

**Aus der Medizinischen Klinik III, Klinikum Großhadern
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. W. Hiddemann**

**Europäische Multicenter-Analyse über die
Entstehung von Sekundärmalignomen nach
hämatopoetischer Stammzelltransplantation bei
Langzeitüberlebenden**

**Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

**vorgelegt von
Nadine Stowasser**

aus Apolda

2010

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. H. J. Kolb

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Irmela Jeremias
Prof. Dr. Wolfram Dempke

**Betreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:** Dr. med. Bernhard Heilmeier

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 02.12.2010

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Abkürzungsverzeichnis	V
1. Einleitung	1
1.1. Chancen und Risiken einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation.....	1
1.2. Mögliche Risikofaktoren der Tumorentstehung.....	2
2. Zielsetzung/ Fragestellung	4
3. Material und Methoden	5
3.1. Patientenkollektiv.....	5
3.2. European Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) und Basisdaten der Transplantation.....	6
3.3. Datensammlung.....	8
3.4. Statistik.....	8
3.4.1. Univariate Statistik: Die Kaplan-Meier-Methode.....	8
3.4.2. Univariater Log-Rang Test.....	9
3.4.3. Exakter Fischer-Test.....	10
3.4.4. Multivariate Statistik: Die Cox-Regression.....	10
4. Ergebnisse	11
4.1. Überlebende und Sterberate.....	11
4.2. Zweitmalignome.....	13
4.2.1. Anzahl und Art der Zweitmalignome.....	13
4.2.2. Kumulative Wahrscheinlichkeit an Zweitmalignomen zu erkranken.....	15
4.2.3. Kumulative Anzahl der Fälle für maligne Zweittumore nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation.....	17
4.2.4. Standardisierte Inzidenzraten.....	19
4.2.5. Standardisierte Mortalitätsraten.....	21
4.3. Risikofaktoren.....	23
4.3.1. Univariate Analyse.....	23
4.3.2. Multivariate Analyse.....	29
4.3.2.1. Risikofaktoren zur Entstehung von Zweitmalignomen.....	29
4.3.2.2. Tumorfrees Überleben.....	30

5. Diskussion	33
5.1. Einleitung.....	33
5.2. Material und Methoden.....	34
5.3. Überlebende und Sterberate.....	34
5.4. Zweitmalignome.....	35
5.5. Solide Tumore.....	35
5.6. Risikofaktoren.....	38
5.6.1. Patientenalter.....	38
5.6.2. Chronische GvHD, Spenderalter und –geschlecht.....	39
5.6.3. Immunsuppression.....	40
5.6.4. Zytotoxische Konditionierung (Chemotherapie und Bestrahlung)...	42
5.7. Ausblick.....	45
6. Zusammenfassung	47
7. Literaturverzeichnis	49
8. Anhang	58
8.1. Anschreiben in Deutsch.....	58
8.2. Anschreiben in Englisch.....	59
8.3. Fragebogen.....	60
9. Danksagung	61
10. Lebenslauf	62

Abkürzungsverzeichnis

1. ALL	Akute lymphatische Leukämie
2. AML	Akute myeloische Leukämie
3. CLL	Chronisch lymphatische Leukämie
4. CML	Chronisch myeloische Leukämie
5. DNA	Desoxyribonukleinsäure
6. EBMT	European Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation
7. EBV	Epstein-Barr-Virus
8. EU	Europäische Union
9. F-TBI	Fraktionierte Ganzkörperbestrahlung (Fractionised total body irradiation)
10. GvHD	Graft-versus-Host Erkrankung (Graft versus host disease)
11. Gy	Gray (Einheit der Energiedosis)
12. HLA	Human Leukocyte Antigene
13. HNO	Hals-Nasen-Ohren
14. HR	Hazard Ratio
15. HSZT	Hämatopoetische Stammzelltransplantation
16. IS	Immunsuppression
17. KI	Konfidenzintervall
18. KMT	Knochenmarktransplantation
19. LEWP	Late Effects Working Party
20. MDS	Myelodysplastischen Syndrom
21. MMY	Multiples Myelom
22. NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
23. PNS	Peripheres Nervensystem
24. p.a.	Pro Jahr
25. ProMISe	Project-Manager Internet Server (Zentrales Daten Management System)
26. PTLD	Post-Transplantations-Lymphoproliferative Erkrankung (Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder)
27. SAA	Schwere Aplastische Anämie

