftment nach HSZT

Aus dieser Tabelle ersichtlich ist jeweils die Anzahl der Patienten die die entsprechenden Zellzahlen erreichten, die dafür benötigte Zeit in Tagen (Median und Range) sowie die Aufteilung der Ergebnisse auf die beiden Dosisgruppen.

Um den zeitlichen Verlauf der Zellzahlen der oben genannten Zellreihen darzustellen, wurden für jeden Patienten die entsprechenden Werte des Zeitraums zwischen Tag -7 und Tag +28 nach HSZT dokumentiert. Die Bestimmung der Leukozyten- und Thrombozytenzahlen erfolgte täglich. Eine Differenzierung der Leukozytenzahlen erfolgte ab einem Leukozytenwert von $> 1 \times 10^9/l$. Um einen Überblick des Verlaufs für die Patientengesamtheit zu gewinnen ist für jeden Tag der Median der entsprechenden Zellzahl der Patienten errechnet worden und dessen Verlauf entsprechend der Dosisgruppen in der Abbildung 4 grafisch dargestellt.

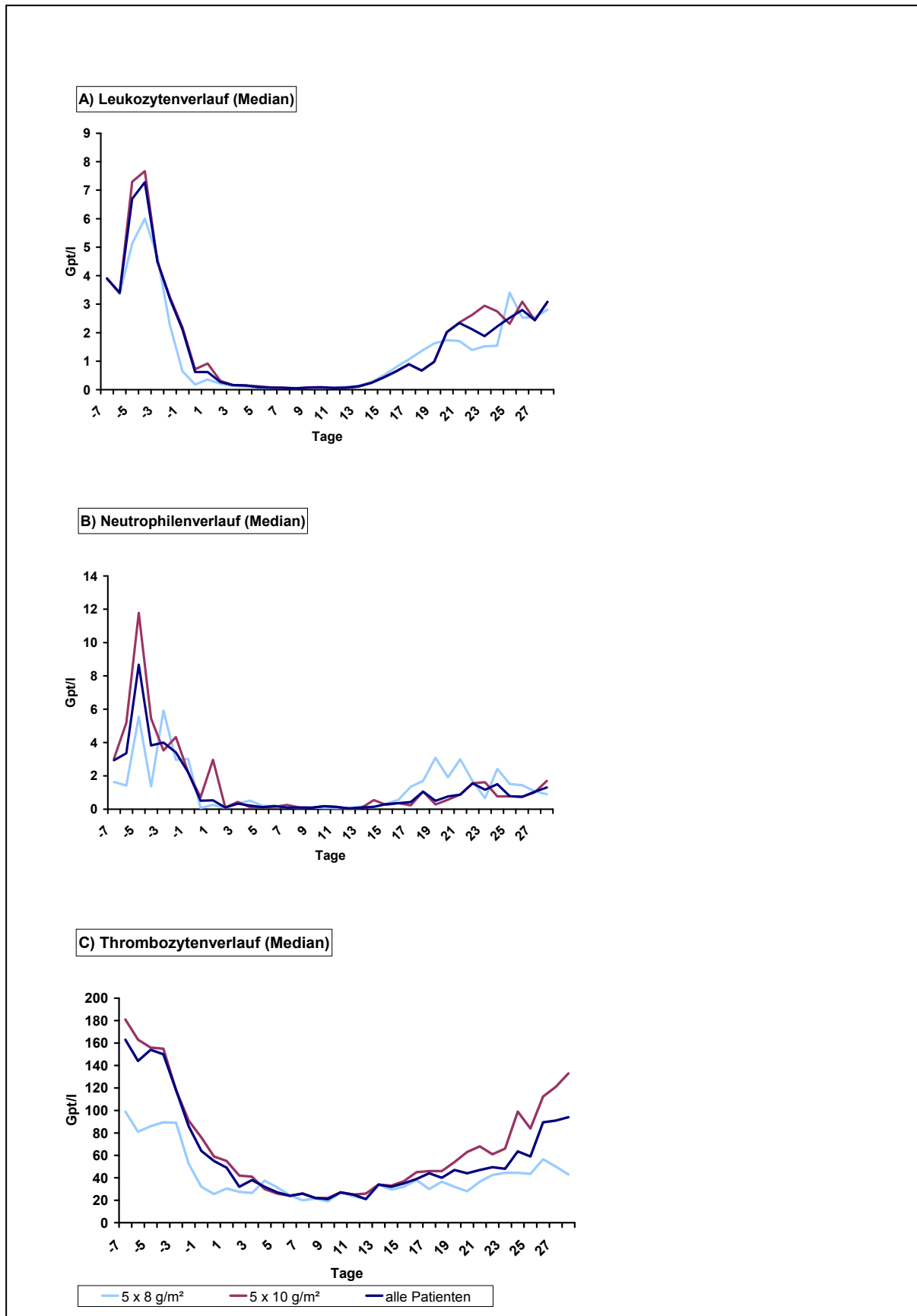


Abbildung 4: Verlauf der Zellzahlen Median

Die Abbildung zeigt den Verlauf von Leukozyten (A), Neutrophilen Granulozyten (B) und Thrombozyten (C) im Median von allen Patienten sowie für die beiden Dosisgruppen für den Zeitraum von Konditionierungsbeginn (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT.

3.7 Chimärismus

Als Chimärismus wird der Nachweis der vom Spenderorganismus stammenden hämatopoetischen Zellen im peripheren Blut des Empfängers bezeichnet [71]. Als gemischter Chimärismus wird der gleichzeitige Nachweis von Spender- und Empfängeranteilen bezeichnet [72].

Für Tag 28 +/- 3 Tage liegen von 19 Patienten Ergebnisse der Chimärismus-Analyse entweder aus dem Blut oder aus dem KM vor. Dabei zeigt sich, dass von diesen 19 Patienten 18 Patienten (94,7 %) einen kompletten Spenderchimärismus erreicht haben, definiert als Chimärismus mit einem Spenderanteil > 95 %. Bei zwölf Patienten konnten beide Materialien untersucht werden, wobei sich in drei Fällen eine minimale Diskrepanz zwischen den Befunden aus Blut und KM zeigt. Hinsichtlich der Häufigkeit kompletter Spenderchimärismen an Tag 28 besteht zwischen den beiden Dosisgruppen kein signifikanter Unterschied (Exakter Test nach Fisher, $p = 0,211$).

Vom Tag 100 +/- 10 Tage konnten von 16 Patienten Ergebnisse erfasst werden. Hierbei stellt sich bei 15 Patienten (93,7 %) ein kompletter Spenderchimärismus im Blut oder im KM dar. In drei Fällen waren die Patienten zu diesem Zeitpunkt verstorben, so dass keine Werte mehr erhoben werden konnten. Bezüglich der Rate kompletter Spenderchimärismen an Tag 100 zeigte sich zwischen den beiden Dosisgruppen kein signifikanter Unterschied (Exakter Test nach Fisher, $p = 1$).

Neben den Befunden von Tag 28 und Tag 100 wurde auch der maximal erreichte Chimärismus im Gesamtverlauf dokumentiert. Dabei konnte für alle analysierten Patienten ($n = 20$) ein kompletter Spenderchimärismus nachgewiesen werden, welcher im Median nach 28 Tagen erreicht wurde.

Einen Überblick über die Ergebnisse der Chimärismus-Analyse jedes einzelnen Patienten liefert Tabelle A15 im Anhang. Unter Berücksichtigung fehlender Befunde und nach Differenzierung zwischen den Untersuchungsmaterialien ergeben sich die in der nachfolgenden Tabelle 11 aufgeführten absoluten und relativen Häufigkeiten des kompletten Spenderchimärismus.

	Gesamt	Treo sulfan Dosis	
		5 x 8 g/m ²	5 x 10 g/m ²
Anzahl der analysierten Patienten gesamt (N) (%)	20 (100)	5 (100)	15 (100)
Kompletter Spenderchimärismus	20 (100)	5 (100)	15 (100)
Median Zeit bis zum Erreichen eines komplettem Chimärismus in Tagen (range)	28 (16-72)	28 (22-72)	28 (16-68)
Anzahl der analysierten Patienten d28 +/- 3d (N) (%)	19 (100)	4 (100)	15 (100)
Kompletter Spenderchimärismus d28 +/- 3d	18 (94,7)	3 (75)	15 (100)
Anzahl der analys. Patienten KM d28 +/- 3d (N) (%)	15 (100)	3 (100)	12 (100)
Kompletter Spenderchimärismus KM d28 +/- 3d	14 (93,3)	2 (66,7)	12 (100)
Anzahl der analys. Patienten Blut d28 +/- 3d (N) (%)	15 (100)	3 (100)	12 (100)
Kompletter Spenderchimärismus Blut d28 +/- 3d	14 (93,3)	2 (66,7)	12 (100)
Anzahl der analys. Patienten d100 +/- 10d (N) (%)	16 (100)	2 (100)	14 (100)
Kompletter Spenderchimärismus d100 +/- 10d	15 (93,7)	2 (100)	13 (92,8)
Anzahl der analys. Patienten KM d100 +/- 10d (N) (%)	9 (100)	1 (100)	8 (100)
Kompletter Spenderchimärismus KM d100 +/- 10d	8 (88,9)	1 (100)	7 (87,5)
Anzahl der analys. Patienten Blut d100 +/- 10d (N) (%)	14 (100)	2 (100)	12 (100)
Kompletter Spenderchimärismus Blut d100 +/- 10d	14 (100)	2 (100)	12 (100)

Tabelle 11: Vollständiger Spenderchimärismus

Die Tabelle zeigt die absolute und relative Häufigkeit des kompletten Spenderchimärismus im Gesamtverlauf sowie an den Tagen 28 und 100. Bei der Differenzierung zwischen den Ergebnissen der einzelnen Zeitpunkte sowie der beiden Untersuchungsmaterialien (Blut und KM) wird jeweils die Anzahl der Patienten als Gesamtzahl (100 %) angesehen, von der auch ein Befund vorliegt.

3.8 GvHD

3.8.1 Akute GvHD

Im zeitlichen Verlauf nach der HSZT bis Tag 100 entwickelten insgesamt elf Patienten (52,4 %) eine aGvHD. In der Dosisgruppe 5 x 8 g/m² trat die aGvHD mit einer Gesamthäufigkeit (Rate) von 50 % und in der Dosisgruppe 5 x 10 g/m² mit 53,3 % auf. In der zur besseren Vergleichbarkeit durch zufällige Patientenauswahl verkleinerten Gruppe mit der Treosulfan-Dosierung 5 x 10 g/m² (Patienten 9; 12; 15; 18; 19; 20 und 21; zufällig selektierte Subgruppe 5 x 10 g/m²) trat die aGvHD mit einer Häufigkeit von 42,9 % auf. Bezüglich der Rate einer aGvHD gab es zwischen den Dosisgruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede (Exakter Test nach Fisher, p = 1,0).

Bei insgesamt drei Patienten (14,3 %) lag eine milde aGvHD (Grad 1) vor, bei acht Patienten (38,1 %) eine moderate aGvHD (Grad 2-3) und bei keinem Patienten eine schwere aGvHD (0 %). In der Dosisgruppe 5 x 8 g/m² Treosulfan betrug die Häufigkeit einer moderaten aGvHD 50 %, in der Dosisgruppe 5 x 10 g/m² 33,3 % und in der zufällig selektierten Subgruppe 5 x 10 g/m² 28,6 % (Unterschiede zwischen den Dosisgruppen nicht statistisch signifikant, Exakter Test nach Fisher, 5 x 8 g/m²

vs. $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ $p = 0,631$ bzw. $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ vs. zufällig selektierte Subgruppe $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ $p = 0,592$). Bei drei Patienten waren alle drei Organe (Haut, Darm, Leber) betroffen. Der Befall von zwei Organen war bei fünf Patienten (23,8 %) zu beobachten, bei den restlichen vier Patienten (19 %) war nur ein Organ betroffen.

Für jeden Patienten mit einer aGvHD wurde der Tag des Erkrankungsbeginns dokumentiert. Im Median wurde die aGvHD nach 33 Tagen (Range 13 bis 62 Tage) diagnostiziert. In der Dosisgruppe $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ war der Erkrankungsbeginn nach im Median 39 Tagen (Range 25 bis 58 Tage) zu dokumentieren, in der Gruppe $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ nach im Median 30 Tagen (Range 13 bis 62 Tage). Die genaue Aufstellung der aGvHD für jeden einzelnen Patienten ist im Anhang in Tabelle A16 ersichtlich. Eine Übersicht über die Schweregrade und die Organbeteiligung sowie die Gesamtraten der aGvHD in den verschiedenen Dosisgruppen liefern die Abbildungen 5 und 6.

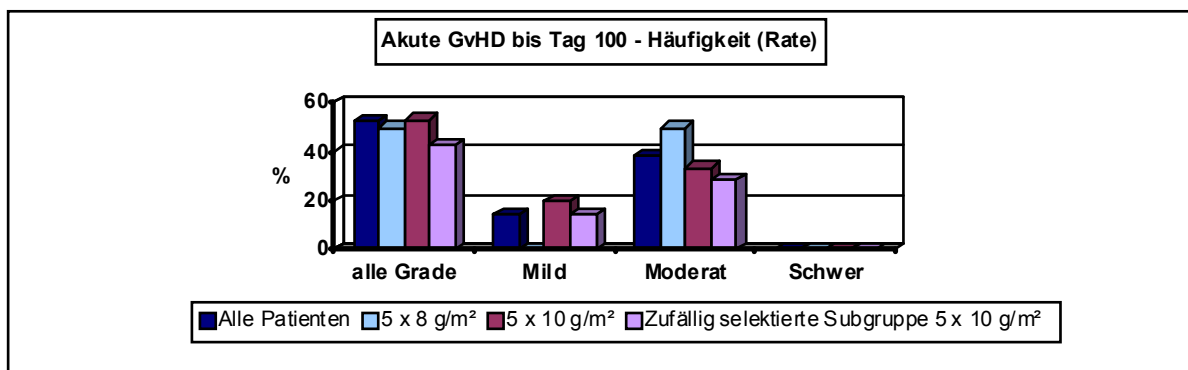


Abbildung 5: Häufigkeit der akuten GvHD

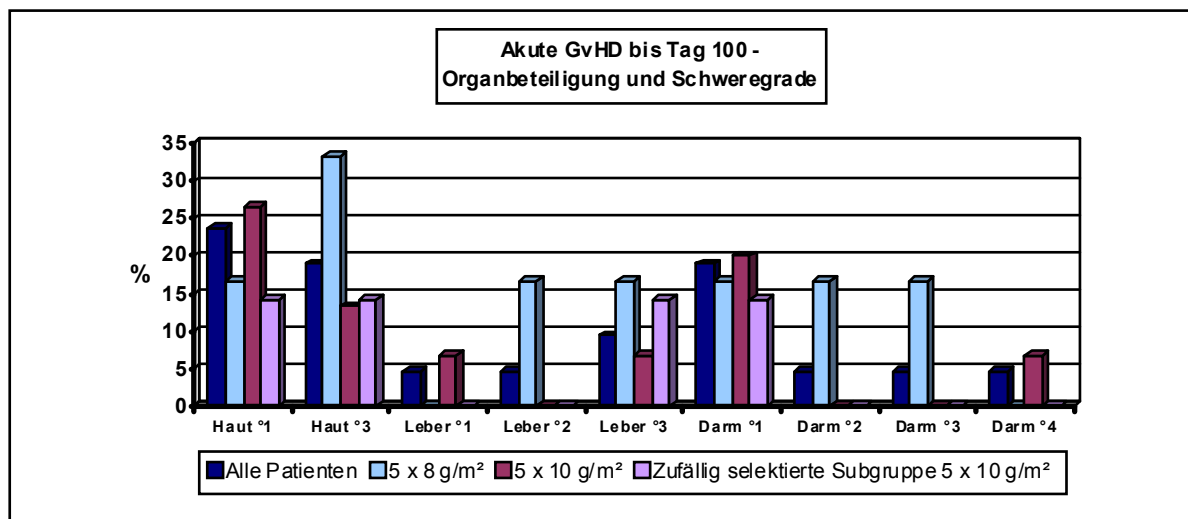


Abbildung 6: Organbeteiligung und Schweregrade der akuten GvHD

Die Diagramme in den Abbildungen 5 und 6 zeigen die Häufigkeit (Rate), Schweregrade und Organbeteiligung der aGvHD für die Patientengesamtheit sowie in den einzelnen Dosisgruppen. Der Begriff „mild“ bezeichnet dabei einen Gesamtgrad 1, „moderat“ einen Gesamtgrad 2 bis 3 und „schwer“ beschreibt einen Gesamtgrad 4.

3.8.2 Chronische GvHD

Aufgrund der Tatsache, dass drei Patienten (14,3 %) bereits vor Tag 101 verstarben reduzierte sich die Anzahl der hinsichtlich einer cGvHD evaluierbaren Patienten von 21 auf 18 Patienten, wovon acht (44,4 %) eine cGvHD entwickelten. In der Dosisgruppe $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ entwickelten alle diesbezüglich evaluierbaren Patienten (100%) eine cGvHD, in der Dosisgruppe $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ waren es 33,3 % bzw. 28,6 % in der zufällig selektierten Subgruppe $5 \times 10 \text{ g/m}^2$. Die im Vergleich zwischen den einzelnen Gruppen bestehende Tendenz zu einer höheren cGvHD-Rate in der Gruppe $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ blieb ohne Nachweis einer statistischen Signifikanz (Exakter Test nach Fisher, $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ vs. $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ $p = 0,069$ bzw. $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ vs. zufällig selektierte Subgruppe $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ $p = 0,167$).

Die Rate einer moderaten cGvHD (Grad 2) betrug insgesamt 22,2 % bei Häufigkeiten von 66,7 % ($5 \times 8 \text{ g/m}^2$), 13,3 % ($5 \times 10 \text{ g/m}^2$) bzw. 0 % (zufällig selektierte Subgruppe $5 \times 10 \text{ g/m}^2$) in den Einzelgruppen (Unterschiede ohne statistische Signifikanz, Exakter Test nach Fisher, $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ vs. $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ $p = 0,108$ bzw. $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ vs. zufällig selektierte Subgruppe $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ $p = 0,067$). Bei einem Patienten der Dosisgruppe $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ trat eine schwere Verlaufsform (Grad 3) auf, die übrigen drei Patienten litten an einer milden cGvHD (Grad 1).

Für betroffene Patienten wurde der Tag des Krankheitsbeginns dokumentiert. Im Median wurde die cGvHD nach 195 Tagen (Range 132 bis 343 Tage) diagnostiziert. In der Dosisgruppe $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ war dies nach im Median 212 Tagen (Range 202 bis 294 Tage) der Fall, in der Dosisgruppe $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ nach im Median 155 Tagen (Range 132 bis 343 Tage).

Die verschiedenen Organmanifestationen, der Erkrankungszeitpunkt sowie der Erkrankungsstatus der einzelnen Patienten können im Anhang der Tabelle A17 entnommen werden. Die Rate der cGvHD in den einzelnen Dosisgruppen ist grafisch in der Abbildung 7 dargestellt.

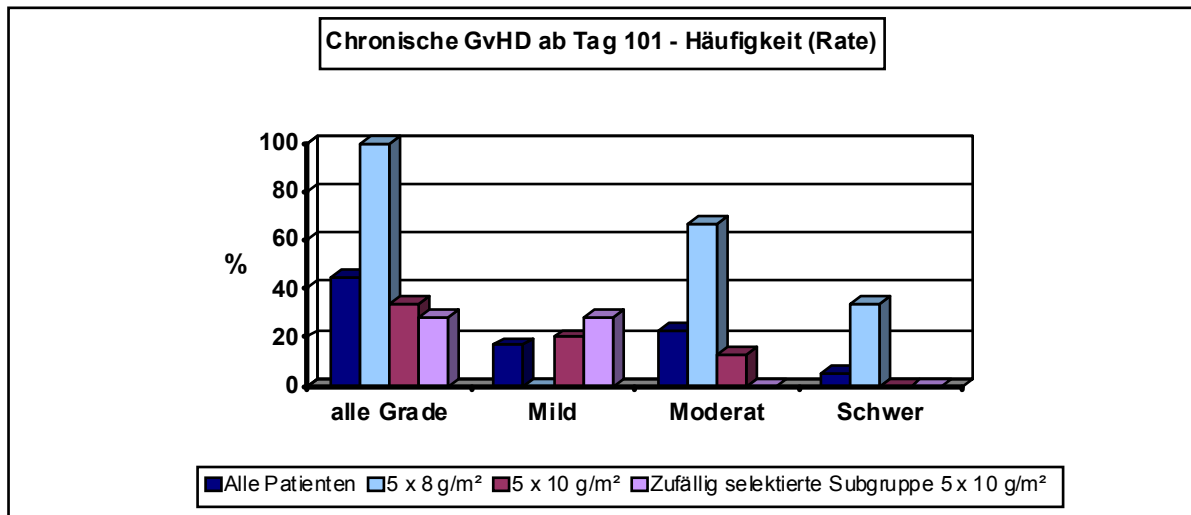


Abbildung 7: Häufigkeit der chronischen GvHD

Das Diagramm zeigt die Häufigkeit (Rate) der cGvHD in den unterschiedlichen Schweregraden für die Patientengesamtheit und die einzelnen Dosisgruppen.

3.9 Überleben

Während des gesamten Beobachtungszeitraums traten insgesamt 9 Todesfälle (42,9 %) auf. Davon waren 4 (19 %) rezidivbedingt und 5 (23,8 %) transplantationsassoziiert. In den einzelnen Dosisgruppen verstarben während der gesamten Nachbeobachtungszeit 83,3 % (5 x 8 g/m²), 26,7 % (5 x 10 g/m²) bzw. 28,6 % (zufällig selektierte Subgruppe 5 x 10 g/m²) der Patienten. In der Dosisgruppe 5 x 8 g/m² sind signifikant mehr Patienten verstorben als in der Dosisgruppe 5 x 10 g/m² (Exakter Test nach Fisher, $p = 0,046$). Nach zufälliger Verkleinerung der Dosisgruppe 5 x 10 g/m² (zufällig selektierte Subgruppe 5 x 10 g/m²) ist der hinsichtlich der Häufigkeit von Todesfällen beobachtete Unterschied zur Patientengruppe 5 x 8 g/m² nicht mehr statistisch signifikant (Exakter Test nach Fisher, $p = 0,103$). Von den Patienten mit einem Sorrow Score ≥ 2 sind mit 56,25 % signifikant mehr Patienten verstorben als in der Gruppe der Patienten mit einem Sorrow Score ≤ 1 mit 0 % (Exakter Test nach Fisher, $p = 0,045$).