28. SD-TBI	Einzeitige Ganzkörperbestrahlung (Single dose total body irradiation)
29. TAI	Thorako-abdominale-Bestrahlung (Thoraco-abdominal irradiation)
30. TLI	Lymphknoten-Bestrahlung (Total lymphoid irradiation)
31. UV	Ultraviolett
32. UV-A	Ultraviolett der Wellenlänge 380-315 nm
33. ZNS	Zentrales Nervensystem

1. Einleitung

1.1. Chancen und Risiken einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation

Die hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSZT) aus Knochenmark, peripherem Blut oder Nabelschnurblut bietet eine Therapieoption für maligne und nichtmaligne hämatologische Systemerkrankungen mit kurativer Zielsetzung (1-3). Die erste erfolgreiche Knochenmarktransplantation gelang vor 50 Jahren in den USA. Mittlerweile ist sie eine international etablierte Behandlungsmöglichkeit. Ihre Erfolgsrate hat sich stetig verbessert, was in Nachbeobachtungszeiten von inzwischen mehr als 30 Jahren bestätigt wird (4).

Jedoch erwecken Fallberichte mit dem Titel: „Dreifach Zweitmalignom von Gingiva, Palatum und Ösophagus nach allogener Knochenmarktransplantation wegen T-Zell Lymphom der Haut“ Aufmerksamkeit (5).

Um der Frage nach zu gehen, ob Malignome nach Stammzelltransplantation häufiger als in der Normalbevölkerung auftreten, wurden transplantierte Patienten dahingehend nach beobachtet.

Retrospektive Studien über eine Zweittumorentstehung nach HSZT bestätigen ein geringes, aber signifikant erhöhtes Risiko für Zweittumore, wobei die Inzidenzen laut amerikanischen und europäischen Studien, im Vergleich zur Normalbevölkerung vier bis siebenfach erhöht sind (6-16).

Generell kann man die Arten der Zweittumore in zwei Gruppen unterteilen. Einerseits entwickeln sich erneut hämatologische oder lymphoproliferative Malignome wie Leukämien und Lymphome (13, 17-19). Andererseits bilden sich solide Zweittumore (6, 7, 12-15, 17, 20-26). Bei letzt genannten konnten bisher vor allem Plattenepithelkarzinome der Haut- und Schleimhaut, Hirntumore, Schilddrüsenkarzinome oder Tumore des Uterus beobachtet werden (15, 27, 28).

Zeitlich betrachtet häufen sich hämatologische bzw. lymphoproliferative Malignome gewöhnlich in den ersten Jahren nach Transplantation. Dagegen sind die soliden Zweittumore erst nach einer Latenz von 3-5 Jahren zu detektieren, ihre Inzidenz nahm bisher stetig im Laufe der Zeit nach Transplantation zu (13, 15, 22, 24, 25).

1.2. Mögliche Risikofaktoren der Tumorentstehung

Für das gehäufte Auftreten von Zweittumoren nach einer Stammzelltransplantation kommen unterschiedliche Risikofaktoren in Frage.

In der Vorphase der Transplantation (während der Konditionierung) sind die Patienten hohen Dosen zytotoxischer und immunsuppressiver Medikamente und/oder einer Ganzkörperbestrahlung ausgesetzt, welche wiederum für ihre Kanzerogenität bekannt sind (7, 9 29-35).

Experimente an Hunden zur Ganzkörperbestrahlung legen nahe, dass die Dosis der Strahlentherapie, Fraktionierungsschemen und Bestrahlungszeit eine wichtige Rolle bei der Entstehung von soliden Tumoren spielen (36).

Neben der Strahlentherapie wirken auch Chemotherapie (9) und die notwendige Immunsuppression begünstigend auf eine Tumorentstehung (7-9, 11, 32, 37).