3.9.1 OS

Das OS für alle Patienten betrug im Median 272 Tage (Range 59 bis 635 Tage). In der Dosisgruppe 5 x 8 g/m² lag das OS im Median bei 197,5 Tagen (Range 59 bis 635 Tage), in der Gruppe 5 x 10 g/m² waren es im Median 272 Tage (Range 107 bis 626 Tage) und in der durch zufällige Auswahl verkleinerten Subgruppe 5 x 10 g/m² im Median 263 Tage (Range 107 bis 530 Tage).

Für das OS nach Kaplan-Meier ergeben sich die in nachfolgender Abbildung 8 dargestellten Kurven. Die 1-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit nach Kaplan-Meier belief sich im gesamten Patientenkollektiv auf 57,1 %, in der Gruppe 5 x 8 g/m² Treosulfan auf 33,3 % und in der Dosisgruppe 5 x 10 g/m² auf 68,8 % bzw. auf 60 % in der durch zufällige Auswahl verkleinerten Subgruppe 5 x 10 g/m². Ein Vergleich der Kaplan-Meier-Kurven der Gruppen 5 x 8 g/m² und 5 x 10 g/m² bzw. der zufällig selektierten Subgruppe 5 x 10 g/m² mittels Log-Rang-Test erbrachte hinsichtlich der Überlebensdauer (OS) einen deutlichen, aber statistisch nicht signifikanten Unterschied (5 x 8 g/m² vs. 5 x 10 g/m² p = 0,061 bzw. 5 x 8 g/m² vs. zufällig selektierte Subgruppe 5 x 10 g/m² p = 0,259).

3.9.1.1 Todesursachen

Bei vier Patienten (19 %) führte das Rezidiv zum Tod. Von den fünf Patienten (23,8 %) mit einer transplantationsassoziierten Todesursache verstarben drei Patienten (14,3 %) an einer mit einer Infektion vergesellschafteten GvHD und bei zwei Patienten (9,5 %) ist eine EBV-Infektion als todesursächlich anzusehen.

Die Häufigkeiten der unterschiedlichen Todesursachen in den einzelnen Dosisgruppen können der nachfolgenden Abbildung 9 a) bis d) entnommen werden.

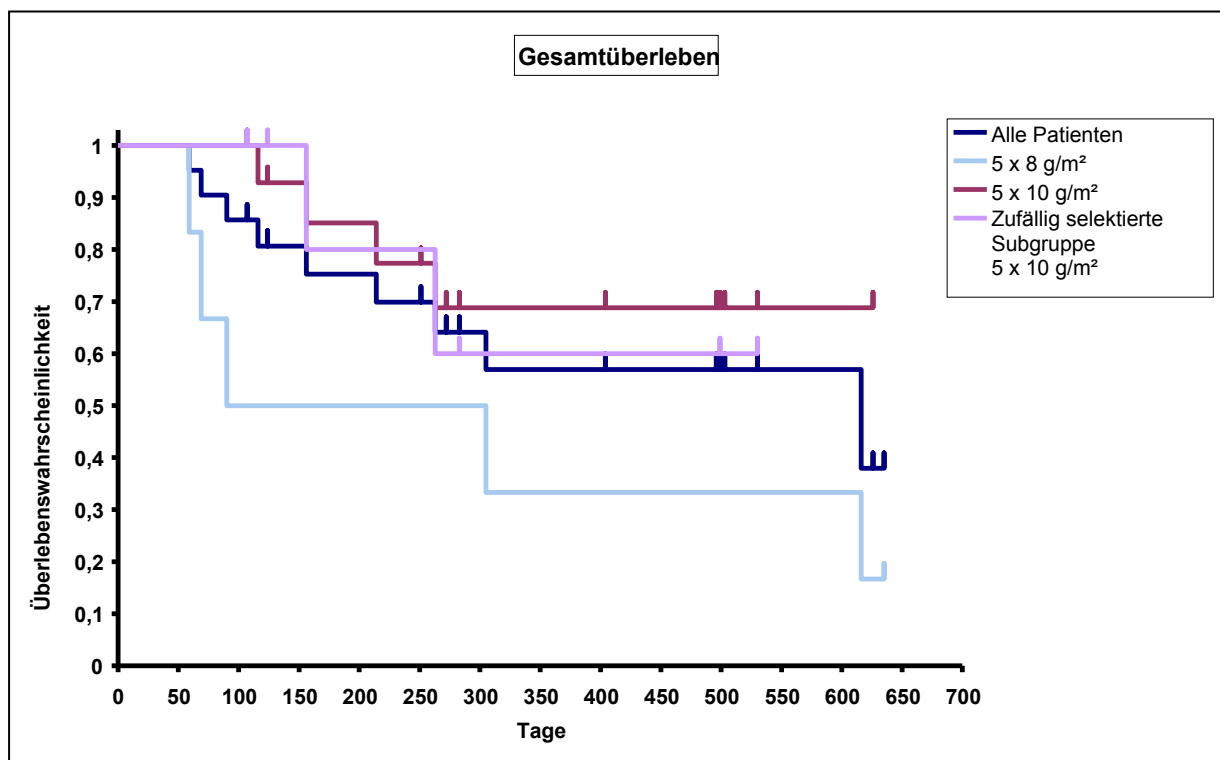


Abbildung 8: Gesamtüberleben (OS) nach Kaplan-Meier

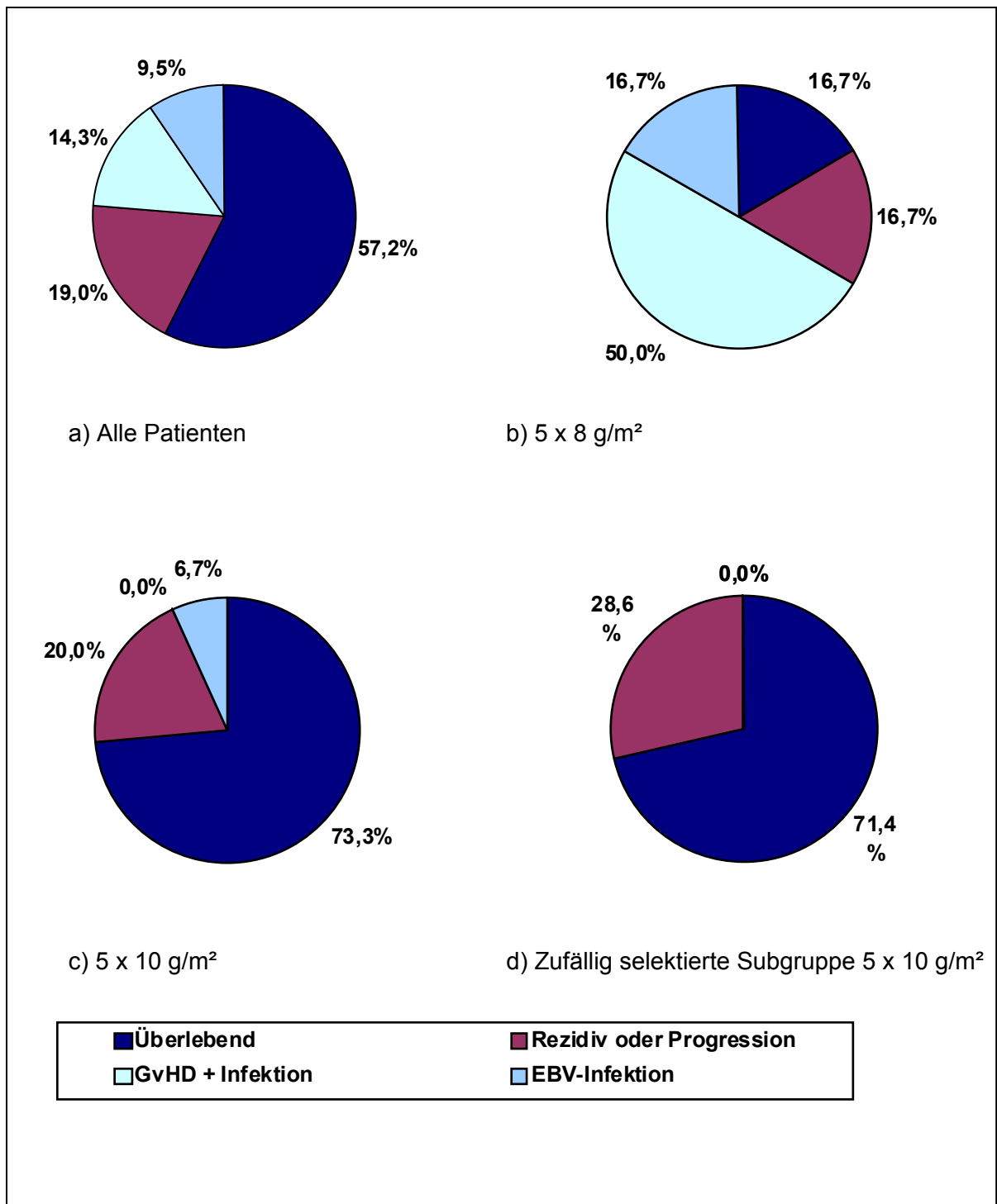


Abbildung 9 a) bis d): Todesursachen

Dargestellt sind in den einzelnen Dosisgruppen jeweils der prozentuale Anteil überlebender Patienten sowie der Anteil der an den unterschiedlichen Todesursachen verstorbenen Patienten.

3.9.2 EFS

Das EFS eines einzelnen Patienten endet entweder mit dem Tag eines Ereignisses (Rezidivdiagnose bzw. Tod des Patienten) oder mit dem durch das Ende der Datenerfassung definierten letzten Beobachtungstag. Bei 13 der hier untersuchten Patienten (61,9 %) war im Median nach 125 Tagen (Range 23 bis 616 Tage) ein Ereignis zu verzeichnen. In acht Fällen (38,1 %) handelte es sich um ein Rezidiv und fünf Patienten (23,8 %) verstarben.

Die Rezidivrate bezogen auf den gesamten Beobachtungszeitraum betrug unter Berücksichtigung aller Patienten 38 %, in der Dosisgruppe 5 x 8 g/m² 33 %, 40 % in der Dosisgruppe 5 x 10 g/m² bzw. 57 % in der zufällig selektierten Subgruppe 5 x 10 g/m². Hinsichtlich der Rezidivrate besteht zwischen den einzelnen Dosisgruppen kein signifikanter Unterschied (Exakter Test nach Fisher, 5 x 8 g/m² vs. 5 x 10 g/m² p = 1,0 bzw. 5 x 8 g/m² vs. zufällig selektierte Subgruppe 5 x 10 g/m² p = 0,592).

Bezogen auf alle 21 Patienten ergibt sich für das EFS ein Median von 226 Tagen (Range 23 bis 616 Tage). Das EFS für die Patienten ohne Ereignis betrug im Median 338 Tage (Range 107 bis 530 Tage). Das bei acht Patienten (38,1 %) aufgetretene Rezidiv wurde im Median nach 175 Tagen (Range 23 bis 574 Tage) diagnostiziert.

Nach Kaplan-Meier ergeben sich für das EFS und die Rezidiv-Wahrscheinlichkeit die in den nachfolgenden Abbildungen 10 und 11 dargestellten Kurven. Nach einem Jahr betrug die Wahrscheinlichkeit des EFS nach Kaplan-Meier im gesamten Patientenkollektiv 41 %, in der Dosisgruppe 5 x 8 g/m² 16,7 % und in der Gruppe 5 x 10 g/m² Treosulfan 55 % bzw. 20,8 % in der zufällig ausgewählten Subgruppe 5 x 10 g/m². Die 1-Jahres-Rezidiv-Wahrscheinlichkeit nach Kaplan-Meier liegt bei insgesamt 45 % und in den einzelnen Dosisgruppen bei 58,3 % (5 x 8 g/m²), 40 % (5 x 10 g/m²) bzw. 79,2 % (zufällig selektierte Subgruppe 5 x 10 g/m²). Für das EFS und das rezidivfreie Überleben bestand im Vergleich der Kaplan-Meier-Kurven kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Dosisgruppen (Log-Rang-Test, EFS: 5 x 8 g/m² vs. 5 x 10 g/m² p = 0,238 bzw. 5 x 8 g/m² vs. zufällig selektierte Subgruppe 5 x 10 g/m² p = 0,740; Rezidiv: 5 x 8 g/m² vs. 5 x 10 g/m² p = 0,878 bzw. 5 x 8 g/m² vs. zufällig selektierte Subgruppe 5 x 10 g/m² p = 0,407).

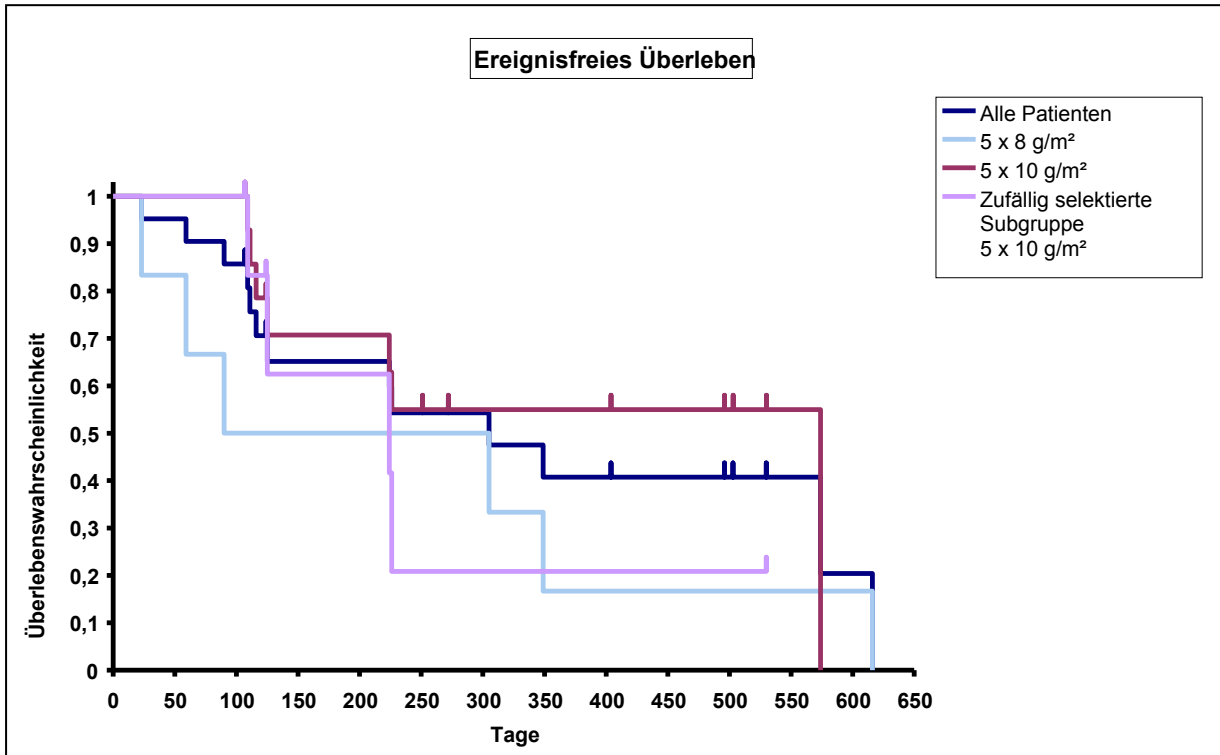


Abbildung 10: Ereignisfreies Überleben (EFS) nach Kaplan-Meier

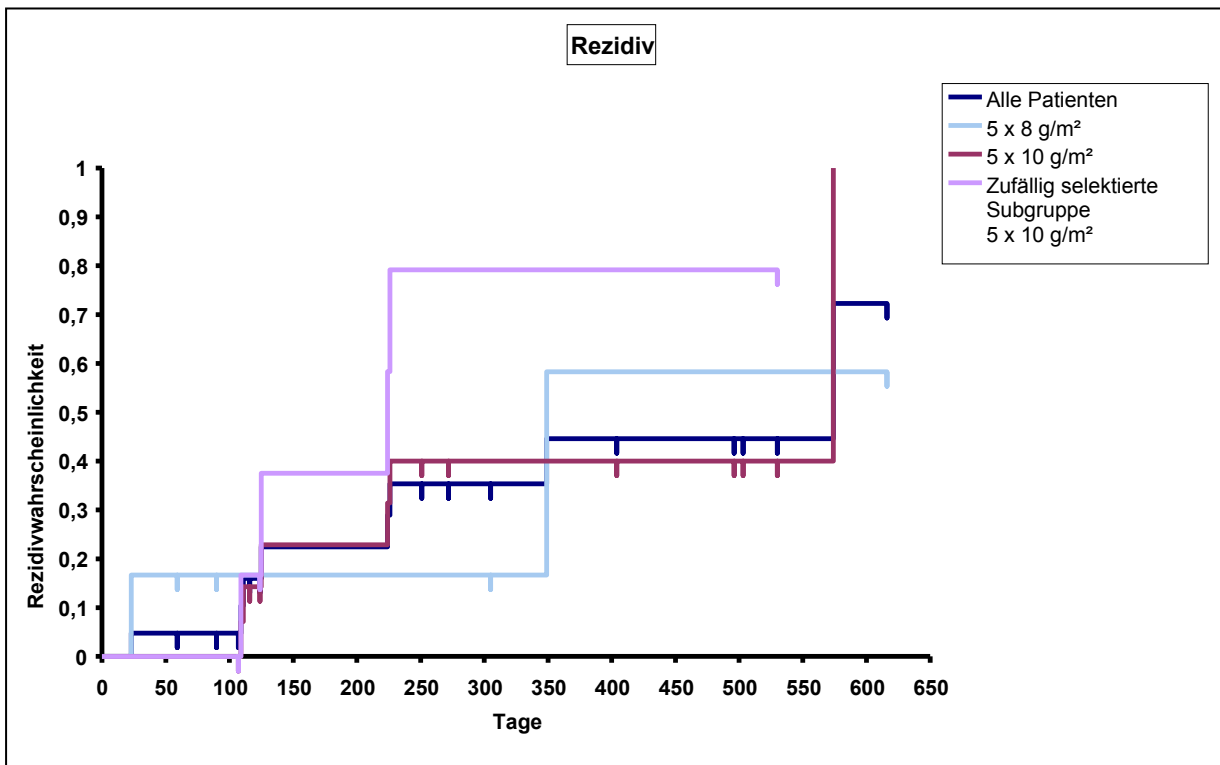


Abbildung 11: Rezidiv-Wahrscheinlichkeit nach Kaplan-Meier

3.9.3 NRM

In der Dosisgruppe 5 x 8 g/m² waren nicht-rezidivbedingte Todesfälle (z. B. durch GvHD oder (EBV-) Infektion) mit 66,7 % signifikant häufiger als in der Gruppe 5 x 10 g/m² mit 6,7 % bzw. in der zufällig selektierten Subgruppe Gruppe 5 x 10 g/m² mit 0 % (Exakter Test nach Fisher, 5 x 8 g/m² vs. 5 x 10 g/m² p = 0,011 bzw. 5 x 8 g/m² vs. zufällig selektierte Subgruppe 5 x 10 g/m² p = 0,021).

Der Zeitraum der NRM für die fünf Patienten mit einer transplantationsassoziierten Todesursache betrug im Median 116 Tage (Range 59 bis 616 Tage). Bei den sechs an einer CML erkrankten Patienten war bei einem Patienten eine primäre Krankheitspersistenz zu beobachten, molekulare Rezidive waren nicht zu verzeichnen.

Die grafische Darstellung der NRM nach Kaplan-Meier ist in nachfolgender Abbildung 12 zu finden. Die 1-Jahres-NRM nach Kaplan-Meier betrug insgesamt 26,7 % und in den einzelnen Dosisgruppen 60 % (5 x 8 g/m²), 8,3 % (5 x 10 g/m²) bzw. 0 % (zufällig selektierte Subgruppe 5 x 10 g/m²). Nach 100 Tagen belief sich die NRM nach Kaplan-Meier insgesamt auf 9,5 % und in den verschiedenen Treosulfan-Gruppen auf 40 % (5 x 8 g/m²) bzw. 0 % (5 x 10 g/m² und zufällig selektierte Subgruppe 5 x 10 g/m²). Der Vergleich der Kaplan-Meier-Kurven hinsichtlich der NRM zeigte in der Dosisgruppe 5 x 8 g/m² ebenfalls eine statistisch signifikant höhere Mortalität als in der Gruppe 5 x 10 g/m² (Log-Rang-Test, p = 0,023). In der zufällig selektierten Subgruppe 5 x 10 g/m² sind hinsichtlich der NRM alle Fälle zensiert, so dass keine statistische Rechnung durchgeführt wurde.

In übersichtlicher Darstellung finden sich alle Überlebensdaten der einzelnen Patienten noch einmal im Anhang in der Tabelle A18.