Weiterhin gelten beispielsweise Graft-versus-Host Reaktion (GvHD), Infektionen, Art der Ersterkrankung, Alter und Geschlecht von Spender und Empfänger als potentielle Risikofaktoren (14, 25, 38).

Die bisherigen Daten belegen, dass die Risikofaktoren vielfältig sind und eine Zweittumorentstehung individuellen und unterschiedlichen Einflüssen unterlegen ist.

Rizzo et al. fanden in einer Studie mit über 28.000 Patienten, aus 234 Transplantationszentren weltweit, nach allogener Knochenmarktransplantation 189 Fälle an soliden Zeittumoren. Risikofaktor für die Entstehung von „nicht Plattenepithelkarzinomen“ ist Bestrahlung in Abhängigkeit vom Patientenalter < 30 Jahre zum Bestrahlungszeitpunkt. Plattenepithelkarzinome hingegen entstehen bevorzugt bei Patienten mit einer chronischen Graft-versus-Host Erkrankung und mit männlichem Geschlecht. Die kumulative Inzidenz aller Zweittumore betrug 2,5%, 5,8% und 8,8% nach 10, 15 und 20 Jahren nach Transplantation. (26).

Die meisten Arbeiten zum Thema Zweittumorentstehungen nach Transplantation zeigen allerdings kurze Beobachtungszeiten (1, 6, 8-11, 26).

Eine amerikanische Multicenter-Studie zu diesem Thema mit über 19.000 Patienten untersuchte die Entstehung von soliden Zweittumoren. Dabei wurden Tumore erfasst, die sich im 1.-25. Jahr nach Transplantation entwickelten. In den Ergebnissen von Curtis et al. bestätigte sich, dass HSTZ Empfänger ein signifikant erhöhtes Risiko im Vergleich zur Normalbevölkerung für Zweittumore haben. Die kumulative Inzidenz

nach 10 Jahren betrug 2,2% und nach 15 Jahren 6,7% (12). Als Hauptursache sehen Curtis und Kollegen neben altersabhängigen Faktoren vor allem eine Hochdosis Ganzkörperbestrahlung (12).

In der größten europäischen Multicenter-Studie mit Patienten aus 45 Transplantationszentren untersuchte Prof. Dr. H.-J. Kolb, der Leiter meiner Arbeitsgruppe, und Kollegen die Inzidenz der Zweittumorentstehung an über 1000 Patienten nach Knochenmarktransplantation. Diese Studie wurde auf Patienten limitiert, die bereits mehr als fünf Jahre nach Transplantation überlebt haben. Die 10 Jahres Inzidenz betrug hier 3,5% und die 15 Jahres Inzidenz 12,8%. Auch die Ergebnisse dieser Studie belegen die erhöhte Gefahr für Zweittumore nach Transplantation. Jedoch wird hier die Immunsuppression als Hauptrisikofaktor für die Zweittumore gesehen (15).

Alle drei Studien bestätigen, dass das Risiko für Zweitmalignome nach HSZT gegenüber der Normalbevölkerung erhöht ist und verschiedene Risikofaktoren verantwortlich gemacht werden.

Nun stellt sich die Frage welcher, möglicherweise sogar therapeutisch beeinflussbare Risikofaktor hauptverantwortlich ist. Die Nachteile der bisherigen retrospektiven Studien sind einerseits der relativ kurze Beobachtungszeitraum (Median bis maximal 10 Jahre) und andererseits der Einschluss der ersten fünf Jahre nach Transplantation. Hierdurch kommt es zu einer Dominanz von Posttransplantationslymphomen und zum gehäuften Auftreten von Rezidiven, mit konsekutiver Rezidivtherapie, welche die Auswertung von Risikofaktoren deutlich erschwert.

Das macht weitere Untersuchungen erforderlich, um die wesentlichen langfristigen Risikofaktoren zu identifizieren. Diese könnten bei zukünftigen Transplantationen verändert oder zugunsten weniger kanzerogener Methoden ausgetauscht werden, um das Auftreten von Zweitmalignomen deutlich zu reduzieren.