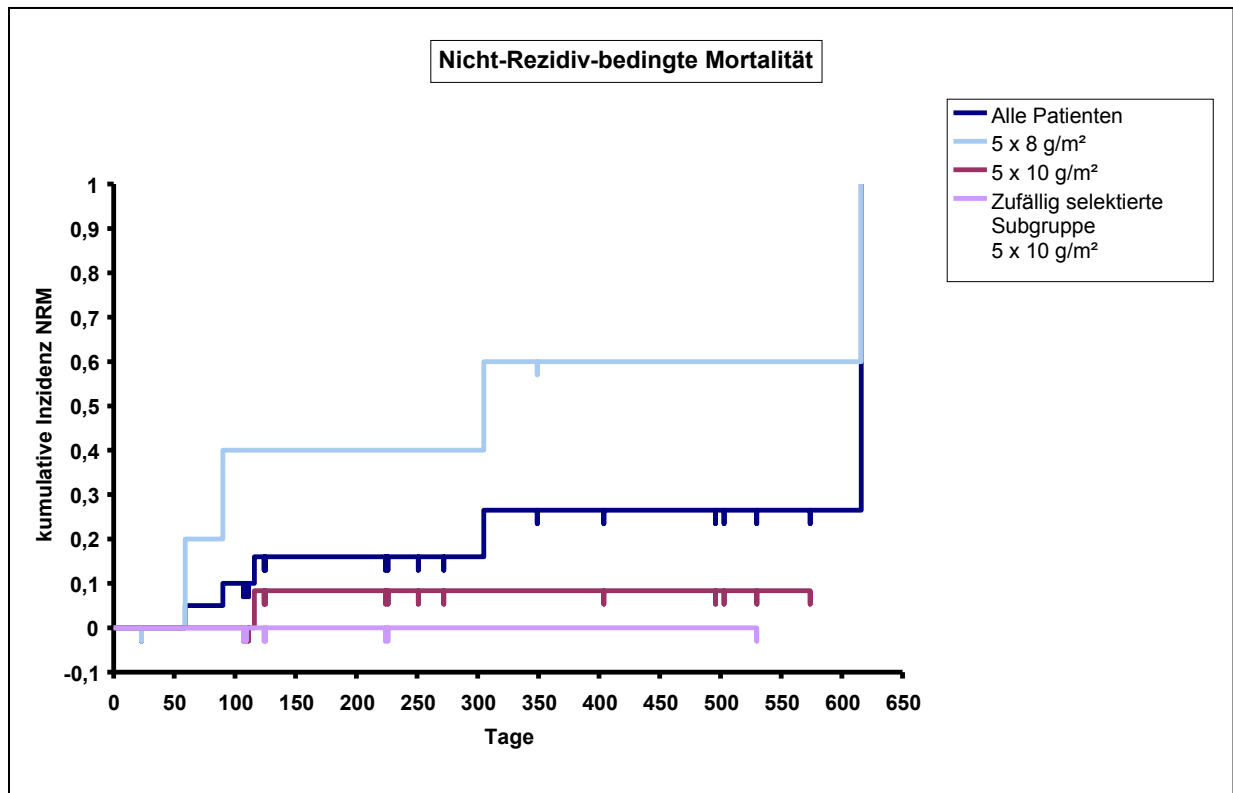


Abbildung 12: Nicht-Rezidiv-bedingte Mortalität (NRM) nach Kaplan-Meier

4 Diskussion

4.1 Dosisescalation der toxizitätsreduzierten Konditionierung mit Treosulfan und Fludarabin vor allogener HSZT

Die allogene HSZT stellt eine potentiell kurative Behandlungsoption für Patienten mit hämatologischen Erkrankungen dar, die zunehmend zum Einsatz kommt [73]. Konventionelle Konditionierungsprotokolle vor allogener HSZT beinhalten zumeist eine Kombination aus hochdosierter Chemotherapie und TBI [4, 6-7, 74]. Aufgrund limitierender therapieassoziierter Toxizitäten bleibt diese Behandlungsmöglichkeit jedoch jüngeren Patienten ohne relevante Komorbiditäten vorbehalten [27, 75]. Da Erkrankungen, für die eine potentielle Transplantationsindikation besteht, wie z. B. das MDS, jedoch bevorzugt bei älteren Patienten auftreten, bedurfte es der Entwicklung neuer Konditionierungsregime [8].

Mit den, auf der Basis des GvL-Effektes entwickelten, intensitätsreduzierten Konditionierungsprotokollen konnte die allogene HSZT einem erweiterten Patientenkreis zugänglich gemacht werden [4, 7, 27, 76]. Die intensitätsreduzierten Konditionierungsschemata bedingen zwar in Folge der geringeren Toxizität eine verminderte NRM-Rate, jedoch ist die Dosisreduktion mit einem höheren Rezidivrisiko bzw. einer höheren rezidivassozierten Mortalität vergesellschaftet [74, 77-81]. Letzteres gilt insbesondere für Patienten mit fortgeschrittenem Krankheitsstadium zum Transplantationszeitpunkt (Nicht-CR) [82-83]. In Folge dieser Beobachtung entstand die Idee, toxizitätsreduzierte Konditionierungen zu entwickeln, ohne im Rahmen der Dosisreduktion den antineoplastischen Effekt einzubüßen [51, 55].

Die wirkungsvolle zytotoxische Aktivität des Treosulfans bei geringer extra-hämatologischer Toxizität konnte sowohl in präklinischen als auch in klinischen Studien nachgewiesen werden [39, 41, 49, 51, 55-56, 84-85]. Die bisherigen Erfahrungen mit der Kombinationstherapie von Treosulfan und Fludarabin in der Konditionierung vor allogener HSZT zeigten ein effektives Therapieregime bei günstigem Risikoprofil [49, 51, 56, 84, 86-87]. Im Gegensatz zu konventionellen Therapieschemata bzw. intensitätsreduzierten Therapieprotokollen, z. B. mit

Busulfan oder Melphalan, wurden nach Treosulfan-basierter Konditionierung keine dosislimitierenden Organtoxizitäten im Bereich von Leber, Lunge, Niere, ZNS oder Herz beschrieben [49, 51, 88].

Bei ausgeprägter Stammzelltoxizität liegt die maximal tolerable Dosis intravenös applizierten Treosulfans ohne nachfolgende HSZT bei 10 g/m² und mit einer nachfolgenden HSZT bei 47 g/m² als Einmalgabe [43-44, 86]. In bisherigen klinischen Studien wurden Patienten mit über drei Tage gesplitteten Treosulfan-Gesamtdosen von 30 bis 42 g/m² behandelt [49, 51, 53, 55-56, 76, 84, 86-88]. Die dort erhobenen Resultate bestätigten, mit dem Erzielen eines sicheren Engraftments und der Induktion eines stabilen Spenderchimärismus, bei insgesamt niedriger therapieassoziierter Toxizität, ein effektives und toxizitätsreduziertes Therapieverfahren.

Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit ist eine zuvor durchgeführte Dosisescalationsstudie, in der die Treosulfan-Dosierungen 3 x 10 g/m², 3 x 12 g/m² und 3 x 14 g/m² untersucht wurden [51]. In allen drei Dosisgruppen konnten ein rasches Engraftment sowie ein stabiler Spenderchimärismus erreicht werden. Die Dosisescalation der Konditionierungstherapie auf 3 x 14 g/m² führte nicht zu einer Zunahme der insgesamt geringen extrahämatologischen konditionierungsbedingten Toxizität. Die niedrigste Rezidivrate war in der Patientengruppe mit der höchsten Treosulfan-Dosis (3 x 14 g/m²) zu verzeichnen, wobei zu erwähnen ist, dass in der Hochdosisgruppe (3 x 14 g/m²) ca. die Hälfte der Patienten (53 %) in CR transplantiert wurde, wohingegen dies in der Gruppe mit der Treosulfan-Dosis 3 x 10 g/m² nur für 25 % der Patienten zutraf [51].

Die maximal tolerable Treosulfan-Dosis wurde in dieser Untersuchung [51] jedoch nicht erreicht. Dies ermutigte zu der Behandlung von Patienten mit einem hohen Rezidivrisiko einerseits, aber auch einem erhöhten Komorbiditätsindex andererseits, in der die Applikation des Treosulfans über mehr als drei Tage gesplittet wurde und teilweise in der Gesamtdosis noch erhöht wurde. Evaluiert wurden das Erreichen eines anhaltenden Engraftments, die Etablierung eines stabilen Spenderchimärismus, die Häufigkeit und der Schweregrad einer akuten und/ oder chronischen GvHD, die Häufigkeit und der Schweregrad therapieassoziierter Toxizitäten sowie das Gesamtüberleben, die Rezidivrate und die NRM.

4.2 Engraftment und Chimärismus

In der hier durchgeführten Untersuchung entwickelten alle Patienten als Zeichen der effizienten Myelotoxizität der Konditionierungstherapie eine Neutropenie $< 0,5 \times 10^9/l$ und alle bis auf drei Patienten eine Thrombozytopenie $< 20 \text{ Gpt/l}$. Dies ist vergleichbar mit den Ergebnissen anderer Studien zur Konditionierungstherapie mit Treosulfan und Fludarabin [56, 87] bzw. zu intensitätsreduzierten Therapieregimen mit Fludarabin kombiniert mit Busulfan bzw. Melphalan [79, 81, 89] oder zur myeloablativen Standardkonditionierung [81].

Wie auch in den anderen Untersuchungen zu Treosulfan-basierten Konditionierungen konnten hier bei allen Patienten ein anhaltendes Engraftment sowie ein früher stabiler vollständiger Spenderchimärismus (94,7 % der Patienten an Tag 28) erzielt werden [49, 51, 84, 88]. Ein primäres oder sekundäres Transplantatversagen wurde nicht beobachtet. Zwischen den beiden Dosisgruppen bestand hinsichtlich der Ausbildung von Engraftment und Spenderchimärismus kein signifikanter Unterschied (Exakter Test nach Fisher, $p = 0,211$).

Verglichen mit der Kombinationstherapie mit Treosulfan und Fludarabin über drei Tage (Gesamtdosis 36 bis 42 g/m^2) zeigt sich nach der hier durchgeführten Dosisescalation bzw. Aufteilung der Gesamtdosis auf mehr als drei Tage der Trend zu einer höheren Rate kompletter Spenderchimärismen an Tag 28 [51, 55, 76]. Im Vergleich zu den Ergebnissen von Blau et al. [76] bestehen in der vorgelegten Untersuchung signifikant mehr komplette frühe Spenderchimärismen (Exakter Test nach Fisher, $p = 0,001$). Dieser Trend erscheint bedeutsam, da ein früher gemischter Spenderchimärismus als Prädiktor für ein sekundäres Transplantatversagen sowie als Risikofaktor für ein Rezidiv angesehen wird [76, 87, 90-93].

Wie präklinische Studien belegen weist Treosulfan im Vergleich zu Busulfan eine höhere Stammzelltoxizität auf [40, 85, 87]. Passend dazu waren intensitätsreduzierte Konditionierungstherapien unter Verwendung von Fludarabin und Busulfan initial häufiger mit einem gemischten Spenderchimärismus assoziiert [76, 79, 84, 87, 94]. Der hier erzielte frühe vollständige Spenderchimärismus ist vergleichbar mit den Ergebnissen nach myeloablativer Standardkonditionierung [15, 81, 95], so dass die Konditionierungstherapie mit Treosulfan und Fludarabin diesbezüglich den dosisintensiven Regimen zugeordnet werden kann [84].

Wenngleich in dieser Untersuchung bei allen Patienten eine stabile Erholung des Blutbildes erreicht werden konnte, so zeichnet sich im Vergleich zur Konditionierungstherapie mit Treosulfan über drei Tage [49, 51, 55, 86] und zu intensitätsreduzierten Protokollen [89, 96-98], die Tendenz zu einer länger anhaltenden Leukozyto- und Neutropenie ab. Während das Leukozyten-Engraftment in der aktuell durchgeführten Dosisescalationsstudie im Median nach 19 Tagen (5 x 8 g/m² im Median 18 Tage, 5 x 10 g/m² im Median 20 Tage) und das Neutrophilen-Engraftment im Median nach 21 Tagen (5 x 8 g/m² im Median 20 Tage, 5 x 10 g/m² im Median 22 Tage) erreicht wurde, war dies nach Konditionierung mit Treosulfan 3 x 10-14 g/m² [49, 51, 55, 86] sowie nach dosisreduzierten Verfahren mit Fludarabin und Busulfan oder Melphalan [89, 96-98] bereits nach zehn bis 17 Tagen (Leukozyten) bzw. nach 11,5 bis 17 Tagen (neutrophile Granulozyten) der Fall. Im Gegensatz dazu kam es jedoch auch nach der Konditionierung von CML-Patienten in CP mit Treosulfan 3 x 14 g/m² und Fludarabin 5 x 30 mg/m² ebenfalls erst nach im Median 21 Tagen zum Neutrophilen-Engraftment [56]. Zu berücksichtigen ist auch, dass in den Untersuchungen zur Konditionierungstherapie mit Treosulfan über drei Tage [49, 51, 86], im Gegensatz zu der vorliegenden Untersuchung, im Rahmen der supportiven Therapie gewichtsadaptiert G-CSF eingesetzt wurde, was zu einer Verkürzung der Dauer der Neutropenie beigetragen haben könnte. Darüber hinaus ist zu erwähnen, dass in der vorliegenden Untersuchung ein Großteil der Patienten (76,2 %) Stammzellen von einem unverwandten Spender (MUD oder misMUD) erhalten hat und daher zusätzlich zu der Therapie mit CSA und MTX immunsuppressiv mit ATG (66,6 %) bzw. Alemtuzumab (4,8 %) oder Rituximab (4,8 %) behandelt wurde. Da bei Patienten mit unverwandtem Stammzellspender das Engraftment im Median einige Tage später zu verzeichnen war als bei Patienten mit verwandtem Spender (Leukozyten-Engraftment: MUD oder misMUD Median 21 Tage, MRD Median 16 Tage; Neutrophilen-Engraftment: MUD oder misMUD Median 23 Tage, MRD Median 17 Tage), könnte die hier bei der Mehrzahl der Patienten durchgeführte zusätzliche medikamentöse Immunsuppression mit ATG bzw. Alemtuzumab oder Rituximab zu der in der vorliegenden Untersuchung beobachteten prolongierten Neutropenie beigetragen haben. Die Erholung der Thrombozyten auf Werte > 20 Gpt/l stellte sich in der vorliegenden Untersuchung nach im Median 16 Tagen ein und ist vergleichbar mit den Ergebnissen der bisher

veröffentlichten Studien zu Treosulfan [76, 86, 88] und zu intensitätsreduzierten Therapieregimen [77, 89, 96, 98].

Die hier, nach weiterer Dosisescalation von Treosulfan, beobachtete prolongierte konditionierungsbedingte Neutropenie entspricht etwa den Resultaten nach konventioneller Therapie mit hochdosiertem Busulfan kombiniert mit Cyclophosphamid [15, 99] und ist insgesamt am ehesten auf die Stammzelltoxizität des Treosulfans zurückzuführen [39, 43, 84, 86].

Die Verzögerung der Regeneration von Leukozyten und Neutrophilen erlangt Bedeutung in Hinblick auf die Rate schwerer Infektionen (Grad 3 oder 4 nach CTC) von 57 %, da eine prolongierte Neutropenie mit einem erhöhten Infektionsrisiko assoziiert ist [84, 86]. Die beobachtete Häufigkeit von schweren Infektionen nach Konditionierung mit 5 x 8 g/m² bzw. 5 x 10 g/m² Treosulfan ist jedoch mit den Resultaten anderer Studien zur Konditionierungstherapie mit Treosulfan 3 x 10 g/m² bis 3 x 14 g/m² vergleichbar, in denen die Infektionshäufigkeiten (CTC Grad 3 und 4), trotz der kürzer anhaltenden Neutropenie, zwischen 30 und 80 % lagen [49, 51, 53, 55, 87]. Eine positive Korrelation zwischen der Treosulfan-Dosis und der Infektionsrate bestand in der vorliegenden Untersuchung zwischen den beiden Dosisgruppen nicht (66,7 % 5 x 8 g/m² vs. 53,3 % 5 x 10 g/m²). Die Bedeutung einer hohen Infektionsrate ist darin zu sehen, dass infektiöse Komplikationen in nicht unerheblichem Maße zur therapieassoziierten Mortalität beitragen [100]. So sind in der vorliegenden Untersuchung nach Konditionierung mit Treosulfan 5 x 8 g/m² bzw. 5 x 10 g/m² 66,7 % bzw. 6,7 % der Patienten in Folge einer Infektion verstorben.

4.3 Konditionierungsbedingte extrahämatologische Toxizität

4.3.1 Gesamthäufigkeit extrahämatologischer Grad 3 und 4 Toxizitäten

Insgesamt wurde die Konditionierungstherapie gut toleriert. Die gute Verträglichkeit einer Kombinationstherapie mit Treosulfan und Fludarabin wurde bereits in mehreren Studien gezeigt [49, 51, 88] und wird durch die Resultate der hier durchgeführten Untersuchung bestätigt.

Unter der Konditionierungstherapie mit Treosulfan 5 x 8 g/m² bzw. 5 x 10 g/m² traten im Gegensatz zu Melphalan- oder Busulfan-basierten Konditionierungen [77, 89, 101-103] bzw. zu myeloablativer Standardkonditionierung [104] keine schweren

pulmonalen (z. B. Hämorrhagien, Embolie, Ödem, Pneumonitis, Fibrose) oder kardialen Toxizitäten (z. B. Linksherzinsuffizienz) auf. Vergleichbar mit den früheren Studien zur Dosisescalation von Treosulfan äußerten sich hepatotoxische Effekte, in beiden Dosisgruppen gleichermaßen, nur zu einem geringen Prozentsatz in einem Anstieg der Transaminasen oder des Bilirubins [49, 51]. Schwere Hepatotoxizität oder Venenverschlusskrankheiten (VOD), wie sie gehäuft mit Busulfan assoziiert sind, wurden nicht beobachtet [31, 104-107]. Neurologische Komplikationen (Enzephalitis, Meningitis, intrakranielle Blutungen, Leukenzephalopathie), wie in einigen Fällen nach Standard- oder intensitätsreduzierter Konditionierung dokumentiert, traten ebenfalls nicht auf [15, 89, 108-110].

Trotz der Dosiserhöhung des Treosulfans bzw. Verlängerung der Therapiedauer ist in dieser Untersuchung die Häufigkeit der insgesamt seit Beginn der Konditionierungstherapie beobachteten Toxizitäten Grad 3 oder 4 nach CTC (90,5 %), inklusive Berücksichtigung von Infektionen und paraklinischen Laborwertabweichungen, nicht signifikant höher als nach der Konditionierung mit Treosulfan in Gesamtdosen von 30 bis 42 g/m² über drei Tage [51, 55]. So berichteten Casper et al. über eine Gesamthäufigkeit der Toxizitäten Grad 3 oder 4 nach CTC von 78 % [51] (Exakter Test nach Fisher, $p = 0,325$) und Ruutu et al. beschrieben eine Rate von 87 % [55] (Exakter Test nach Fisher, $p = 1$). Konditionierungsbedingt zu wertende Toxizitäten Grad 3 oder 4 nach CTC traten in dieser Untersuchung bei 71,4 % der Patienten auf. Wie auch in der Studie von Casper et al. [51] bestand in der vorliegenden Untersuchung im Vergleich der einzelnen untersuchten Dosisgruppen (5 x 8 g/m² vs. 5 x 10 g/m²) keine Korrelation zwischen der Dosiserhöhung des Treosulfans und der Rate extrahämatologischer Toxizitäten.

Die im Vergleich zu [51] leicht höhere Gesamthäufigkeit von Organtoxizitäten Grad 3 oder 4 nach CTC (90,5 % vs. 78 % [51]) kann nicht durch ein unterschiedliches Risikoprofil der untersuchten Patienten erklärt werden, da beide Patientenkollektive hinsichtlich Alter (Median 51 Jahre vs. 50 Jahre [51]), Anteil der Patienten mit Komorbiditäten (90 % vs. 82 % [51]) oder Krankheitsstadium (CR 38 % vs. 42 % [51], Nicht-CR 62 % vs. 58 % [51]) vergleichbar waren. Die hohe Infektionsrate von 57,1 % (vs. 55 % [51]) trägt in der vorliegenden Untersuchung allerdings wesentlich zur Gesamthäufigkeit der therapieassoziierten Grad 3 und 4 Toxizitäten bei (Gesamt 71,4 % vs. 28,6 % ohne Berücksichtigung der Infektionen). Diese Infektionsrate ist

am ehesten durch die prolongierte Neutropenie bedingt (siehe 4.2. Engraftment und Chimärismus). Die Gesamtrate an Grad 3 oder 4 Toxizitäten scheint also eher auf die Infektionsrate, als indirekte Folge der Konditionierungstherapie, als auf eine direkte dosisabhängige Organtoxizität zurückzuführen zu sein. Diese These wird durch den Fakt unterstützt, dass sich in keiner der beiden Untersuchungen zwischen den einzelnen Dosisgruppen eine direkte dosisabhängige Zunahme der Organtoxizitäten zeigte und die Häufigkeit anderer therapieassoziierter Toxizitäten wie Mukositis oder Hepatotoxizität (Enzym- und Bilirubinerhöhungen) in beiden Untersuchungen gleichermaßen gering ist [51].

4.3.2 Gastrointestinale Toxizität und Hauttoxizität

Die nach den hier applizierten hohen Treosulfan-Dosen niedrige gastrointestinale Toxizität (Mukositis Grad 3/4 9,5 %; Diarrhoe Grad 3/4 0 %; Obstipation Grad 3/4 5 %) ist bemerkenswert, da Mukositis und Diarrhoe als dosislimitierende Faktoren in der Anwendung Treosulfan-basierter Therapien gelten [43, 84, 86, 111]. Im Gegensatz dazu wurden sowohl nach intensitätsreduzierten [89] als auch nach Standard-Konditionierungsverfahren [15, 95] deutlich höhere Raten schwerer Mukositiden beschrieben. So berichteten Shimoni et al. über eine Inzidenz von 29 % (Mukositis Grad 3 oder 4 nach CTC) nach Konditionierung mit Fludarabin und Busulfan bzw. von 49 % nach Therapie mit Fludarabin in Kombination mit Melphalan [51, 89]. Im Kontrast dazu stehen jedoch die von de Lima et al. publizierten Daten nach nicht-myeloablativer Konditionierung mit Fludarabin, Cytarabin und Idarubicin (FAI) bzw. intensitätsreduzierter Konditionierung mit Fludarabin und Melphalan (FM) [77]. Hier wurden nach den Bearman-Kriterien [112] Grad 3 oder 4 Mukositis-Raten von 0 % (FAI) und 2 % (FM) beschrieben [77]. Beim Vergleich dieser Resultate ist allerdings zu berücksichtigen, dass verschiedene Kriterien (CTC vs. Bearman-Kriterien) zur Toxizitätsbeurteilung zu Grunde gelegt wurden. Dennoch lässt sich das in der hier vorliegenden Untersuchung gewählte Konditionierungsverfahren hinsichtlich der Häufigkeit schwerer gastrointestinaler Toxizitäten im Bereich der intensitätsreduzierten Konditionierungsverfahren einordnen bzw. liegt unter den dort oder nach Standardkonditionierung berichteten Häufigkeiten.

Therapieassoziierte Hauttoxizitäten (Exanthem, Pruritus, Alopezie), auch als dosislimitierende Toxizitäten beschrieben [84], waren in der vorliegenden Untersuchung ebenfalls selten (9,5 %) und erreichten als Exanthem maximal einen Grad 3 nach CTC.

4.3.3 Weitere extrahämatologische Toxizitäten

Über die beschriebenen Häufigkeiten von Mukositis, Exanthem und Transaminasen- bzw. GGT- oder Bilirubinerhöhungen hinaus, traten im Sinne direkter Organaffektionen keine konditionierungsbedingten Toxizitäten Grad 3 oder 4 nach CTC auf. Die Dosisescalation von Treosulfan auf Gesamtdosen von 40 g/m² und 50 g/m² ging im Vergleich mit den bisher veröffentlichten Ergebnissen zur Konditionierungstherapie mit Treosulfan und Fludarabin [49, 51, 55-56, 84, 86-87] mit keiner Zunahme der unmittelbaren Organtoxizitäten einher.

Ein Patient (Pat. Nr. 17, Gruppe 5 x 10 g/m²) erlitt am 2. Konditionierungstag eine gedeckte Milzruptur. Die Milzruptur wird im Rahmen einer Milzbeteiligung des zu Grunde liegenden Mantelzell-Lymphoms gewertet und ist daher nicht als Organtoxizität der Konditionierungstherapie anzusehen. Nach einer Notfallsplenektomie erfolgte zunächst eine autologe HSZT. Nach Ablauf von drei Wochen wurde die Konditionierungstherapie mit Treosulfan (5 x 10 g/m²) erneut begonnen und anschließend wie ursprünglich geplant die allogene HSZT durchgeführt.

4.4 GvHD

4.4.1 Akute GvHD

Die Häufigkeit einer aGvHD in dieser Untersuchung ist mit einer Gesamthäufigkeit von 52,4 % bzw. 38,1 % für moderate aGvHD (Grad 2-3) sowohl mit den Resultaten nach 3-tägiger Konditionierung mit Treosulfan [49, 51, 55-56, 76] als auch mit den Ergebnissen nach der Anwendung von Standardkonditionierungsverfahren [81, 113] oder intensitätsreduzierten Protokollen [77-78, 89, 97] vergleichbar. Eine schwere aGvHD (Grad 4) wurde nicht beobachtet. Zwischen den beiden Dosisgruppen bestand kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Häufigkeit einer aGvHD. Dennoch gibt es auch Studien zur Therapie mit Treosulfan 3 x 10 g/m² bis 3 x 14 g/m² bzw. zu dosisreduzierten Protokollen in denen deutlich geringere Raten akuter GvH-Erkrankungen von 15 % bis 23 % beschrieben werden [84, 86, 96]. Während in der Publikation von Shimoni et al. [84] die GvHD-Prophylaxe, wie auch in der vorliegenden Untersuchung, aus CSA, MTX und der zusätzlichen Applikation von ATG bei unverwandtem Stammzellspender bestand, so war ATG in der Studie von Kröger et al. [86] als fester Bestandteil in das Therapieregime aller Patienten (mit

verwandtem oder unverwandtem Stammzellspender) integriert und wurde als möglicher Beitrag zu der vergleichsweise geringen GvHD-Rate angesehen [86]. Die von Chakraverty et al. nach intensitätsreduzierter Konditionierung mit Campath, Fludarabin und Melphalan beschriebene niedrige GvHD-Rate von 21 % (aGvHD) bzw. 8 % (cGvHD) mag auf die Addition von Campath sowie auf den hohen Anteil von HSZT aus Knochenmark (98 %) zurückzuführen sein [96, 114-117].

4.4.2 Chronische GvHD

Eine cGvHD war in der hier vorliegenden Untersuchung bei 44,4 % der in dieser Hinsicht evaluierbaren Patienten nachweisbar, ohne dass es bezüglich der Häufigkeit signifikante Unterschiede zwischen den beiden Dosisgruppen gab. Diese Zahlen liegen ebenfalls im Bereich der Resultate früherer Studien zur Konditionierungstherapie mit Treosulfan [49, 51, 55, 76, 84, 87] sowie zur intensitätsreduzierten Konditionierung [77-79, 89, 97] oder Standardtherapie [81, 113] bzw. darunter.

Das Vorhandensein eines Fremdspenders bzw. HLA-Mismatches führte nicht zu einer Zunahme der cGvHD-Rate (MRD 50 % vs. misMUD oder MUD 42,8 %), was möglicherweise auf den bei diesen Patienten zusätzlichen Einsatz von ATG zurückzuführen ist [82]. Vereinbar mit den beschriebenen Risikofaktoren für eine cGvHD [118-121] entwickelten Patienten, die zuvor an einer aGvHD erkrankt waren, etwas häufiger eine cGvHD (45 % vs. 30 %) als Patienten ohne vorausgegangene aGvHD, ohne dass statistische Signifikanz erreicht wurde (Exakter Test nach Fisher, $p = 1$).

Bemerkenswert ist die in dieser Untersuchung ausgesprochen geringe Häufigkeit extensiver cGvHD von insgesamt 4,8 % bzw. 0 % in der Gruppe $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ Treosulfan. Eine ähnliche Beobachtung machten auch Casper et al. nach Konditionierung mit Treosulfan $3 \times 10 \text{ g/m}^2$ bis $3 \times 14 \text{ g/m}^2$ [51]. Hier war die Rate extensiver cGvHD (insgesamt 24 %) ebenfalls in der Gruppe mit der höchsten Treosulfan-Dosis ($3 \times 14 \text{ g/m}^2$) mit 0 % am niedrigsten, im Vergleich zu 41 % nach $3 \times 10 \text{ g/m}^2$ und 20 % nach $3 \times 12 \text{ g/m}^2$ Treosulfan [51]. Dem gegenüber stehen Häufigkeiten von 16 % bis 34 % in anderen Studien zur Konditionierung mit Treosulfan über drei Tage [49, 53, 55, 76, 84, 86] bzw. nach intensitätsreduzierter Konditionierung [79]. Es zeigt sich daher unter Einbeziehung der Ergebnisse von Casper et al. [51] ein Trend zur Abnahme der Häufigkeit schwerer cGvH-

Erkrankungen mit steigender Treosulfan-Dosis, wobei in der vorliegenden Untersuchung in beiden Dosisgruppen der Anteil an Stammzelltransplantationen zwischen Verwandten (MRD) vergleichbar gering war (5 x 8 g/m² 16,6 %; 5 x 10 g/m² 26,6 %). Vergleicht man die Zahlen der Gruppe 3 x 10 g/m² aus [51] mit den Zahlen des gesamten Patientenkollektivs der hier vorliegenden Untersuchung bzw. der Gruppe 5 x 10 g/m², so sind nach Gabe von Treosulfan-Dosen von 40 bis 50 g/m² signifikant weniger Patienten an einer extensiven chronischen GvHD erkrankt als nach Konditionierung mit 30 g/m² (Exakter Test nach Fisher, p = 0,020 bzw. p = 0,006). Im Gegensatz zu der hier nach Dosiserhöhung gezeigten geringeren Rate extensiver cGvHD steht die Annahme, dass ein früher kompletter Spenderchimärismus, wie er in der vorliegenden Arbeit nach Dosisescalation beschrieben ist (siehe 4.2. Engraftment und Chimärismus), eher mit einer Zunahme des GvHD-Risikos assoziiert ist [76, 122-123].

4.5 Therapieassoziierte Mortalität

Insgesamt betrug die NRM in der vorgelegten Treosulfan-Dosisescalationsstudie nach Kaplan Meier 26,7 % bei Inzidenzen von 9,5 % am Tag 100 bzw. 26,7 % nach zwölf Monaten und ist damit vergleichbar mit den Resultaten nach Konditionierung mit Treosulfan über drei Tage [51, 55, 76, 87-88] oder nach Anwendung intensitätsreduzierter Konditionierungsverfahren [77, 89, 94].

Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass 71,4 % der Patienten aufgrund ihres Risikoprofils als nicht geeignet für eine Standardkonditionierung galten und 61,9 % der Patienten einen Sorrow Score > 3 Punkte nach HCT-CI [9] erreichten, erscheint diese Inzidenz akzeptabel. Dem gegenüber stehen höhere Inzidenzen von 31 % bis 59 % (kumulative Inzidenz nach 12 Monaten) nach Standardkonditionierung [104, 113, 124].

Ähnlich der vorausgegangenen Studie von Casper et al. nach Treosulfan-Dosisescalation (3 x 10 g/m² bis 3 x 14 g/m²) traten transplantationsassoziierte Todesfälle in Folge von GvHD, Infektion inkl. EBV-Reaktivierungen oder deren Kombinationen auf [51]. In Übereinstimmung mit den publizierten Ergebnissen [51] wurden in der vorliegenden Untersuchung, dem Anspruch eines toxizitätsreduzierten Verfahrens gerecht werdend, ebenfalls keine Todesfälle durch konditionierungsbedingte Organtoxizitäten beobachtet.

Bei vergleichsweise geringer Gesamt-NRM fällt dennoch auf, dass während des Beobachtungszeitraums nicht-rezidivbedingte Todesfälle in der Dosisgruppe $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ signifikant häufiger auftraten als in der Gruppe der mit $5 \times 10 \text{ g/m}^2$ Treosulfan behandelten Patienten (Rate 66,7 % vs. 6,7 %, Exakter Test nach Fisher, $p = 0,011$). Unter Berücksichtigung der Tatsachen, dass in der Gruppe $5 \times 8 \text{ g/m}^2$ die Patienten signifikant älter waren (Median 61,5 Jahre vs. 44,0 Jahre; t-Test für unabhängige Stichproben, statistische Signifikanz mit $t = 2,63$; $\alpha = 0,05$, $FG = 19$), signifikant mehr Patienten mehr als eine Vortherapie erhalten haben (83,3 % vs. 26,7 %; Exakter Test nach Fisher, $p = 0,046$) und mehr Patienten nicht HLA-ident transplantiert wurden (50 % vs. 20 %), scheint dieser Unterschied in der NRM jedoch eher auf das Risikoprofil des Patientenkollektivs zurückzuführen zu sein als auf die applizierte Treosulfan-Dosis. Darüber hinaus ist zu beachten, dass die Zuordnung der Patienten zu den einzelnen Dosisgruppen nicht randomisiert erfolgte, sondern insbesondere unter Berücksichtigung des jeweiligen Risikoprofils zu Stande kam.

Insgesamt ging die Dosisescalation des Treosulfans bzw. die Verlängerung der Therapiedauer also nicht mit einer Erhöhung der therapieassoziierten Mortalität einher.

4.6 Rezidivrate und Gesamtüberleben

Beim Vergleich der in dieser Untersuchung erzielten Resultate, hinsichtlich des Gesamtüberlebens und der Rezidivrate, mit den Ergebnissen anderer Studien ist zu berücksichtigen, dass hier eine mit im Median 283 Tagen (69-635 Tage) vergleichsweise kurze Nachbeobachtungszeit vorliegt, wohingegen in den meisten Publikationen über 2- bzw. 3-Jahres-Überlebensraten berichtet wird.

Während des gesamten Nachbeobachtungszeitraumes beträgt das OS in der vorgelegten Untersuchung 57,1 % bei einer 1-Jahres-Überlebensrate von ebenfalls 57,1 %. Diese Überlebenswahrscheinlichkeiten sind etwas geringer als nach der Konditionierungstherapie mit Treosulfan über drei Tage, wo 1-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeiten zwischen 69 % und 85 % beschrieben wurden [51, 55, 76, 84, 87]. Dennoch lassen sich die hier erzielten Ergebnisse hinsichtlich des OS im Bereich der bzw. oberhalb der Resultate nach Standardkonditionierung [81, 95, 104, 124] oder intensitätsreduzierten Konditionierungsprotokollen [77, 89, 98] einordnen, wo ähnliche oder geringere 1-Jahresüberlebenswahrscheinlichkeiten zwischen 24 % und 62 % berichtet wurden.

Die in der vorliegenden Arbeit dokumentierten Todesfälle waren zu ähnlichen Teilen rezidivbedingt (44,4 %) oder therapieassoziiert (55,6 %).

Die Mortalität im gesamten Beobachtungszeitraum war in der Gruppe 5 x 10 g/m² signifikant niedriger als in der Gruppe der mit 5 x 8 g/m² Treosulfan behandelten Patienten (26,7 % vs. 83,3 %, Exakter Test nach Fisher, $p = 0,046$), resultierte aber nicht in einem signifikant besseren OS nach Kaplan-Meier (Log-Rank-Test, $p = 0,061$). Nach Angleichung der Gruppengröße, durch zufällige Verkleinerung der Gruppe 5 x 10 g/m², bestand dieser Trend weiterhin, jedoch ohne statistische Signifikanz zu erreichen (Exakter Test nach Fisher, $p = 0,103$). Berücksichtigend, dass in der Gruppe 5 x 8 g/m² 80 % der Todesfälle als therapieassoziiert gewertet wurden, kann die dort höhere Gesamtmortalität auf die signifikant höhere NRM (siehe 4.5 Therapieassoziierte Mortalität) zurückgeführt werden. Letztere ist jedoch, wie bereits in 4.5 diskutiert, eher dem Risikoprofil des Patientenkollektivs als der applizierten Treosulfan-Dosis geschuldet.

Mismatch-Transplantationen gingen nicht mit einem signifikant erhöhten Mortalitätsrisiko gegenüber HLA-identen Transplantationen einher (50 % vs. 40 %, Exakter Test nach Fisher, $p = 1$). Ebenso gab es bezüglich des Überlebens keinen signifikanten Unterschied zwischen in CR transplantierten Patienten und Patienten in allen anderen Krankheitsstadien (Mortalität CR 37,5 % vs. Nicht-CR 46,2 %, Exakter Test nach Fisher, $p = 1,0$).

Möglicherweise hat die hohe Rate an Komorbiditäten (76,2 % der Patienten Sorrow Score ≥ 2) zu der hier bestehenden Mortalitätsrate beigetragen. So ist bei Patienten mit einem Sorrow Score ≥ 2 , im Vergleich zu Patienten mit einem Sorrow Score ≤ 1 , eine signifikant höhere Sterblichkeit (56,25 % vs. 0 %, Exakter Test nach Fisher, $p = 0,045$) zu verzeichnen. Darüber hinaus könnte, bei einer Rezidiv-assoziierten Mortalität von insgesamt 19 %, die, gegenüber der Konditionierung mit Treosulfan über drei Tage, nach Kaplan-Meier etwas höhere 1-Jahres-Rezidivwahrscheinlichkeit von 45 % (vs. 8 % bis 28 % nach [51, 55, 84]) zu der, im Vergleich zu diesen Studien, etwas geringeren Überlebenschancen führen.

Die Zunahme der Rezidivwahrscheinlichkeit nach der Therapie mit Treosulfan über fünf Tage (40 bis 50 g/m² Treosulfan) gegenüber der Konditionierung mit Treosulfan über drei Tage (30 bis 42 g/m² Treosulfan) ist überraschend, da Casper et al., bei vergleichbarem Anteil an HSZT in CR (38 % vs. 42 % [51]) bzw. in Nicht-CR (62 % vs. 58 % [51]), die geringste Rezidivwahrscheinlichkeit in der Gruppe mit der

höchsten Treosulfan-Dosierung (42 g/m² Treosulfan) beschrieben hatten [51]. Zwischen den beiden in der vorgelegten Arbeit untersuchten Dosisgruppen bestand hinsichtlich der Häufigkeit von während der Nachbeobachtungszeit aufgetretenen Rezidiven kein signifikanter Unterschied (5 x 8 g/m² 33,3 % vs. 5 x 10 g/m² 40 %, Exakter Test nach Fisher, p = 1,0). Ähnliche 1-Jahres-Rezidiv-Wahrscheinlichkeiten wie in der vorliegenden Arbeit werden mit 30 % bis 45 % nach Standardkonditionierung angegeben [81, 95, 124]. Unter Berücksichtigung des Ausbleibens eines primären oder sekundären Transplantatversagens sowie der hohen Rate kompletter Spenderchimärismen von insgesamt 100 % (Tag 28 94,7 %; Tag 100 93,8 %), ist die hier etwas höhere Rezidivwahrscheinlichkeit ebenfalls erstaunlich, da eher gemischte Spenderchimärismen als Risikofaktoren für ein Rezidiv gelten [76, 87, 90-92].

Interessanterweise ist bei den Patienten, die in kompletter Remission transplantiert wurden häufiger ein Rezidiv aufgetreten, als bei den Patienten in allen anderen Krankheitsstadien (Rate 62,5 % vs. 23,1 %) (statistische Signifikanz nicht erreicht, Exakter Test nach Fisher, p = 0,164). Bemerkenswert ist auch, dass entgegen der Annahme, dass eine cGvHD über den GvL-Effekt mit einer Reduktion des Rezidiv-Risikos assoziiert ist [125-126], die Rezidivrate in dieser Untersuchung zwischen Patienten mit und ohne cGvHD etwa gleich (37,5 % vs. 40 %) war. Dennoch könnte die ausgesprochen geringe Rate extensiver cGvHD (siehe 4.4 Akute und chronische GvHD) zur etwas höheren Rezidivrate beigetragen haben.

4.7 Methodenkritik

Nachteilig an dieser retrospektiven Untersuchung sind zum Einen die Heterogenität der Patientengruppe hinsichtlich Alter, Diagnose, Krankheitsstadium zum Transplantationszeitpunkt, Vorgeschichte etc. sowie die relativ kleine Patientenzahl, wodurch sich die erhobenen Daten nur eingeschränkt interpretieren und mit anderen Resultaten vergleichen lassen. Eine Subgruppen-Analyse war aufgrund der kleinen Gruppengrößen und unterschiedlichen Patientenzahlen nur bedingt möglich. Letzteres wurde durch Anpassung der Gruppengröße mittels zufälliger Auswahl versucht zu relativieren. Nichtsdestotrotz konnten signifikante Unterschiede zu anderen Untersuchungen oder Trends aufgezeigt werden bzw. bereits zuvor beschriebene Zusammenhänge oder Tendenzen bestätigt werden. Kritisch anzumerken ist darüber hinaus die vergleichsweise kurze Nachbeobachtungszeit von

im Median 283 Tagen (69 bis 635 Tage). Diese lässt im Vergleich mit anderen Studien mit längerem Nachbeobachtungszeitraum nur eine eingeschränkte Interpretation der Überlebensdaten zu. Hinsichtlich der Beurteilung des unmittelbaren Transplantationserfolges (Engraftment, Chimärismus) sowie der therapieassoziierten Toxizitäten, der transplantationsassoziierten Mortalität und kurzfristiger Ereignisse (GvHD, frühe Todesfälle und Rezidive) ist jedoch eine Gegenüberstellung mit den Resultaten anderer Untersuchungen gut möglich. Wenngleich die Datenerhebung durch manuelle Sichtung der Patientenakten eine detaillierte Erfassung aller relevanten Ereignisse erlaubt, so ist dennoch zu erwähnen, dass bei einem Patienten (Nr. 17) klinische Dokumentationen nur bis Tag 17 nach HSZT vorlagen.

5 Zusammenfassung

Mit dem Ziel die allogene HSZT auch älteren Patienten mit Komorbiditäten zugänglich zu machen, ohne durch Reduktion der Dosis der Chemotherapie den antineoplastischen Effekt einzubüßen, wurden toxizitätsreduzierte Konditionierungstherapien, wie die Kombinationstherapie mit Treosulfan und Fludarabin, entwickelt. Auf der Grundlage der bisherigen Resultate der Konditionierungstherapie mit Treosulfan über drei Tage in Gesamtdosen von 30 g/m² bis 42 g/m² erfolgten in der vorliegenden Untersuchung die Verlängerung der Therapiedauer auf fünf Tage sowie eine weitere Dosisescalation des Treosulfans von 40 g/m² auf 50 g/m².

Insgesamt konnte anhand der vorliegenden Untersuchung die Durchführbarkeit der toxizitätsreduzierten Konditionierungstherapie mit Treosulfan in Gesamtdosen von 40 g/m² und 50 g/m² über fünf Tage gezeigt werden. Bei allen Patienten konnten ein anhaltendes Engraftment sowie ein früher stabiler vollständiger Spenderchimärismus erzielt werden. Ein primäres oder sekundäres Transplantatversagen wurde nicht beobachtet. Im Vergleich zur Konditionierung mit Treosulfan über drei Tage bestand der Trend zu einer prolongierten Neutropenie, resultierend in einer, dennoch mit den Resultaten nach 3-tägiger Konditionierung vergleichbaren, Infektionsrate (CTC Grad 3/4) von 57 %. Darüber hinaus war die extrahämatologische konditionierungsbedingte Toxizität (CTC Grad 3/4) unabhängig von der eingesetzten Treosulfan-Dosis gering. Toxizitäten Grad 4 nach CTC traten kaum auf. Bei signifikant höherer NRM im Vergleich zur anderen Dosisgruppe (67 % vs. 7 %) bestand in der Gruppe 5 x 8 g/m² Treosulfan eine signifikant höhere Mortalität (83 % vs. 27 %). Erstere ist, bei in beiden Dosisgruppen gleichermaßen geringer konditionierungsbedingter Toxizität, eher auf das ungünstigere Risikoprofil der Patienten der Dosisgruppe 5 x 8 g/m² Treosulfan zurückzuführen als auf die eingesetzte Treosulfan-Dosis. Insgesamt war die NRM unter Berücksichtigung des Risikoprofils aller Patienten, dem Anspruch eines toxizitätsreduzierten Verfahrens gerecht werdend, mit 23,8 % gering. Unter Einbeziehung der Ergebnisse von Casper et al. [51] zeigte sich die Tendenz zur Abnahme der Rate schwerer cGvHD mit höherer Treosulfan-Dosis. Dies könnte als Spiegelbild eines durch Dosiserhöhung supprimierten GvL-Effektes zu der, trotz hoher Rate früher vollständiger Spenderchimärismen, im Vergleich zur Konditionierungstherapie mit Treosulfan über

drei Tage etwas gesteigerten 1-Jahres-Rezidivwahrscheinlichkeit (nach Kaplan Meier) von 45 % beigetragen haben. Insgesamt konnte in der vorliegenden Untersuchung ein sicheres und effektives Konditionierungsverfahren gezeigt werden. Zusätzliche Untersuchungen zur dosisintensivierten Therapie mit Treosulfan mit größeren Patientenkollektiven und längeren Nachbeobachtungszeiten könnten diesbezüglich weiterführende Erkenntnisse zum Einfluss der Treosulfan Dosis sowie der Therapiedauer auf die cGvHD und das Rezidivrisiko liefern.