Es erscheint deshalb sinnvoll neue Auswertungen an einem Patientenkollektiv mit einer langen Beobachtungszeit (Median > 15 Jahre) durchzuführen.

Für die vorliegende Arbeit ergeben sich deshalb folgende Zielsetzungen.

2. Zielsetzung/ Fragestellungen

1. Wie hoch ist das Risiko für die Entwicklung von malignen Zweittumoren nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation insgesamt und im Vergleich zur Normalbevölkerung insbesondere bei sehr langer Beobachtungszeit?
2. Wirkt sich eine erhöhte Tumorinzidenz nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation auf das Überleben der Patienten aus?
3. Um welche Arten von Tumoren handelt es sich?
4. Welche Risikofaktoren sind entscheidend für die Entstehung von Zweitmalignomen bei Langzeitüberlebenden?

3. Material und Methoden

3.1. Patientenkollektiv

Die Risikoanalyse der vorliegenden Arbeit wurde an 1036 Patienten von 45 verschiedenen europäischen Transplantationszentren, im Rahmen der European Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) durchgeführt. Diese Patienten unterzogen sich in der Zeit von Oktober 1973 bis Dezember 1985 auf Grund verschiedener hämato-onkologischer Erkrankungen (Abbildung 1) einer allogenen (92%) , autologen (6%) oder syngenen (2%) Knochenmarktransplantation. 91 Prozent der allogenen transplantierten Patienten erhielten Knochenmark von HLA identischen Spendern. Das mittlere Alter zum Zeitpunkt der Transplantation lag bei 21 Jahren.

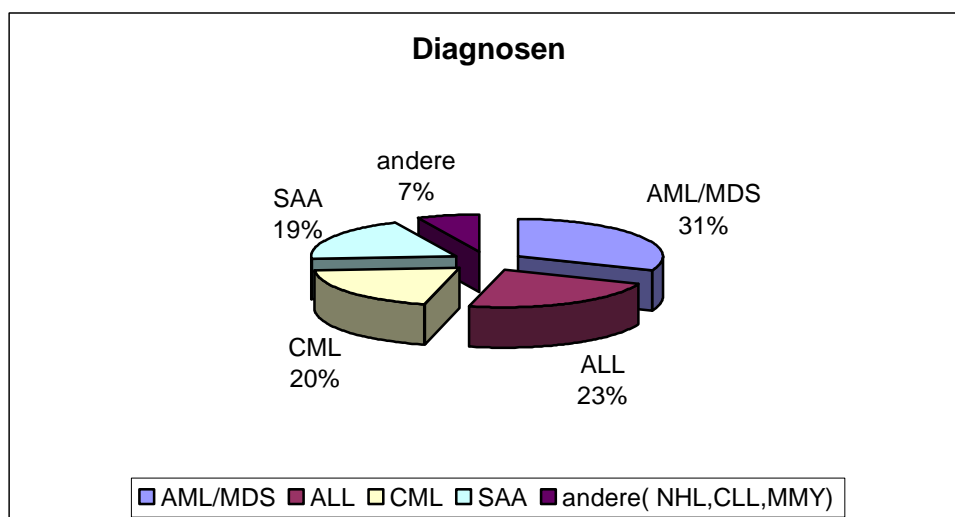


Abbildung 1. Grunderkrankungen der transplantierten Patienten

Hinsichtlich der Zweittumor Inzidenz und potenzieller Risikofaktoren in dieser Patienten-Kohorte wurden bereits 1999 Ergebnisse nach einer medianen Beobachtungszeit von 10,7 Jahren von Prof. Dr. H. J. Kolb im Rahmen der Late Effects Working Party der EBMT publiziert.

Die damals erfragten Daten konnten in der vorliegenden Arbeit von 71% der Patienten aktualisiert werden. Die im Rahmen der ersten Studie gewonnenen Daten wurden weiter verwendet.

Neue Daten wurden bis Februar 2007 erhoben, somit liegt die mediane Beobachtungszeit bei 17 Jahren und 11 Monaten. Aus mehreren Gründen wurde das

Patientenkollektiv auf eine Überlebenszeit größer fünf Jahre nach Transplantation eingeschränkt.