6 Thesen

1. Die zunehmend Anwendung findende allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation (allogene HSZT) stellt eine potentiell kurative Behandlungsoption für Patienten mit hämatologischen Erkrankungen dar.
2. Die konventionelle Konditionierungstherapie vor allogener HSZT mit hochdosierter Chemotherapie und/oder Ganzkörperbestrahlung bleibt aufgrund limitierender therapieassoziierter Toxizitäten jüngeren Patienten ohne relevante Komorbiditäten vorbehalten.
3. Da insbesondere ältere Patienten an hämatologischen Erkrankungen leiden und gerade diese Patienten vermehrt Komorbiditäten aufweisen, bedurfte es der Entwicklung toxizitätsreduzierter Therapieverfahren, ohne, insbesondere bei Patienten mit einem hohen Rezidivrisiko, im Rahmen einer Dosisreduktion der Chemotherapie den antineoplastischen Effekt einzubüßen.
4. Zu den toxizitätsreduzierten Therapieprotokollen zählt die Konditionierungstherapie mit Treosulfan und Fludarabin, deren Effektivität und Sicherheit in mehreren Studien, nach Anwendung von in drei Einzeldosen verabreichten Gesamtdosen von 30 bis 42 g/m² Treosulfan, gezeigt werden konnte.
5. Die in der vorliegenden Arbeit vor allogener HSZT durchgeführte Konditionierungstherapie mit Treosulfan 5 x 8 g/m² bzw. 5 x 10 g/m² kombiniert mit Fludarabin 5 x 30 mg/m² vermochte, als Zeichen der Effektivität des gewählten Therapieverfahrens, bei allen Patienten ein anhaltendes Engraftment sowie einen vollständigen Spenderchimärismus zu induzieren.
6. Im Vergleich zur Konditionierungstherapie mit Treosulfan über drei Tage sowie zu intensitätsreduzierten Konditionierungsverfahren mit Busulfan und Fludarabin zeigte sich in der vorliegenden Untersuchung eine höhere Rate früher kompletter Spenderchimärismen.
7. Verglichen mit der Konditionierungstherapie mit Treosulfan über drei Tage sowie mit intensitätsreduzierten Protokollen besteht nach 5-tägiger Konditionierung mit Treosulfan in Gesamtdosen von 40 und 50 g/m², ähnlich wie nach myeloablativer

- Standardkonditionierung, die Tendenz zu einer länger anhaltenden Leukozyto- und Neutropenie, resultierend in einer Rate schwerer Infektionen (CTC Grad 3 oder 4) von 57%.
8. Die in der vorliegenden Untersuchung beobachtete Infektionsrate (CTC Grad 3 oder 4) ist trotz der prolongierten Neutropenie nicht signifikant höher als nach der Konditionierungstherapie mit Treosulfan über drei Tage in Gesamtdosen von 30 bis 42 g/m².
 9. Die Konditionierungstherapie mit Treosulfan und Fludarabin kann auch nach 5-tägiger Anwendung bzw. nach der Dosisescalation auf eine Gesamtdosis von 50 g/m² Treosulfan als toxisitätsreduziertes Verfahren angesehen werden, da wie auch nach 3-tägiger Treosulfan-Konditionierung im Gegensatz zu Melphalan- oder Busulfan-basierten Protokollen keine schweren hepatischen, pulmonalen oder kardialen Toxizitäten auftraten und die Rate gastrointestinaler oder dermatologischer Toxizitäten gering ist.
 10. Die Dosisescalation auf 50 g/m² Treosulfan geht im Vergleich zur Konditionierung über drei Tage (Gesamt 30 bis 42 g/m² Treosulfan) bzw. zur Konditionierung mit 5 x 8 g/m² nicht mit einer Zunahme der Häufigkeit und Schwere therapieassoziiertes extrahämatologischer Toxizitäten einher.
 11. Die Gesamthäufigkeit therapieassoziiertes Toxizitäten wird bei geringer direkter Organtoxizität der Konditionierungstherapie mit Treosulfan und Fludarabin vor allem durch die Infektionsrate als Folge der (prolongierten) Neutropenie bestimmt.
 12. Nach Konditionierung mit 5 x 8 g/m² Treosulfan bzw. nach der Dosisescalation auf 50 g/m² Treosulfan besteht im Vergleich zur Konditionierungstherapie mit Treosulfan 3 x 10 – 12 g/m² ein Trend zur Abnahme der Rate extensiver chronischer GvH-Erkrankungen. Dies könnte durch einen, als Folge der Dosisescalation, supprimierten Transplantat-gegen-Leumämie-Effekt (GvL-Effekt) bewirkt werden.
 13. Die Rezidivrate ist nach der Konditionierungstherapie mit Treosulfan über fünf Tage etwas höher als in den Untersuchungen nach 3-tägiger Konditionierung mit

-
- Treosulfan. Dies könnte ebenfalls, durch einen im Rahmen der Dosisintensivierung, supprimierten GvL-Effekt bewirkt werden.
14. Die 1-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit nach Kaplan Meier ist in der vorliegenden Untersuchung mit 57 % etwas geringer als in den Untersuchungen zur Konditionierungstherapie mit Treosulfan über drei Tage. Dies ist zum Einen durch die höhere Rezidivrate bedingt und zum Anderen durch eine höhere nicht-rezidivbedingte Mortalität (NRM) in der Dosisgruppe 5 x 8 g/m² Treosulfan.
 15. In der Treosulfan-Dosisgruppe 5 x 8 g/m² ist aufgrund des Risikoprofils des Patientenkollektivs eine signifikant höhere NRM zu verzeichnen als in der Gruppe 5 x 10 g/m² Treosulfan, resultierend in einer signifikant höheren Gesamtmortalität.
 16. Das Vorhandensein von Komorbiditäten hat einen negativen Einfluss auf das Gesamtüberleben. So besteht bei Patienten mit Komorbiditäten (Sorrow Score \geq 2) eine signifikant höhere Mortalität.
 17. In weiteren Untersuchungen zur toxizitätsreduzierten Konditionierungstherapie mit Treosulfan mit größeren Patientenkollektiven und längeren Nachbeobachtungszeiten könnten weitere Erkenntnisse zum Einfluss der Treosulfan-Dosis und der Therapiedauer auf die chronische GvHD und das Rezidivrisiko gewonnen werden.

7 Literaturverzeichnis

1. Soutar, R.L. and King, D.J., *Bone marrow transplantation*. BMJ, 1995. **310**(6971): p. 31-6.
2. Brunstein, C.G., *Umbilical cord blood transplantation for the treatment of hematologic malignancies*. Cancer Control, 2011. **18**(4): p. 222-36.
3. Kolb, H.J., Schmid, C., Barrett, A.J., and Schendel, D.J., *Graft-versus-leukemia reactions in allogeneic chimeras*. Blood, 2004. **103**(3): p. 767-76.
4. Buffart, T.E., Janssen, J.J., and Huijgens, P.C., *Reduced-intensity conditioning regimens in malignant haematological diseases*. Neth J Med, 2005. **63**(2): p. 43-51.
5. Sandmaier, B.M., Mackinnon, S., and Childs, R.W., *Reduced intensity conditioning for allogeneic hematopoietic cell transplantation: current perspectives*. Biol Blood Marrow Transplant, 2007. **13**(1 Suppl 1): p. 87-97.
6. Bacigalupo, A., Ballen, K., Rizzo, D., Giralt, S., Lazarus, H., Ho, V., Apperley, J., Slavin, S., Pasquini, M., Sandmaier, B.M., Barrett, J., Blaise, D., Lowski, R., and Horowitz, M., *Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions*. Biol Blood Marrow Transplant, 2009. **15**(12): p. 1628-33.
7. Maloney, D.G., Sandmaier, B.M., Mackinnon, S., and Shizuru, J.A., *Non-myeloablative transplantation*. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2002: p. 392-421.
8. Koreth, J., Aldridge, J., Kim, H.T., Alyea, E.P., 3rd, Cutler, C., Armand, P., Ritz, J., Antin, J.H., Soiffer, R.J., and Ho, V.T., *Reduced-intensity conditioning hematopoietic stem cell transplantation in patients over 60 years: hematologic malignancy outcomes are not impaired in advanced age*. Biol Blood Marrow Transplant, 2010. **16**(6): p. 792-800.
9. Sorrow, M.L., Maris, M.B., Storb, R., Baron, F., Sandmaier, B.M., Maloney, D.G., and Storer, B., *Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT*. Blood, 2005. **106**(8): p. 2912-9.
10. Baron, F. and Storb, R., *Allogeneic hematopoietic cell transplantation as treatment for hematological malignancies: a review*. Springer Semin Immunopathol, 2004. **26**(1-2): p. 71-94.
11. Baron, F., Storb, R., and Little, M.T., *Hematopoietic cell transplantation: five decades of progress*. Arch Med Res, 2003. **34**(6): p. 528-44.
12. Thomas, E., Storb, R., Clift, R.A., Fefer, A., Johnson, F.L., Neiman, P.E., Lerner, K.G., Glucksberg, H., and Buckner, C.D., *Bone-marrow transplantation (first of two parts)*. N Engl J Med, 1975. **292**(16): p. 832-43.
13. Thomas, E.D., Buckner, C.D., Banaji, M., Clift, R.A., Fefer, A., Flournoy, N., Goodell, B.W., Hickman, R.O., Lerner, K.G., Neiman, P.E., Sale, G.E., Sanders, J.E., Singer, J., Stevens, M., Storb, R., and Weiden, P.L., *One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation, and allogeneic marrow transplantation*. Blood, 1977. **49**(4): p. 511-33.
14. Thomas, E.D., Storb, R., Clift, R.A., Fefer, A., Johnson, L., Neiman, P.E., Lerner, K.G., Glucksberg, H., and Buckner, C.D., *Bone-marrow transplantation (second of two parts)*. N Engl J Med, 1975. **292**(17): p. 895-902.

15. Santos, G.W., Tutschka, P.J., Brookmeyer, R., Saral, R., Beschorner, W.E., Bias, W.B., Braine, H.G., Burns, W.H., Elfenbein, G.J., Kaizer, H., and et al., *Marrow transplantation for acute nonlymphocytic leukemia after treatment with busulfan and cyclophosphamide*. N Engl J Med, 1983. **309**(22): p. 1347-53.
16. Clift, R.A., Radich, J., Appelbaum, F.R., Martin, P., Flowers, M.E., Deeg, H.J., Storb, R., and Thomas, E.D., *Long-term follow-up of a randomized study comparing cyclophosphamide and total body irradiation with busulfan and cyclophosphamide for patients receiving allogeneic marrow transplants during chronic phase of chronic myeloid leukemia*. Blood, 1999. **94**(11): p. 3960-2.
17. Socie, G., Clift, R.A., Blaise, D., Devergie, A., Ringden, O., Martin, P.J., Remberger, M., Deeg, H.J., Ruutu, T., Michallet, M., Sullivan, K.M., and Chevret, S., *Busulfan plus cyclophosphamide compared with total-body irradiation plus cyclophosphamide before marrow transplantation for myeloid leukemia: long-term follow-up of 4 randomized studies*. Blood, 2001. **98**(13): p. 3569-74.
18. Wallen, H., Gooley, T.A., Deeg, H.J., Pagel, J.M., Press, O.W., Appelbaum, F.R., Storb, R., and Gopal, A.K., *Ablative allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults 60 years of age and older*. J Clin Oncol, 2005. **23**(15): p. 3439-46.
19. Kolb, H.J., Mittermuller, J., Clemm, C., Holler, E., Ledderose, G., Brehm, G., Heim, M., and Wilmanns, W., *Donor leukocyte transfusions for treatment of recurrent chronic myelogenous leukemia in marrow transplant patients*. Blood, 1990. **76**(12): p. 2462-5.
20. Horowitz, M.M., Gale, R.P., Sondel, P.M., Goldman, J.M., Kersey, J., Kolb, H.J., Rimm, A.A., Ringden, O., Rozman, C., Speck, B., and et al., *Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation*. Blood, 1990. **75**(3): p. 555-62.
21. Kolb, H.J., *Graft-versus-leukemia effects of transplantation and donor lymphocytes*. Blood, 2008. **112**(12): p. 4371-83.
22. Billingham, R.E., *The biology of graft-versus-host reactions*. Harvey Lect, 1966. **62**: p. 21-78.
23. Ferrara, J.L., Levine, J.E., Reddy, P., and Holler, E., *Graft-versus-host disease*. Lancet, 2009. **373**(9674): p. 1550-61.
24. Lee, J.W. and Deeg, H.J., *Prevention of chronic GVHD*. Best Pract Res Clin Haematol, 2008. **21**(2): p. 259-70.
25. Min, C.K., *The pathophysiology of chronic graft-versus-host disease: the unveiling of an enigma*. Korean J Hematol, 2011. **46**(2): p. 80-7.
26. Hilgendorf, I., Mueller-Hilke, B., Kundt, G., Holler, E., Hoffmann, P., Edinger, M., Freund, M., and Wolff, D., *The lack of memory B cells including T cell independent IgM+ IgD+ memory B cells in chronic graft-versus host disease is associated with susceptibility to infection*. Transpl. Int., 2012. **25**(1): p. 87-96.
27. McSweeney, P.A., Niederwieser, D., Shizuru, J.A., Sandmaier, B.M., Molina, A.J., Maloney, D.G., Chauncey, T.R., Gooley, T.A., Hegenbart, U., Nash, R.A., Radich, J., Wagner, J.L., Minor, S., Appelbaum, F.R., Bensinger, W.I., Bryant, E., Flowers, M.E., Georges, G.E., Grumet, F.C., Kiem, H.P., Torok-Storb, B., Yu, C., Blume, K.G., and Storb, R.F., *Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects*. Blood, 2001. **97**(11): p. 3390-400.
28. Baron, F., Maris, M.B., Sandmaier, B.M., Storer, B.E., Sorrow, M., Diaconescu, R., Woolfrey, A.E., Chauncey, T.R., Flowers, M.E., Mielcarek, M., Maloney, D.G., and Storb, R., *Graft-versus-tumor effects after allogeneic hematopoietic*

- cell transplantation with nonmyeloablative conditioning*. J Clin Oncol, 2005. **23**(9): p. 1993-2003.
29. Mielcarek, M., Martin, P.J., Leisenring, W., Flowers, M.E., Maloney, D.G., Sandmaier, B.M., Maris, M.B., and Storb, R., *Graft-versus-host disease after nonmyeloablative versus conventional hematopoietic stem cell transplantation*. Blood, 2003. **102**(2): p. 756-62.
 30. Storb, R., Yu, C., Wagner, J.L., Deeg, H.J., Nash, R.A., Kiem, H.P., Leisenring, W., and Shulman, H., *Stable mixed hematopoietic chimerism in DLA-identical littermate dogs given sublethal total body irradiation before and pharmacological immunosuppression after marrow transplantation*. Blood, 1997. **89**(8): p. 3048-54.
 31. Slavin, S., Nagler, A., Naparstek, E., Kapelushnik, Y., Aker, M., Cividalli, G., Varadi, G., Kirschbaum, M., Ackerstein, A., Samuel, S., Amar, A., Brautbar, C., Ben-Tal, O., Eldor, A., and Or, R., *Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases*. Blood, 1998. **91**(3): p. 756-63.
 32. Hilger, R.A., Harstrick, A., Eberhardt, W., Oberhoff, C., Skorzec, M., Baumgart, J., Seeber, S., and Scheulen, M.E., *Clinical pharmacokinetics of intravenous treosulfan in patients with advanced solid tumors*. Cancer Chemother Pharmacol, 1998. **42**(2): p. 99-104.
 33. Hartley, J.A., O'Hare, C.C., and Baumgart, J., *DNA alkylation and interstrand cross-linking by treosulfan*. Br J Cancer, 1999. **79**(2): p. 264-6.
 34. Glowka, F.K., Karazniewicz-Lada, M., Grund, G., Wrobel, T., and Wachowiak, J., *Pharmacokinetics of high-dose i.v. treosulfan in children undergoing treosulfan-based preparative regimen for allogeneic haematopoietic SCT*. Bone Marrow Transplant, 2008. **42 Suppl 2**: p. S67-70.
 35. Masding, J., Sarkar, T.K., White, W.F., Barley, V.L., Chawla, S.L., Boesen, E., Rostom, A.Y., and Menday, A.P., *Intravenous treosulfan versus intravenous treosulfan plus cisplatin in advanced ovarian carcinoma*. Br J Obstet Gynaecol, 1990. **97**(4): p. 342-51.
 36. Kopf-Maier, P., *The alkylator treosulfan shows activity towards human renal-cell carcinoma in vivo and in vitro*. In Vivo, 1998. **12**(3): p. 275-88.
 37. Kopf-Maier, P. and Sass, G., *Antitumor activity of treosulfan against human breast carcinomas*. Cancer Chemother Pharmacol, 1992. **31**(2): p. 103-10.
 38. Kopf-Maier, P. and Sass, G., *Antitumor activity of treosulfan in human lung carcinomas*. Cancer Chemother Pharmacol, 1996. **37**(3): p. 211-21.
 39. Ploemacher, R.E., Johnson, K.W., Rombouts, E.J., Etienne, K., Westerhof, G.R., Baumgart, J., White-Scharf, M.E., and Down, J.D., *Addition of treosulfan to a nonmyeloablative conditioning regimen results in enhanced chimerism and immunologic tolerance in an experimental allogeneic bone marrow transplant model*. Biol Blood Marrow Transplant, 2004. **10**(4): p. 236-45.
 40. Fichtner, I., Becker, M., and Baumgart, J., *Antileukaemic activity of treosulfan in xenografted human acute lymphoblastic leukaemias (ALL)*. Eur J Cancer, 2003. **39**(6): p. 801-7.
 41. van Pel, M., van Breugel, D.W., Vos, W., Ploemacher, R.E., and Boog, C.J., *Towards a myeloablative regimen with clinical potential: I. Treosulfan conditioning and bone marrow transplantation allow induction of donor-specific tolerance for skin grafts across full MHC barriers*. Bone Marrow Transplant, 2003. **32**(1): p. 15-22.

42. van Pel, M., van Breugel, D.W., Vos, W., Ploemacher, R.E., and Boog, C.J., *Toward a myeloablative regimen with clinical potential: II. Treosulfan induces specific skin graft tolerance across haploidentical MHC barriers*. Bone Marrow Transplant, 2004. **33**(2): p. 153-9.
43. Scheulen, M.E., Hilger, R.A., Oberhoff, C., Casper, J., Freund, M., Josten, K.M., Bornhauser, M., Ehninger, G., Berdel, W.E., Baumgart, J., Harstrick, A., Bojko, P., Wolf, H.H., Schindler, A.E., and Seeber, S., *Clinical phase I dose escalation and pharmacokinetic study of high-dose chemotherapy with treosulfan and autologous peripheral blood stem cell transplantation in patients with advanced malignancies*. Clin Cancer Res, 2000. **6**(11): p. 4209-16.
44. Harstrick, A., Wilke, H., Eberhardt, W., Klaassen, U., Strumberg, D., Korn, M., Scheulen, M.E., Baumgart, J., and Seeber, S., *A Phase I Dose Escalation Trial of Intravenous Treosulfan in Refractory Cancer*. Onkologie, 1996. **19** (2): p. 153-56.
45. Giralt, S., Estey, E., Albitar, M., van Besien, K., Rondon, G., Anderlini, P., O'Brien, S., Khouri, I., Gajewski, J., Mehra, R., Claxton, D., Andersson, B., Beran, M., Przepiorka, D., Koller, C., Kornblau, S., Korbling, M., Keating, M., Kantarjian, H., and Champlin, R., *Engraftment of allogeneic hematopoietic progenitor cells with purine analog-containing chemotherapy: harnessing graft-versus-leukemia without myeloablative therapy*. Blood, 1997. **89**(12): p. 4531-6.
46. Khouri, I.F., Keating, M., Korbling, M., Przepiorka, D., Anderlini, P., O'Brien, S., Giralt, S., Ippoliti, C., von Wolff, B., Gajewski, J., Donato, M., Claxton, D., Ueno, N., Andersson, B., Gee, A., and Champlin, R., *Transplant-lite: induction of graft-versus-malignancy using fludarabine-based nonablative chemotherapy and allogeneic blood progenitor-cell transplantation as treatment for lymphoid malignancies*. J Clin Oncol, 1998. **16**(8): p. 2817-24.
47. Bornhauser, M., Storer, B., Slattery, J.T., Appelbaum, F.R., Deeg, H.J., Hansen, J., Martin, P.J., McDonald, G.B., Nichols, W.G., Radich, J., Woolfrey, A., Jenke, A., Schleyer, E., Thiede, C., Ehninger, G., and Anasetti, C., *Conditioning with fludarabine and targeted busulfan for transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells*. Blood, 2003. **102**(3): p. 820-6.
48. Keating, M.J., Kantarjian, H., Talpaz, M., Redman, J., Koller, C., Barlogie, B., Velasquez, W., Plunkett, W., Freireich, E.J., and McCredie, K.B., *Fludarabine: a new agent with major activity against chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 1989. **74**(1): p. 19-25.
49. Casper, J., Knauf, W., Kiefer, T., Wolff, D., Steiner, B., Hammer, U., Wegener, R., Kleine, H.D., Wilhelm, S., Knopp, A., Hartung, G., Dolken, G., and Freund, M., *Treosulfan and fludarabine: a new toxicity-reduced conditioning regimen for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*. Blood, 2004. **103**(2): p. 725-31.
50. Adkins, J.C., Peters, D.H., and Markham, A., *Fludarabine. An update of its pharmacology and use in the treatment of haematological malignancies*. Drugs, 1997. **53**(6): p. 1005-37.
51. Casper, J., Wolff, D., Knauf, W., Blau, I.W., Ruutu, T., Volin, L., Wandt, H., Schafer-Eckart, K., Holowiecki, J., Giebel, S., Aschan, J., Zander, A.R., Kroger, N., Hilgendorf, I., Baumgart, J., Mylius, H.A., Pichlmeier, U., and Freund, M., *Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in patients with hematologic malignancies after dose-escalated treosulfan/fludarabine conditioning*. J Clin Oncol, 2010. **28**(20): p. 3344-51.

52. Deeg, H.J., *Transplantation conditioning regimens: can we say it better?* Biol Blood Marrow Transplant, 2009. **15**(6): p. 653-5.
53. Casper, J., Holowiecki, J., Trenchel, R., Wandt, H., Schaefer-Eckart, K., Ruutu, T., Volin, L., Einsele, H., Stuhler, G., Uharek, L., Blau, I., Bornhaeuser, M., Zander, A.R., Larsson, K., Markiewicz, M., Giebel, S., Kruzel, T., Mylius, H.A., Baumgart, J., Pichlmeier, U., Freund, M., and Beelen, D.W., *Allogeneic hematopoietic SCT in patients with AML following treosulfan/fludarabine conditioning.* Bone Marrow Transplant, 2011.
54. Nemecek, E.R., Guthrie, K.A., Sorrow, M.L., Wood, B.L., Doney, K.C., Hilger, R.A., Scott, B.L., Kovacsovics, T.J., Maziarz, R.T., Woolfrey, A.E., Bedalov, A., Sanders, J.E., Pagel, J.M., Sickle, E.J., Witherspoon, R., Flowers, M.E., Appelbaum, F.R., and Deeg, H.J., *Conditioning with treosulfan and fludarabine followed by allogeneic hematopoietic cell transplantation for high-risk hematologic malignancies.* Biol Blood Marrow Transplant, 2011. **17**(3): p. 341-50.
55. Ruutu, T., Volin, L., Beelen, D.W., Trenchel, R., Finke, J., Schnitzler, M., Holowiecki, J., Giebel, S., Markiewicz, M., Uharek, L., Blau, I.W., Kienast, J., Stelljes, M., Larsson, K., Zander, A.R., Gramatzki, M., Repp, R., Einsele, H., Stuhler, G., Baumgart, J., Mylius, H.A., Pichlmeier, U., Freund, M., and Casper, J., *Reduced-toxicity conditioning with treosulfan and fludarabine in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myelodysplastic syndromes: final results of an international prospective phase II trial.* Haematologica, 2011. **96**(9): p. 1344-50.
56. Holowiecki, J., Giebel, S., Wojnar, J., Krawczyk-Kulis, M., Markiewicz, M., Holowiecka-Goral, A., Freund, M., and Casper, J., *Treosulfan and fludarabine low-toxicity conditioning for allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in chronic myeloid leukaemia.* Br J Haematol, 2008. **142**(2): p. 284-92.
57. Gratwohl, A., Hermans, J., Goldman, J.M., Arcese, W., Carreras, E., Devergie, A., Frassoni, F., Gahrton, G., Kolb, H.J., Niederwieser, D., Ruutu, T., Vernant, J.P., de Witte, T., and Apperley, J., *Risk assessment for patients with chronic myeloid leukaemia before allogeneic blood or marrow transplantation. Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation.* Lancet, 1998. **352**(9134): p. 1087-92.
58. Ottinger, H.D., Müller, C., Riebschläger, S., Arnold, R., Beelen, D.W., Blasczyk, R., Ehninger, G., Einsele, H., Finke, J., Haag, C., Holler, E., Kolb, H.J., Kolbe, K., Kremens, B., Mytilineos, J., Seidl, C., Zander, A.R., and Grosse-Wilde, H. *Dritter Deutscher Konsensus zur immungenetischen Spenderauswahl für die allogene Stammzelltransplantation.* 2005; Available from: <http://www.dag-kbt.de>.
59. Einsele, H., Bertz, H., Beyer, J., Kiehl, M.G., Runde, V., Kolb, H.J., Holler, E., Beck, R., Schwerdfeger, R., Schumacher, U., Hebart, H., Martin, H., Kienast, J., Ullmann, A.J., Maschmeyer, G., Kruger, W., Niederwieser, D., Link, H., Schmidt, C.A., Oettle, H., and Klingebiel, T., *Infectious complications after allogeneic stem cell transplantation: epidemiology and interventional therapy strategies--guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO).* Ann Hematol, 2003. **82 Suppl 2**: p. S175-85.
60. Kruger, W.H., Bohlius, J., Cornely, O.A., Einsele, H., Hebart, H., Massenkeil, G., Schuttrumpf, S., Silling, G., Ullmann, A.J., Waldschmidt, D.T., and Wolf, H.H., *Antimicrobial prophylaxis in allogeneic bone marrow transplantation.*

- Guidelines of the infectious diseases working party (AGIHO) of the german society of haematology and oncology.* Ann Oncol, 2005. **16**(8): p. 1381-90.
61. National Cancer Institute, C.T.E.P. *Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAE)*. 2003; Available from: <http://ctep.cancer.gov>.
 62. Glucksberg, H., Storb, R., Fefer, A., Buckner, C.D., Neiman, P.E., Clift, R.A., Lerner, K.G., and Thomas, E.D., *Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors.* Transplantation, 1974. **18**(4): p. 295-304.
 63. Przepiorka, D., Weisdorf, D., Martin, P., Klingemann, H.G., Beatty, P., Hows, J., and Thomas, E.D., *1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading.* Bone Marrow Transplant, 1995. **15**(6): p. 825-8.
 64. Filipovich, A.H., Weisdorf, D., Pavletic, S., Socie, G., Wingard, J.R., Lee, S.J., Martin, P., Chien, J., Przepiorka, D., Couriel, D., Cowen, E.W., Dinndorf, P., Farrell, A., Hartzman, R., Henslee-Downey, J., Jacobsohn, D., McDonald, G., Mittleman, B., Rizzo, J.D., Robinson, M., Schubert, M., Schultz, K., Shulman, H., Turner, M., Vogelsang, G., and Flowers, M.E., *National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report.* Biol Blood Marrow Transplant, 2005. **11**(12): p. 945-56.
 65. Krentz, H., ed. *Statistische Analysen mit SPSS in der Medizin.* Band 1: Beschreibende Statistische Analysen. 2005, Shaker Verlag. p. 174-76.
 66. Krentz, H., ed. *Statistische Analysen mit SPSS in der Medizin.* Band 2: Schließende Statistische Analysen. 2005, Shaker Verlag. p. 22-26, 180-87.
 67. Kundt, G. and Krentz, H., eds. *Epidemiologie und Medizinische Biometrie.* 2008, Shaker Verlag. 143-201.
 68. Bender, R., Lange, S., and Ziegler, A., *Wichtige Signifikanztests.* Dtsch Med Wochenschr, 2002. **127**: **T1-T3**.
 69. Ziegler, A., Lange, S., and Bender, R., *Überlebenszeitanalyse: Eigenschaften und Kaplan-Meier-Methode.* Dtsch Med Wochenschr, 2002. **127**: **T14-T16**.
 70. Ziegler, A., Lange, S., and Bender, R., *Überlebenszeitanalyse: Der Log-Rang-Test.* Dtsch Med Wochenschr, 2004. **129**: **T4-T6**.
 71. Goh, R.Y., Cho, S.S., Song, Y.J., Heo, K., Oh, S.Y., Kim, S.H., Kwon, H.C., Kim, H.J., and Han, J.Y., *Clinical utility of chimerism status assessed by lineage-specific short tandem repeat analysis: experience from four cases of allogeneic stem cell transplantation.* Korean J Lab Med, 2009. **29**(4): p. 277-81.
 72. Schaap, N., Schattenberg, A., Mensink, E., Preijers, F., Hillegers, M., Knops, R., Pennings, A., Boezeman, J., Geurts van Kessel, A., de Pauw, B., and de Witte, T., *Long-term follow-up of persisting mixed chimerism after partially T cell-depleted allogeneic stem cell transplantation.* Leukemia, 2002. **16**(1): p. 13-21.
 73. Baldomero, H., Gratwohl, M., Gratwohl, A., Tichelli, A., Niederwieser, D., Madrigal, A., and Frauendorfer, K., *The EBMT activity survey 2009: trends over the past 5 years.* Bone Marrow Transplant, 2011. **46**(4): p. 485-501.
 74. Martino, R., Iacobelli, S., Brand, R., Jansen, T., van Biezen, A., Finke, J., Bacigalupo, A., Beelen, D., Reiffers, J., Devergie, A., Alessandrino, E., Mufti, G.J., Barge, R., Sierra, J., Ruutu, T., Boogaerts, M., Falda, M., Jouet, J.P., Niederwieser, D., and de Witte, T., *Retrospective comparison of reduced-intensity conditioning and conventional high-dose conditioning for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation using HLA-identical sibling donors in myelodysplastic syndromes.* Blood, 2006. **108**(3): p. 836-46.

75. Carella, A.M., Giralt, S., and Slavin, S., *Low intensity regimens with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation as treatment of hematologic neoplasia*. Haematologica, 2000. **85**(3): p. 304-13.
76. Blau, I.W., Schmidt-Hieber, M., Leschinger, N., Goldner, H., Knauf, W., Hopfenmuller, W., Thiel, E., and Blau, O., *Engraftment kinetics and hematopoietic chimerism after reduced-intensity conditioning with fludarabine and treosulfan before allogeneic stem cell transplantation*. Ann Hematol, 2007. **86**(8): p. 583-9.
77. de Lima, M., Anagnostopoulos, A., Munsell, M., Shahjahan, M., Ueno, N., Ippoliti, C., Andersson, B.S., Gajewski, J., Couriel, D., Cortes, J., Donato, M., Neumann, J., Champlin, R., and Giralt, S., *Nonablative versus reduced-intensity conditioning regimens in the treatment of acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome: dose is relevant for long-term disease control after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*. Blood, 2004. **104**(3): p. 865-72.
78. Kroger, N., Bornhauser, M., Ehninger, G., Schwerdtfeger, R., Biersack, H., Sayer, H.G., Wandt, H., Schafer-Eckardt, K., Beyer, J., Kiehl, M., and Zander, A.R., *Allogeneic stem cell transplantation after a fludarabine/busulfan-based reduced-intensity conditioning in patients with myelodysplastic syndrome or secondary acute myeloid leukemia*. Ann Hematol, 2003. **82**(6): p. 336-42.
79. Martino, R., Caballero, M.D., Perez-Simon, J.A., Canals, C., Solano, C., Urbano-Ispizua, A., Bargay, J., Leon, A., Sarra, J., Sanz, G.F., Moraleda, J.M., Brunet, S., San Miguel, J., and Sierra, J., *Evidence for a graft-versus-leukemia effect after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning in acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndromes*. Blood, 2002. **100**(6): p. 2243-5.
80. Russell, J.A., Irish, W., Balogh, A., Chaudhry, M.A., Savoie, M.L., Turner, A.R., Larratt, L., Storek, J., Bahlis, N.J., Brown, C.B., Quinlan, D., Geddes, M., Zacarias, N., Daly, A., Duggan, P., and Stewart, D.A., *The addition of 400 cGY total body irradiation to a regimen incorporating once-daily intravenous busulfan, fludarabine, and antithymocyte globulin reduces relapse without affecting nonrelapse mortality in acute myelogenous leukemia*. Biol Blood Marrow Transplant, 2010. **16**(4): p. 509-14.
81. Shimoni, A., Hardan, I., Shem-Tov, N., Yeshurun, M., Yerushalmi, R., Avigdor, A., Ben-Bassat, I., and Nagler, A., *Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in AML and MDS using myeloablative versus reduced-intensity conditioning: the role of dose intensity*. Leukemia, 2006. **20**(2): p. 322-8.
82. Bornhauser, M., Kienast, J., Trenscher, R., Burchert, A., Hegenbart, U., Stadler, M., Baurmann, H., Schafer-Eckart, K., Holler, E., Kroger, N., Schmid, C., Einsele, H., Kiehl, M.G., Hiddemann, W., Schwerdtfeger, R., Buchholz, S., Dreger, P., Neubauer, A., Berdel, W.E., Ehninger, G., Beelen, D.W., Schetelig, J., and Stelljes, M., *Reduced-intensity conditioning versus standard conditioning before allogeneic haemopoietic cell transplantation in patients with acute myeloid leukaemia in first complete remission: a prospective, open-label randomised phase 3 trial*. Lancet Oncol, 2012. **13**(10): p. 1035-44.
83. Shimoni, A., Shem-Tov, N., Volchek, Y., Danylesko, I., Yerushalmi, R., and Nagler, A., *Allo-SCT for AML and MDS with treosulfan compared with BU-based regimens: reduced toxicity vs reduced intensity*. Bone Marrow Transplant, 2012. **47**(10): p. 1274-82.
84. Shimoni, A., Hardan, I., Shem-Tov, N., Rand, A., Yerushalmi, R., and Nagler, A., *Fludarabine and treosulfan: a novel modified myeloablative regimen for*

- allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation with effective antileukemia activity in patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes.* Leuk Lymphoma, 2007. **48**(12): p. 2352-9.
85. Sjoo, F., Hassan, Z., Abedi-Valugerdi, M., Griskevicius, L., Nilsson, C., Remberger, M., Aschan, J., Concha, H., Gaughan, U., and Hassan, M., *Myeloablative and immunosuppressive properties of treosulfan in mice.* Exp Hematol, 2006. **34**(1): p. 115-21.
86. Kroger, N., Shimoni, A., Zabelina, T., Schieder, H., Panse, J., Ayuk, F., Wolschke, C., Renges, H., Dahlke, J., Atanackovic, D., Nagler, A., and Zander, A., *Reduced-toxicity conditioning with treosulfan, fludarabine and ATG as preparative regimen for allogeneic stem cell transplantation (alloSCT) in elderly patients with secondary acute myeloid leukemia (sAML) or myelodysplastic syndrome (MDS).* Bone Marrow Transplant, 2006. **37**(4): p. 339-44.
87. Schmidt-Hieber, M., Blau, I.W., Trenscher, R., Andreesen, R., Stuhler, G., Einsele, H., Kanz, L., Keilholz, U., Marinets, O., Beelen, D.W., Fauser, A.A., Volin, L., Ruutu, T., Uharek, L., Fietz, T., Knauf, W., Hopfenmuller, W., Thiel, E., Freund, M., and Casper, J., *Reduced-toxicity conditioning with fludarabine and treosulfan prior to allogeneic stem cell transplantation in multiple myeloma.* Bone Marrow Transplant, 2007. **39**(7): p. 389-96.
88. Baronciani, D., Rambaldi, A., Iori, A.P., Di Bartolomeo, P., Pilo, F., Pettinau, M., Depau, C., Mico, C., Santarone, S., and Angelucci, E., *Treosulfan/fludarabine as an allogeneic hematopoietic stem cell transplant conditioning regimen for high-risk patients.* Am J Hematol, 2008. **83**(9): p. 717-20.
89. Shimoni, A., Hardan, I., Shem-Tov, N., Rand, A., Herscovici, C., Yerushalmi, R., and Nagler, A., *Comparison between two fludarabine-based reduced-intensity conditioning regimens before allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation: fludarabine/melphalan is associated with higher incidence of acute graft-versus-host disease and non-relapse mortality and lower incidence of relapse than fludarabine/busulfan.* Leukemia, 2007. **21**(10): p. 2109-16.
90. Barrios, M., Jimenez-Velasco, A., Roman-Gomez, J., Madrigal, M.E., Castillejo, J.A., Torres, A., and Heiniger, A., *Chimerism status is a useful predictor of relapse after allogeneic stem cell transplantation for acute leukemia.* Haematologica, 2003. **88**(7): p. 801-10.
91. Juliusson, G., Karlsson, K., Malm, C., Frodin, U., Mollen, A.S., Backstrom, G., and Soderkvist, P., *Adjusted conditioning for allogeneic transplantation in a single center setting: mixed chimerism heralds relapse.* Leuk Lymphoma, 2003. **44**(4): p. 669-79.
92. Lamba, R., Abella, E., Kukuruga, D., Klein, J., Savasan, S., Abidi, M.H., Mohamed, A., and Peres, E., *Mixed hematopoietic chimerism at day 90 following allogeneic myeloablative stem cell transplantation is a predictor of relapse and survival.* Leukemia, 2004. **18**(10): p. 1681-6.
93. Lee, K.H., Lee, J.H., Choi, S.J., Kim, S., Seol, M., Lee, Y.S., Kim, W.K., Kwon, M.R., Park, C.J., Chi, H.S., and Lee, J.S., *Monthly prospective analysis of hematopoietic chimerism after allogeneic hematopoietic cell transplantation.* Bone Marrow Transplant, 2003. **32**(4): p. 423-31.
94. Ho, A.Y., Pagliuca, A., Kenyon, M., Parker, J.E., Mijovic, A., Devereux, S., and Mufti, G.J., *Reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with*

- multilineage dysplasia using fludarabine, busulphan, and alemtuzumab (FBC) conditioning.* Blood, 2004. **104**(6): p. 1616-23.
95. Blume, K.G., Forman, S.J., O'Donnell, M.R., Doroshow, J.H., Krance, R.A., Nademanee, A.P., Snyder, D.S., Schmidt, G.M., Fahey, J.L., Metter, G.E., and et al., *Total body irradiation and high-dose etoposide: a new preparatory regimen for bone marrow transplantation in patients with advanced hematologic malignancies.* Blood, 1987. **69**(4): p. 1015-20.
 96. Chakraverty, R., Peggs, K., Chopra, R., Milligan, D.W., Kottaridis, P.D., Verfuerth, S., Geary, J., Thuraisundaram, D., Branson, K., Chakrabarti, S., Mahendra, P., Craddock, C., Parker, A., Hunter, A., Hale, G., Waldmann, H., Williams, C.D., Yong, K., Linch, D.C., Goldstone, A.H., and Mackinnon, S., *Limiting transplantation-related mortality following unrelated donor stem cell transplantation by using a nonmyeloablative conditioning regimen.* Blood, 2002. **99**(3): p. 1071-8.
 97. Giralt, S., Thall, P.F., Khouri, I., Wang, X., Braunschweig, I., Ippolitti, C., Claxton, D., Donato, M., Bruton, J., Cohen, A., Davis, M., Andersson, B.S., Anderlini, P., Gajewski, J., Kornblau, S., Andreeff, M., Przepiorka, D., Ueno, N.T., Molldrem, J., and Champlin, R., *Melphalan and purine analog-containing preparative regimens: reduced-intensity conditioning for patients with hematologic malignancies undergoing allogeneic progenitor cell transplantation.* Blood, 2001. **97**(3): p. 631-7.
 98. Kroger, N., Schetelig, J., Zabelina, T., Kruger, W., Renges, H., Stute, N., Schrum, J., Kabisch, H., Siegert, W., and Zander, A.R., *A fludarabine-based dose-reduced conditioning regimen followed by allogeneic stem cell transplantation from related or unrelated donors in patients with myelodysplastic syndrome.* Bone Marrow Transplant, 2001. **28**(7): p. 643-7.
 99. Deeg, H.J., Storer, B., Slattery, J.T., Anasetti, C., Doney, K.C., Hansen, J.A., Kiem, H.P., Martin, P.J., Petersdorf, E., Radich, J.P., Sanders, J.E., Shulman, H.M., Warren, E.H., Witherspoon, R.P., Bryant, E.M., Chauncey, T.R., Getzendaner, L., Storb, R., and Appelbaum, F.R., *Conditioning with targeted busulfan and cyclophosphamide for hemopoietic stem cell transplantation from related and unrelated donors in patients with myelodysplastic syndrome.* Blood, 2002. **100**(4): p. 1201-7.
 100. Martino, R., Kerguelen, A., Valcarcel, D., Sureda, A., Fachini, L., Pinana, J.L., Briones, J., Delgado, J., Brunet, S., and Sierra, J., *Reduction of infection-related mortality after allogeneic PBSCT from HLA-identical siblings: longitudinal analysis from 1994 to 2008 at a single institution.* Bone Marrow Transplant, 2011. **46**(5): p. 690-701.
 101. Akasheh, M.S., Freytes, C.O., and Vesole, D.H., *Melphalan-associated pulmonary toxicity following high-dose therapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation.* Bone Marrow Transplant, 2000. **26**(10): p. 1107-9.
 102. Badros, A., Barlogie, B., Siegel, E., Cottler-Fox, M., Zangari, M., Fassas, A., Morris, C., Anaissie, E., Van Rhee, F., and Tricot, G., *Improved outcome of allogeneic transplantation in high-risk multiple myeloma patients after nonmyeloablative conditioning.* J Clin Oncol, 2002. **20**(5): p. 1295-303.
 103. Ritchie, D.S., Seymour, J.F., Roberts, A.W., Szer, J., and Grigg, A.P., *Acute left ventricular failure following melphalan and fludarabine conditioning.* Bone Marrow Transplant, 2001. **28**(1): p. 101-3.
 104. Uberti, J.P., Agovi, M.A., Tarima, S., Haagenson, M., Gandham, S., Anasetti, C., Baker, K.S., Bolwell, B.J., Bornhauser, M., Chan, K.W., Copelan, E., Davies, S.M., Finke, J., Hale, G.A., Kollman, C., McCarthy, P.L.,

- Ratanatharathorn, V., Ringden, O., Weisdorf, D.J., and Rizzo, J.D., *Comparative analysis of BU and CY versus CY and TBI in full intensity unrelated marrow donor transplantation for AML, CML and myelodysplasia*. Bone Marrow Transplant, 2011. **46**(1): p. 34-43.
105. Dix, S.P., Wingard, J.R., Mullins, R.E., Jerkunica, I., Davidson, T.G., Gilmore, C.E., York, R.C., Lin, L.S., Devine, S.M., Geller, R.B., Heffner, L.T., Hillyer, C.D., Holland, H.K., Winton, E.F., and Saral, R., *Association of busulfan area under the curve with veno-occlusive disease following BMT*. Bone Marrow Transplant, 1996. **17**(2): p. 225-30.
106. O'Donnell, P.H., Artz, A.S., Undevia, S.D., Pai, R.K., Del Cerro, P., Horowitz, S., Godley, L.A., Hart, J., Innocenti, F., Larson, R.A., Odenike, O.M., Stock, W., and Van Besien, K., *Phase I study of dose-escalated busulfan with fludarabine and alemtuzumab as conditioning for allogeneic hematopoietic stem cell transplant: reduced clearance at high doses and occurrence of late sinusoidal obstruction syndrome/veno-occlusive disease*. Leuk Lymphoma, 2010. **51**(12): p. 2240-9.
107. Pai, R.K., van Besien, K., Hart, J., Artz, A.S., and O'Donnell, P.H., *Clinicopathologic features of late-onset veno-occlusive disease/sinusoidal obstruction syndrome after high dose intravenous busulfan and hematopoietic cell transplant*. Leuk Lymphoma, 2012.
108. Barba, P., Pinana, J.L., Valcarcel, D., Querol, L., Martino, R., Sureda, A., Briones, J., Delgado, J., Brunet, S., and Sierra, J., *Early and late neurological complications after reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation*. Biol Blood Marrow Transplant, 2009. **15**(11): p. 1439-46.
109. Mielke, S., Potthoff, K., Feuerhake, F., Bley, T.A., Windfuhr, M., Bertz, H., and Finke, J., *Fatal leukoencephalopathy after reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation*. Onkologie, 2007. **30**(1-2): p. 49-52.
110. Saiz, A. and Graus, F., *Neurological complications of hematopoietic cell transplantation*. Semin Neurol, 2004. **24**(4): p. 427-34.
111. Sender, V., Hofmeister-Mielke, N., Sievert, K., Teifke, J.P., Vogel, H., Baumgart, J., Pichlmeier, U., Freund, M., Casper, J., and Wolff, D., *Preclinical analysis of treosulfan in combination with total body irradiation as conditioning regimen prior to bone marrow transplantation in rats*. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2009. **31**(4): p. 595-600.
112. Bearman, S.I., Appelbaum, F.R., Buckner, C.D., Petersen, F.B., Fisher, L.D., Clift, R.A., and Thomas, E.D., *Regimen-related toxicity in patients undergoing bone marrow transplantation*. J Clin Oncol, 1988. **6**(10): p. 1562-8.
113. Kindwall-Keller, T. and Isola, L.M., *The evolution of hematopoietic SCT in myelodysplastic syndrome*. Bone Marrow Transplant, 2009. **43**(8): p. 597-609.
114. Champlin, R.E., Schmitz, N., Horowitz, M.M., Chapuis, B., Chopra, R., Cornelissen, J.J., Gale, R.P., Goldman, J.M., Loberiza, F.R., Jr., Hertenstein, B., Klein, J.P., Montserrat, E., Zhang, M.J., Ringden, O., Tomany, S.C., Rowlings, P.A., Van Hoef, M.E., and Gratwohl, A., *Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation*. IBMTR Histocompatibility and Stem Cell Sources Working Committee and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Blood, 2000. **95**(12): p. 3702-9.
115. Hahn, T., McCarthy, P.L., Jr., Zhang, M.J., Wang, D., Arora, M., Frangoul, H., Gale, R.P., Hale, G.A., Horan, J., Isola, L., Maziarz, R.T., van Rood, J.J., Gupta, V., Halter, J., Reddy, V., Tiberghien, P., Litzow, M., Anasetti, C., Pavletic, S., and Ringden, O., *Risk factors for acute graft-versus-host disease*

- after human leukocyte antigen-identical sibling transplants for adults with leukemia.* J Clin Oncol, 2008. **26**(35): p. 5728-34.
116. Schmitz, N., Eapen, M., Horowitz, M.M., Zhang, M.J., Klein, J.P., Rizzo, J.D., Loberiza, F.R., Gratwohl, A., and Champlin, R.E., *Long-term outcome of patients given transplants of mobilized blood or bone marrow: A report from the International Bone Marrow Transplant Registry and the European Group for Blood and Marrow Transplantation.* Blood, 2006. **108**(13): p. 4288-90.
 117. Storek, J., Gooley, T., Siadak, M., Bensinger, W.I., Maloney, D.G., Chauncey, T.R., Flowers, M., Sullivan, K.M., Witherspoon, R.P., Rowley, S.D., Hansen, J.A., Storb, R., and Appelbaum, F.R., *Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation may be associated with a high risk of chronic graft-versus-host disease.* Blood, 1997. **90**(12): p. 4705-9.
 118. Carlens, S., Ringden, O., Remberger, M., Lönnqvist, B., Hägglund, H., Klaesson, S., Mattsson, J., Svahn, B.M., Winiarski, J., Ljungman, P., and Aschan, J., *Risk factors for chronic graft-versus-host disease after bone marrow transplantation: a retrospective single centre analysis.* Bone Marrow Transplant, 1998. **22**(8): p. 755-61.
 119. Lee, S.J., Vogelsang, G., and Flowers, M.E., *Chronic graft-versus-host disease.* Biol Blood Marrow Transplant, 2003. **9**(4): p. 215-33.
 120. Perez-Simon, J.A., Sanchez-Abarca, I., Diez-Campelo, M., Caballero, D., and San Miguel, J., *Chronic graft-versus-host disease: Pathogenesis and clinical management.* Drugs, 2006. **66**(8): p. 1041-57.
 121. Storb, R., Prentice, R.L., Sullivan, K.M., Shulman, H.M., Deeg, H.J., Doney, K.C., Buckner, C.D., Clift, R.A., Witherspoon, R.P., Appelbaum, F.A., Sanders, J.E., Stewart, P.S., and Thomas, E.D., *Predictive factors in chronic graft-versus-host disease in patients with aplastic anemia treated by marrow transplantation from HLA-identical siblings.* Ann Intern Med, 1983. **98**(4): p. 461-6.
 122. Balon, J., Halaburda, K., Bieniaszewska, M., Reichert, M., Bieniaszewski, L., Piekarska, A., Pawlowski, R., and Hellmann, A., *Early complete donor hematopoietic chimerism in peripheral blood indicates the risk of extensive graft-versus-host disease.* Bone Marrow Transplant, 2005. **35**(11): p. 1083-8.
 123. Hill, R.S., Petersen, F.B., Storb, R., Appelbaum, F.R., Doney, K., Dahlberg, S., Ramberg, R., and Thomas, E.D., *Mixed hematologic chimerism after allogeneic marrow transplantation for severe aplastic anemia is associated with a higher risk of graft rejection and a lessened incidence of acute graft-versus-host disease.* Blood, 1986. **67**(3): p. 811-6.
 124. Hilgendorf, I., Wolff, D., Gromke, T., Trenscher, R., Elmaagacli, A.H., Pichlmeier, U., Junghanss, C., Freund, M., Beelen, D.W., and Casper, J., *Retrospective analysis of treosulfan-based conditioning in comparison with standard conditioning in patients with myelodysplastic syndrome.* Bone Marrow Transplant, 2011. **46**(4): p. 502-9.
 125. Cho, B.S., Lee, S.E., Song, H.H., Lee, J.H., Yahng, S.A., Eom, K.S., Kim, Y.J., Kim, H.J., Lee, S., Min, C.K., Cho, S.G., Kim, D.W., Lee, J.W., Min, W.S., and Park, C.W., *Graft-versus-Tumor Effect According to Type of Graft-versus-Host Disease Defined by National Institutes of Health Consensus Criteria and Associated Outcomes.* Biol Blood Marrow Transplant, 2012.
 126. Ringden, O., Shrestha, S., da Silva, G.T., Zhang, M.J., Dispenzieri, A., Remberger, M., Kamble, R., Freytes, C.O., Gale, R.P., Gibson, J., Gupta, V., Holmberg, L., Lazarus, H., McCarthy, P., Meehan, K., Schouten, H., Milone, G.A., Lonial, S., and Hari, P.N., *Effect of acute and chronic GVHD on relapse*

and survival after reduced-intensity conditioning allogeneic transplantation for myeloma. Bone Marrow Transplant, 2011.

8 Anhang

Pat. Nr.	♀/♂	Alter (bei HSZT)	Diagnose	Remissionsstatus	Intervall seit Diagnose (in Jahren)	Anzahl der Vortherapien	hohes Rezidivrisiko	Rezidiv	keine konvent. Ther./HSZT möglich	vorherige autologe HSZT	vorh. TBI	vorh. RT > 39 Gy
1	♂	51 J.	hm NHL	PD	0,59	2	ja	ja	ja	ja	nein	nein
2	♂	65 J.	sek. AML	PD	0,25	1	ja	nein	ja	nein	nein	nein
3	♂	54 J.	nm NHL	PD	4,56	3	ja	ja	nein	nein	nein	nein
4	♂	60 J.	ALL	2. CR	2,60	2	ja	nein	ja	nein	nein	nein
5	♂	63 J.	CML	1. BS	16,35	4	ja	ja	nein	nein	nein	nein
6	♂	69 J.	AML	2. CR	1,02	2	ja	nein	ja	nein	nein	nein
7	♂	22 J.	AML	2. PR	0,42	2	ja	nein	ja	nein	nein	nein
8	♂	28 J.	CML	1. CP	1,61	1	nein	nein	nein	nein	nein	nein
9	♀	63 J.	sek. AML	1. CR	0,38	1	ja	nein	ja	nein	nein	nein
10	♂	27 J.	sek. AML	PD	1,42	1	ja	nein	ja	nein	nein	nein
11	♂	45 J.	CML	1. CP	3,56	2	nein	nein	nein	nein	nein	nein
12	♀	44 J.	sek. AML	1. CR	0,14	1	ja	nein	ja	nein	nein	ja
13	♂	45 J.	CML	1. CP	0,61	1	nein	nein	nein	nein	nein	nein
14	♀	19 J.	CML	1. CP	0,39	1	nein	nein	nein	nein	nein	nein
15	♀	67 J.	AML	2. CR	0,63	2	ja	nein	ja	nein	nein	nein
16	♀	57 J.	AML	1. PR	0,22	1	ja	nein	ja	nein	nein	nein
17	♂	51 J.	sek. hm NHL	2. PR	1,04	4	ja	ja	ja	ja	nein	nein
18	♀	64 J.	AML	1. CR	0,09	1	nein	nein	ja	nein	nein	nein
19	♀	41 J.	sek. AML	1. CR	0,63	1	nein	nein	ja	nein	nein	nein
20	♂	40 J.	CML	1. CP	0,35	1	nein	nein	ja	nein	nein	nein
21	♀	27 J.	AML	1. CR	0,35	1	nein	nein	ja	nein	nein	nein

Tabelle A1: Zusammenfassung der Patientencharakteristika

Dargestellt sind Geschlecht und Alter des Patienten, Diagnose, Remissionsstatus zum Transplantationszeitpunkt, Intervall zwischen Diagnosestellung und HSZT, Anzahl der Vortherapien, Vorliegen eines hohen Rezidivrisikos oder eines Rezidivs, Anschluss von konventioneller Therapie bzw. HSZT, Vorliegen einer vorherigen autologen HSZT, einer vorherigen TBI oder einer vorherigen Radiotherapie (RT) > 39 Gy. Die schräg und fett gedruckten Patientennummern (Nr. 1–6) in dieser und allen folgenden Tabellen entsprechen den sechs Patienten mit der Treosulfan-Dosierung 5 x 8 g/m².

Abkürzungen: AML: akute myeloische Leukämie; BS: Blastenschub; CML: chronische myeloische Leukämie; CP: chronische Phase; CR: komplette Remission; hm: hochmaligne; HSZT: hämatopoetische Stammzelltransplantation; J.: Jahre; NHL: Non Hodgkin Lymphom; nm: niedrigmaligne; PD: Progress der Erkrankung; PR: partielle Remission; RT: Radiotherapie; TBI: Ganzkörperbestrahlung; vorh.: vorherig(e)

Pat. Nr.	Spender	HLA-Übereinstimmung (Mismatch Genlocus)	Kombination Geschlecht Spender/ Empfänger	Stammzellquelle	CD 34+ Zell-Zahl in 10 ⁶ /kg KG	Treosulfan-Dosis	Immunsuppression
1	MRD	10/10	2	PBSC	4,26	5 x 8 g/m ²	CSA; MTX
2	mis MUD	9/10 (C)	2	PBSC	6,90	5 x 8 g/m ²	ATG; CSA; MTX
3	mis MUD	8/10 (B, C)	1	PBSC	7,06	5 x 8 g/m ²	Alemtuzumab; CSA
4	mis MUD	9/10 (DQB1)	2	PBSC	4,70	5 x 8 g/m ²	ATG; CSA; MTX
5	MUD	10/10	2	PBSC	5,46	5 x 8 g/m ²	ATG; CSA; MTX
6	MUD	10/10	1	PBSC	5,60	5 x 8 g/m ²	ATG; CSA; MTX
7	MUD	10/10	2	PBSC	3,88	5 x 10 g/m ²	ATG; CSA; MTX
8	MUD	10/10	2	KM	1,78	5 x 10 g/m ²	ATG; CSA; MTX
9	MUD	10/10	2	PBSC	3,46	5 x 10 g/m ²	ATG; CSA; MTX
10	MUD	10/10	2	PBSC	2,75	5 x 10 g/m ²	ATG; CSA; MTX
11	MRD	10/10	1	PBSC	2,00	5 x 10 g/m ²	CSA; MTX
12	MRD	10/10	2	PBSC	2,60	5 x 10 g/m ²	CSA; MTX
13	MRD	10/10	2	PBSC	1,39	5 x 10 g/m ²	CSA; MTX
14	MUD	10/10	2	PBSC	14,00	5 x 10 g/m ²	ATG; CSA; MTX
15	MUD	10/10	2	PBSC	6,38	5 x 10 g/m ²	ATG; CSA
16	MUD	10/10	2	PBSC	14,00	5 x 10 g/m ²	ATG; CSA; MTX
17	MUD	10/10	2	PBSC	5,51	5 x 10 g/m ²	Rituximab; CSA; MTX
18	MRD	10/10	2	PBSC	3,36	5 x 10 g/m ²	CSA; MTX
19	mis MUD	9/10 (C)	2	KM	1,92	5 x 10 g/m ²	ATG; CSA; MTX
20	mis MUD	9/10 (A)	2	KM	1,70	5 x 10 g/m ²	ATG; CSA; MTX
21	mis MUD	9/10 (A)	2	PBSC	6,01	5 x 10 g/m ²	ATG; CSA; MTX

Tabelle A2: Übersicht über die Transplantationsdaten

Aufgeführt sind die Übereinstimmung des HLA-Typs zwischen Spender und Empfänger, das Geschlecht des Spenders (**1 = weiblicher Spender für männlichen Patienten, 2 = alle anderen Kombinationen**), die Stammzellquelle, die Anzahl der übertragenen Zellen (in 10⁶ CD-34+ Zellen pro kg Körpergewicht des Empfängers), die Zuordnung zu den beiden Konditionierungsschemata (Treosulfan 5 x 8 g/m² + Fludarabin 5 x 30 mg/m² bzw. Treosulfan 5 x 10 g/m² + Fludarabin 5 x 30 mg/m²) sowie die eingesetzten Immunsuppressiva vor und nach HSZT.

Abkürzungen: ATG: Anti-Thymozyten-Globulin; CSA: Ciclosporin A; KG: Körpergewicht; KM: Knochenmark; mis MUD: nicht-HLA-identer unverwandter Spender; MRD: HLA-identer verwandter Spender; MTX: Methotrexat; MUD: HLA-identischer unverwandter Spender; PBSC: Stammzellen aus dem peripheren Blut

Pat. Nr.	Gesamt-Punktzahl	Arrhythmie	BMI > 35 kg/m ²	Cor	CVE	D. m.	HKE	IDE	Infekt.	Leber	Lunge	Niere	peptisches Ulkus	psychiatrische Erkr.	RE	solider Tumor
1	4	0	0	0	0	0	0	0	1	3	n. e.	0	0	0	0	0
2	6	0	0	0	0	0	3	0	1	0	2	0	0	0	0	0
3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0
4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
5	2	0	0	n. e.	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
6	9	0	0	1	0	0	0	0	0	3	1	1	0	0	0	3
7	5	0	0	1	0	0	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	4	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	4	0	0	0	0	0	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0
11	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
12	6	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	3
13	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
14	3	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	5	0	0	0	0	0	3	0	0	0	2	0	0	0	0	0
16	2	0	1	n. e.	0	0	0	0	0	0	n. e.	0	0	1	0	0
17	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
18	4	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	0
19	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
20	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle A3: Sorror Score: Punktzahl für Störungen einzelner Organsysteme

Dargestellt sind die einzelnen Punkte für Erkrankungen der einzelnen Organsysteme nach dem Sorror Score und die sich daraus für jeden Patienten ergebende Gesamtpunktzahl [9].

Abkürzungen: BMI: Body Mass Index; CVE: cerebrovaskuläre Erkrankung; D. m.: Diabetes mellitus; Erkr.: Erkrankung; HKE: Herzklappenerkrankung; IDE: inflammatorische Darmerkrankung; Infekt.: Infektion; n. e.: nicht evaluiert; RE: Rheumatische Erkrankung;

Pat. Nr.	Zusätzliche relevante Erkrankungen
1	reanimationspflichtiger septischer Schock unter 1. Chemotherapieregime, Arthritis psoriatica, Z. n. progredientem akutem Nierenversagen unklarer Genese nach erster Chemotherapie
2	art. Hypertonie, Z. n. Ulcus ventriculi
3	keine
4	APC-Resistenz (V. a. Faktor V-Leiden-Mutation homozygot), Z. n. Ileozökalresektion bei Zökumgangrän
5	Z. n. TIA unklarer Genese im myeloischen Blastenschub, Gratwohl Score: 6
6	art. Hypertonie, chronische Niereninsuffizienz im Stadium der kompensierten Retention, KHK mit RIVA-Stent & RCA-Stent seit 2003, Herzinsuffizienz NYHA 0-1
7	Z. n. Alkohol-, Nikotin-, Drogenabusus, Critical-Illness-Polyneuropathie
8	keine, Gratwohl Score: 3
9	Z. n. Thyreoidektomie bei primärem Hyperparathyreoidismus
10	Pneumonie, Sepsis, Z. n. globaler kardialer Insuffizienz unter Induktionstherapie, Z. n. katecholaminpflichtiger Sepsis, Z. n. prärenalem akutem Nierenversagen, Z. n. DIC unter Konsolidierungstherapie, Häm siderose, Peromelle UA links
11	keine, Gratwohl Score: 4
12	generalisierte Varizella-Zoster-Infektion und Clostridium-Difficile-Enteritis unter Induktionstherapie
13	arterielle Hypertonie, Gratwohl Score: 2
14	keine, Gratwohl Score: 1
15	art. Hypertonie, Chronisch Venöse Insuffizienz
16	art. Hypertonie, Hypothyreose
17	art. Hypertonie, Akutes Nierenversagen unter 1. Chemotherapieregime (R-CHOP-21), Z. n. bilateralen Hygromen mit Einblutung, pulmonale Aspergillose 02/07, Z. n. Splenektomie bei gedeckter Milzruptur
18	keine
19	keine
20	keine, Gratwohl Score: 3
21	keine

Tabelle A4: Zusätzliche Erkrankungen und Gratwohl Score für an CML erkrankte Patienten nach [39]

Abkürzungen: APC: aktiviertes Protein C; art.: arterielle; DIC: disseminierte intravasale Gerinnung; KHK: Koronare Herzkrankheit; NYHA: Klassifikation von Herzkrankheiten der New York Heart Association; RCA: rechte Koronararterie; RIVA: Ramus interventricularis anterior; TIA: transitorische ischämische Attacke; UA: Unterarm; Z. n.: Zustand nach

Pat. Nr.	Gastrointestinaltrakt					HKL	Resp.-trakt		Haut		Allgemeinsymptome		Infektion ¹⁾ Gastrointestinaltrakt	Infektion ²⁾ Blut	Schmerz Kopf
	Diarrhoe	Erbrechen	Mukositis	Obstipation	Übelkeit		Husten	Exanthem	Pruritus	Fieber	Schwitzen				
1	1	1	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	3	0	
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	
6	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	
7	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
10	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	
13	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
15	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	
16	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	
17	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
18	0	1	0	0	2	0	0	1	2	0	0	0	0	0	
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Tabelle A5: Toxizität nach CTC in den 14 Tagen vor Beginn der Konditionierungstherapie: Gastrointestinaltrakt, Herz-Kreislauf-System, Allgemeinsymptome, Respirationstrakt, Infektionen, Schmerzen

Angegeben sind die einzelnen, bereits in den 14 Tagen vor Beginn der Konditionierungstherapie bestehenden Toxizitäten (in Ausprägungsgrad nach CTCAE v. 3.0), sortiert nach Organsystemen für jeden einzelnen Patienten.

¹⁾bei normaler Neutrophilenzahl oder Neutropenie Grad 1 oder 2

²⁾bei Neutropenie Grad 3 oder 4

Abkürzungen: HKL: Herz-Kreislauf-System; Resp.-trakt: Respirationstrakt

Pat. Nr.	ALAT ↑	Albu- min ↓	AP ↑	ASAT ↑	Bili- rubin ↑	Ca ²⁺ ↓	Chole- sterin ↑	Krea- tinin ↑	GGT ↑	Glu- kose ↑	INR	K ⁺ ↓	Mg ²⁺ ↓	Na ⁺ ↓	Po ₄ ↓	Pro- tein- urie	TAG ↑	Harn- säure ↑	
1	2	2	0	0	1	1	0	0	2	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0
2	1	2	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	1	0	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	2	1	0	0	1	0	0	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
6	2	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0
7	1	2	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	2	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
11	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
12	2	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	0
14	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
15	0	2	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0
16	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
17	1	3	0	0	0	1	0	0	1	2	0	0	1	0	0	1	0	1	0
18	0	2	0	0	2	2	0	1	1	1	0	3	0	1	0	2	0	0	0
19	1	3	0	0	2	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle A6: Toxizität nach CTC in den 14 Tagen vor Beginn der Konditionierungstherapie – Laborparameter

Die Tabelle veranschaulicht die CTC - Schweregrade der Veränderungen der Laborparameter für jeden einzelnen Patienten. Dabei bedeutet ↑ eine Erhöhung des Wertes über den oberen Grenzwert und ↓ kennzeichnet entsprechend einen erniedrigten Wert.

Abkürzungen: ALAT: Alaninaminotransferase; AP: Alkalische Phosphatase; ASAT: Aspartataminotransferase; Ca²⁺: Kalzium; GGT: Gammaglutamyl-Transpeptidase; K⁺: Kalium; Mg²⁺: Magnesium; Na⁺: Natrium; Po₄: Phosphat; TAG: Triacylglyceride

Pat. Nr.	Gastrointestinaltrakt						Herz-Kreislauf-System						Resp.-trakt			Haut			Allgemeinsymptome
	Diarrhoe	Erbrechen	Gastritis (Reflux)	Mukositis	Obstipation	Übelkeit	Bradykardie	Ischämie/Infarkt	Hypertonie	Hypotonie	sv Tachy	Dyspnoe	Hypoxie	Alopie	Exanthem	Pruritus	Fieber		
1	0	1	0	1	1	2	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0		
2	2	1	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0		
3	1	1	0	1	1	1	0	3	0	0	0	0	0	1	0	0	0		
4	1	1	0	1	2	1	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0		
5	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0		
6	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	2	2	0	1	0	0	0		
7	1	3	0	2	0	2	0	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0		
8	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	1	0	0	0		
9	0	1	0	1	0	1	0	3	0	0	1	0	0	1	0	0	0		
10	0	1	0	1	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0		
11	0	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0		
12	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0		
13	1	0	0	1	1	0	0	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0		
14	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0		
15	1	2	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0		
16	0	1	0	2	1	1	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
17	0	0	2	2	1	2	0	2	0	0	0	0	0	3	0	0	0		
18	2	1	0	3	0	2	0	0	2	2	2	0	0	2	2	0	0		
19	0	2	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
20	0	0	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0		
21	2	1	0	3	3	2	0	0	2	0	1	2	0	3	2	0	0		

Tabelle A7: Toxizität nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT - Gastrointestinaltrakt, Herz- Kreislauf-System, Haut, Allgemeinsymptome, Respirationstrakt

Die Tabelle veranschaulicht die in verschiedenen Organsystemen beobachteten Toxizitäten unterschiedlicher Ausprägung für jeden einzelnen Patienten. Die Genese der Symptome bleibt unberücksichtigt.

Abkürzungen: Resp.-trakt: Respirationstrakt; sv Tachy.: supraventrikuläre Tachykardie

Pat. Nr.	Vaskuläres System	Lymph- system	
	Thrombose (katheterassoziiert)	Ödeme Extremi- täten	Ödeme Kopf/Hals
1	3	0	3
2	0	1	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	1	0
8	3	0	0
9	0	1	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	0	0	0
13	3	1	0
14	0	0	0
15	0	1	0
16	0	2	0
17	3	1	1
18	0	1	0
19	0	0	0
20	0	0	0
21	0	1	1

Tabelle A8: Toxizität nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag - 6) bis Tag 28 nach HSZT- Gefäßsystem, lymphatisches System

Die Tabelle zeigt die im Gefäß- und Lymphsystem im beobachteten Zeitraum aufgetreten Adverse Events nach CTC unabhängig von ihrer Genese in der Übersicht für alle 21 Patienten.

Pat. Nr.	Infektion bei ANZ normal oder Neutropenie °1/°2		Infektion bei Neutropenie °3/°4						Schmerz				
	CMV- Reaktivierung	Blut	CMV- Reaktivierung	GIT	katheter- assoziiert	Lunge	Abdomen	Kopf	muskulo- skeletal	Rücken	Thorax		
1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0		
2	0	0	0	0	0	4	0	0	3	0	0		
3	0	0	0	0	3	0	0	2	0	0	0		
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
6	3	0	0	3	3	3	0	0	1	0	0		
7	0	0	0	0	0	3	0	2	2	0	0		
8	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0		
9	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0		
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2		
11	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0		
12	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0		
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
14	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0		
15	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0		
16	0	0	0	0	0	3	0	0	1	0	0		
17	0	0	0	0	3	0	2	0	2	0	0		
18	0	0	0	3	0	0	0	0	3	0	0		
19	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0		
20	0	0	0	3	2	0	0	0	0	0	0		
21	3	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

Tabelle A9: Toxizität nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT - Infektionen, Schmerz

Angaben sind die verschiedenen aufgetretenen Infektionen und deren CTC-Schweregrad sowie die Ausprägung der von den Patienten in der jeweiligen Lokalisation angegebenen Schmerzen.

Abkürzungen: ANZ: absolute Neutrophilenzahl; CMV: Zytomegalievirus; GIT: Gastrointestinaltrakt

Pat. Nr.	Laborparameter																								
	Azi-dose	ALAT	Albu-min	Alka-lose	AP	ASAT	Bili-rubin	Ca ²⁺ ↓	Ca ²⁺ ↑	Chole-sterin	Crea	GG T	Glu ↑	Glu ↓	INR	K ⁺ ↓	K ⁺ ↑	Mg ²⁺ ↓	Mg ²⁺ ↑	Na ⁺ ↓	Na ⁺ ↑	PO ₄ ↓	Pro-tein-urie	TAG ↑	
1	0	0	2	0	0	1	1	1	0	0	0	1	3	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	3	1
2	3	1	3	0	1	1	2	3	0	0	2	3	3	0	1	1	0	1	3	1	1	2	2	1	1
3	n.e.	2	2	n.e.	1	0	2	2	0	0	1	3	3	0	0	1	0	1	1	1	1	0	2	3	1
4	n.e.	1	2	n.e.	0	1	2	2	0	1	0	1	2	0	0	1	0	1	1	0	1	0	2	0	0
5	1	3	2	0	0	1	2	2	0	0	0	0	3	0	3	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0
6	0	2	2	1	0	1	2	3	0	0	1	2	2	0	0	1	0	1	1	1	1	0	3	1	2
7	0	2	2	1	0	2	0	1	2	0	1	1	2	1	1	1	2	1	3	1	1	1	0	1	1
8	n.e.	1	1	n.e.	0	1	1	2	0	0	0	1	2	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0
9	n.e.	2	2	n.e.	0	2	1	2	0	0	0	1	2	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0
10	n.e.	4	2	n.e.	0	3	3	1	0	0	1	2	3	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1
11	0	3	2	0	0	2	2	2	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	2	0	1	
12	0	1	2	0	0	1	1	2	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0
13	n.e.	2	1	n.e.	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	2	0	1
14	n.e.	2	1	n.e.	0	1	2	2	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	2	0	1
15	0	2	2	0	0	2	1	2	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	3	0	0
16	n.e.	2	2	n.e.	0	1	2	4	0	0	1	2	2	0	0	1	0	0	3	0	3	0	3	1	1
17	0	0	3	0	0	0	0	2	0	1	1	1	3	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0
18	0	1	2	1	1	1	3	2	0	0	1	2	2	0	0	1	0	1	1	1	3	0	0	1	1
19	0	1	1	0	0	0	1	2	0	0	1	1	2	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0
20	n.e.	1	1	n.e.	0	1	2	2	0	0	1	1	2	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0
21	3	2	3	3	2	2	3	1	0	0	2	4	2	0	0	1	2	1	0	1	1	1	0	1	2

Tabelle A10: Toxizität nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT – Laborparameter

Die Tabelle veranschaulicht die CTC - Schweregrade der Veränderungen der Laborparameter für jeden einzelnen Patienten. Dabei bedeutet ↑ eine Erhöhung des Wertes über den oberen Grenzwert und ↓ kennzeichnet entsprechend einen erniedrigten Wert.

Abkürzungen: ALAT: Alaninaminotransferase; AP: Alkalische Phosphatase; ASAT: Aspartataminotransferase; Ca²⁺: Kalzium; Crea: Kreatinin; GGT: Gammaglutamyl-Transpeptidase; Glu: Glukose; K⁺: Kalium; Mg²⁺: Magnesium; Na⁺: Natrium; Po₄: Phosphat; TAG: Triacylglyceride

Pat. Nr.	Gastrointestinaltrakt							Respirations-trakt			Haut			Allgemein-symptome
	Diarrhoe Treo	Erbrechen Treo	Gastritis Treo	Mukositis Treo	Obstipation Treo	Übelkeit Treo	Dyspnoe Treo	Alo-pezie Treo	Exan-them Treo	Pruri-tus Treo	Fieber Treo			
1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0				
2	2	1	0	0	0	2	0	0	2	0				
3	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0				
4	0	0	0	1	2	1	0	2	1	0				
5	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0				
6	2	0	0	2	0	0	2	0	1	0				
7	1	0	0	2	0	2	0	0	1	0				
8	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0				
9	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0				
10	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0				
11	0	2	1	1	1	0	0	0	0	0				
12	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0				
13	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0				
14	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0				
15	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1				
16	0	1	0	2	0	1	0	0	0	0				
17	0	0	2	2	0	2	0	0	3	0				
18	2	1	0	3	0	2	0	0	0	0				
19	0	2	0	1	1	1	0	0	0	0				
20	0	0	1	1	1	2	0	2	0	0				
21	0	1	0	3	3	2	1	0	3	2				

Tabelle A11: Toxizität durch die Konditionierungstherapie mit Treosulfan nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT - Gastrointestinaltrakt, Respirationstrakt, Haut, Allgemeinsymptome

Die Tabelle zeigt die in den verschiedenen Organsystemen beobachteten konditionierungsbedingten Toxizitäten unterschiedlicher Ausprägung für jeden einzelnen Patienten.

Pat. Nr.	Infektion bei ANZ normal o. Neutropenie °1/°2	Infektion bei Neutropenie °3/°4					Schmerz	
	CMV-Reaktivierung Treo	Blut Treo	CMV-Reaktivierg. Treo	GIT Treo	Katheter-assoziiert Treo	Lunge Treo	Kopf Treo	Muskulo-skelettal Treo
1	0	0	0	0	3	0	0	0
2	0	0	0	0	0	4	0	0
3	0	0	0	0	3	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0
6	3	0	0	3	3	3	0	0
7	0	0	0	0	0	3	0	0
8	0	0	0	0	2	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	2	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	3	0	3	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	3	0	0
17	0	0	0	0	3	0	0	2
18	0	0	0	3	0	0	0	0
19	0	0	0	3	0	0	0	0
20	0	0	3	0	2	0	0	0
21	3	4	0	0	0	0	0	0

Tabelle A12: Toxizität durch Treosulfan nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT – Infektionen und Schmerz

In der Tabelle dargestellt sind die einzelnen konditionierungsbedingt aufgetretenen Infektionen nach CTC sowie aufgetretene Schmerzen, bei denen ein Zusammenhang mit der Gabe von Treosulfan nicht ausgeschlossen werden kann.

Abkürzungen: ANZ: absolute Neutrophilenzahl; CMV: Zytomegalievirus; GIT: Gastrointestinaltrakt

Pat. Nr.	Laborparameter			
	ALAT ↑ Treo	ASAT ↑ Treo	Bilirubin ↑ Treo	GGT ↑ Treo
1	0	0	0	0
2	1	0	0	0
3	2	0	2	0
4	1	0	2	1
5	3	1	2	0
6	0	0	2	2
7	2	2	0	1
8	1	1	1	1
9	2	2	1	1
10	4	3	3	2
11	3	2	2	1
12	1	0	1	1
13	2	1	1	0
14	2	0	0	0
15	2	2	1	0
16	2	1	2	2
17	0	0	0	0
18	0	1	3	0
19	1	0	1	0
20	0	0	2	0
21	2	2	3	4

Tabelle A13: Toxizität durch Treosulfan nach CTC von Beginn der Konditionierungstherapie (Tag -6) bis Tag 28 nach HSZT – Laborparameter

Die Tabelle zeigt die einzelnen konditionierungsbedingten Erhöhungen der verschiedenen Laborparameter in Grad nach CTC.

Abkürzungen: ALAT: Alaninaminotransferase; ASAT: Aspartataminotransferase; GGT: Gammaglutamyl-Transpeptidase

	Leukozyten- engraftment Tag	Granulozyten- engraftment Tag	Thrombozyten > 20 Gpt/l Tag	Thrombozyten > 50Gpt/l Tag
1	15	17	12	18
2	16	16	-	-
3	16	15	13	38
4	20	26	16	26
5	25	26	18	22
6	22	22	18	30
7	21	21	18	25
8	22	22	20	27
9	16	17	13	13
10	24	25	22	26
11	17	19	nie < 20	13
12	12	16	nie < 20	11
13	16	19	nie < 20	14
14	19	20	11	16
15	20	23	16	18
16	27	28	13	25
17	10	11	11	11
18	17	17	14	21
19	35	37	15	30
20	24	24	17	19
21	19	23	30	33

Tabelle A14: Engraftment in Tagen nach HSZT (Tag 0)

Dargestellt ist für jeden Patienten der erste von drei aufeinander folgenden Tagen an denen die Leukozytenzahlen Werte > 1,0 Gpt/l, die Granulozytenzahlen (Neutrophile) Werte > 0,5 Gpt/l und die Thrombozytenzahlen Werte > 20 bzw. 50 Gpt/l erreichten. Patient 2 verstarb vor Erreichen des Thrombozytenengraftments.

Pat. Nr.	Chim.d28 Blut &/o. KM in %	Chim.d100 KM in %	Chim.d100 Blut in %	Max. Chim.	Tag max. Chim.
1	n.e.	†	†	n.e.	n.e.
2	n.e.	†	†	100	42
3	100	n.e.	n.e.	100	25
4	100	100	100	100	28
5	92	n.e.	> 95	100	72
6	100	†	†	100	22
7	100	96	100	100	28
8	100	100	100	100	28
9	100	100	100	100	33
10	100	n.e.	100	100	28
11	100	100	100	100	26
12	100	100	100	100	28
13	100	n.e.	100	100	16
14	100	n.e.	100	100	27
15	100	> 95	n.e.	100	28
16	100	n.e.	100	100	28
17	> 95	n.e.	100	100	68
18	100	n.e.	100	100	27
19	100	25	n.e.	100	30
20	100	n.e.	n.e.	100	25
21	100	100	100	100	28

Tabelle A15: Chimärismus an Tag 28 (+/-3), Tag 100 (+/-10) und maximaler Chimärismus

Dargestellt ist der jeweilige Spenderchimärismus in Blut und/oder Knochenmark für die Tage 28 (+/-3 Tage) und 100 (+/-10 Tage) sowie der am angegebenen Tag unabhängig vom Untersuchungsmaterial individuell erreichte Maximalwert.

Abkürzungen: Chim.: Chimärismus; KM: Knochenmark; n.e.: nicht evaluiert, d.h. kein Wert dokumentierbar; † - Patient vorher verstorben.

Pat. Nr.	Akute GvHD	Klinischer Grad gesamt	Beginn (Tage nach HSZT)	Haut Stadium	Leber Stadium	Darm Stadium
1	Nein	-	-	-	-	-
2	Ja	3	25	3	3	3
3	Nein	-	-	-	-	-
4	Ja	2	39	1	0	1
5	Ja	3	58	3	2	2
6	Nein	-	-	-	-	-
7	Ja	2	62	1	0	1
8	Ja	1	41	1	0	0
9	Ja	1	26	1	0	0
10	Nein	-	-	-	-	-
11	Ja	3	33	0	1	4
12	Nein	-	-	-	-	-
13	Nein	-	-	-	-	-
14	Nein	-	-	-	-	-
15	Nein	-	-	-	-	-
16	Ja	1	40	1	0	0
17	Ja	2	13	3	0	1
18	Ja	2	26	3	0	1
19	Nein	-	-	-	-	-
20	Nein	-	-	-	-	-
21	Ja	3	21	0	3	0

Tabelle A16: Akute GvHD nach HSZT bis Tag 100

Der Tabelle können Vorhandensein, Ausprägungsgrad, Organbeteiligung und Erkrankungsbeginn der akuten GvHD für jeden einzelnen Patienten entnommen werden.

Pat. Nr.	Chronische GvHD	Grad cGVHD	Beginn (Tage nach HSZT)	Organ
1	Tag 100 nicht erreicht	-	-	-
2	Tag 100 nicht erreicht	-	-	-
3	ja	2	202	Haut, Blutbild
4	ja	2	212	Magen, Blutbild
5	ja	3	294	Haut, Leber, Lunge, Blutbild
6	Tag 100 nicht erreicht	-	-	-
7	nein	-	-	-
8	ja	2	148	Darm
9	nein	-	-	-
10	nein	-	-	-
11	nein	-	-	-
12	ja	1	343	Mund, Augen
13	nein	-	-	-
14	ja	1	188	Haut
15	nein	-	-	-
16	nein	-	-	-
17	ja	2	155	Haut, Mund, GIT
18	ja	1	132	Haut, Darm
19	nein	-	-	-
20	nein	-	-	-
21	nein	-	-	-

Tabelle A17: Chronische GvHD nach HSZT ab Tag 101

Der Tabelle können Vorhandensein, Ausprägungsgrad, Organbeteiligung und Erkrankungsbeginn der chronischen GvHD für jeden einzelnen Patienten entnommen werden. Dabei entspricht der klinische Grad 1 einer milden GvHD, Grad 2 wird beschrieben durch den Begriff „Moderat“ und Grad 3 bedeutet schwere GvHD.

Pat Nr.	Status OS	OS Tage	Status EFS	EFS Tage	Status Rezidiv	Rezidiv Tage	CML molekulares Rezidiv	Status NRM	NRM Tage	Todesursache
1	†	69	ja	23	ja	23	-	lebend	23	Rezidiv
2	†	90	ja	90	nein	90	-	†	90	GvHD + Infektion
3	†	305	ja	305	nein	305	-	†	305	GvHD + Infektion
4	lebend	635	ja	349	ja	349	-	lebend	349	-
5	†	616	ja	616	nein	616	primäre Persistenz	†	616	GvHD + Infektion
6	†	59	ja	59	nein	59	-	†	59	EBV
7	†	214	ja	111	ja	111	-	lebend	111	Rezidiv
8	lebend	503	nein	503	nein	503	nein	lebend	503	-
9	lebend	530	nein	530	nein	530	-	lebend	530	-
10	lebend	626	ja	574	ja	574	-	lebend	574	-
11	†	116	ja	116	nein	116	nein	†	116	EBV
12	lebend	499	ja	125	ja	125	-	lebend	125	-
13	lebend	496	nein	496	nein	496	nein	lebend	496	-
14	lebend	404	nein	404	nein	404	nein	lebend	404	-
15	lebend	283	ja	224	ja	224	-	lebend	224	-
16	lebend	272	nein	272	nein	272	-	lebend	272	-
17	lebend	251	nein	251	nein	251	-	lebend	251	-
18	†	263	ja	226	ja	226	-	lebend	226	Rezidiv
19	†	156	ja	109	ja	109	-	lebend	109	Rezidiv
20	lebend	124	nein	124	nein	124	nein	lebend	124	-
21	lebend	107	nein	107	nein	107	-	lebend	107	-

Tabelle A18: Überlebensdaten

Aufgeführt sind für jeden Patienten mit dem jeweils dazugehörenden Zeitraum in Tagen das Gesamtüberleben (OS), das ereignisfreie Überleben (EFS), der Rezidivstatus und die nicht-Rezidivbedingte Mortalität (NRM). Des Weiteren ist für die im Beobachtungszeitraum verstorbenen Patienten die Todesursache genannt.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. M. Freund und Herrn Prof. Dr. med. J. Casper danke ich herzlich für die Bereitstellung dieses interessanten Themas und die fachliche Unterstützung bei der Erhebung und Bearbeitung der Daten sowie bei der Fertigstellung der Arbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. med. habil. I. Hilgendorf und Herrn PD Dr. med. C. Kahl für ihre fachlichen Anregungen und Verbesserungsvorschläge und ihre mühevollen Betreuung beim Verfassen dieser Arbeit.

Frau A. Förster danke ich herzlich für ihre Hilfe bei meiner Arbeit mit Word und all die Einzüge, Seitenumbrüche und Abschnittswchsel. Vielen Dank auch an Frau E. Boljahn für ihre unkomplizierte Hilfe bei fachlichen Fragen zum Thema Chimärismus-Analyse und an Herrn Dr. rer. nat. J. Baumgart für ein letztes kritisches Korrekturlesen.

Ich danke besonders auch meiner Familie, allen voran meinen Eltern, für ihre bedingungslose Unterstützung und die Ermöglichung meines Studiums und der Fertigstellung dieser Arbeit. Ein herzlicher Dank geht natürlich auch an meine beiden Liebsten für ihre aufbauenden Worte und das Vertrauen in mich- Danke Matthias, Danke Fine!

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Thema „Dosisescalation der toxisitätsreduzierten Konditionierungstherapie mit Treosulfan und Fludarabin vor allogener Stammzelltransplantation“ selbstständig verfasst und keine anderen als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel verwendet habe.

Ich habe bisher weder diese noch eine andere Arbeit als Dissertation an einer in- oder ausländischen Fakultät vorgelegt.

Rostock 2012

Friederike Endler