In den ersten 6 Monaten nach Transplantation treten gehäuft EBV assoziierte Lymphome auf, die von den Spenderzellen ausgehen, sogenannte Posttransplantations-Lymphoproliferative Erkrankungen (PTLD). Etwa zwei bis drei Jahre nach Transplantation kommt es zudem gehäuft zu Leukämien und Lymphomen. Sowohl PTLD's als auch sekundäre Leukämien und Lymphome konnten aufgrund der kurzen Latenz auch bisher schon gut untersucht werden und sollten deshalb nicht Gegenstand dieser Langzeitnachbeobachtung sein. Außerdem treten in den ersten fünf Jahren nach Transplantation gehäuft Rezidive auf, die meist wiederum eine erneute Therapie nach sich ziehen und so eine Risikoevaluation deutlich erschweren.

3.2. European Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) und Basisdaten der Transplantation

Transplantationsassoziierte Rahmendaten des Patientenkollektivs wurden von der EBMT zusammengestellt und über Prof. Dr. H. J. Kolb an mich vermittelt.

Die EBMT ist die Dachorganisation der Europäischen Zentren für Blut- und Knochenmarktransplantation mit Hauptsitz an der Universität in Leiden. Zu der 1974 in Maastricht gegründeten Organisation gehören mehr als 2500 individuelle Mitglieder von mehr als 500 Zentren aus 60 Ländern weltweit. Mitglieder der EBMT sind hauptsächlich Zentren, die aktiv Knochenmark- oder hämatopoetische Stammzelltransplantation betreiben oder Organisationen, welche in die Betreuung von Spendern und Empfängern von hämatopoetischen Stammzellen einbezogen sind. Die Organisation nimmt wichtige wissenschaftliche, medizinische und gesundheitspolitische Aufgaben wahr. Über ProMISE¹, ein zentrales Datenmanagement System übermitteln die Mitglieder ihre Transplantationsdaten an die EBMT. So wird hier jede einzelne hämatopoetische Stammzelltransplantation der Mitglieder registriert und statistisch aufbereitet. Parallel koordiniert die EBMT eine Vielzahl europaweiter Studien zu neuen Behandlungsmethoden und neuen Medikamenten. Die Organisation ist fest in der EU verankert und nimmt nicht nur die Akkreditierung neuer Transplantationszentren vor, sondern legt europaweit geltende Behandlungsstandards fest. Insgesamt 11 Arbeitsgruppen beschäftigen sich mit einzelnen Aspekten der Krankheit, ihrer

¹ ProMISE: Project-Manager Internet Server- zentrales Daten Management System

Früherkennung, ihren Entstehungsursachen und der Therapie. Eine dieser 11 Arbeitsgruppen ist die „Late effects working party“ (LEWP), in deren Rahmen die vorliegende Analyse durchgeführt wurde.

Die von der EBMT vermittelten oder von den einzelnen Transplantationszentren erfragten Basisdaten der einzelnen Patienten waren: Alter und Geschlecht von Spender und Empfänger, Diagnose und Allgemeinzustand bei Transplantation (Karnowsky Index), HLA Kompatibilität mit dem Spender in folgenden Kategorien: Monozygote Zwillinge, HLA identisches oder HLA verschiedenes Familienmitglied.

Daten zur Konditionierungstherapie enthielten: welche Form der Chemotherapie eingesetzt wurde und die jeweiligen Bestrahlungsmodalitäten wie Strahlenquelle, Bestrahlungsfeld, Dosis, Dosisrate, Fraktionierungsplan und die Anzahl der Bestrahlungstage.

Des Weiteren wurden den Daten zur GvHD Prophylaxe und -Therapie sowie das Auftreten einer akuten und oder chronischen GvHD übermittelt.

Die verschiedenen Transplantationsvariablen der Patienten und die damit verbundenen möglichen Risikofaktoren sind in Tabelle 4 ersichtlich.

Die Konditionierungstherapie von 752 Patienten (73%) bestand aus Bestrahlung (SD-TBI, F-TBI, TLI/TAI) kombiniert mit Cyclophosphamid oder anderen Medikamenten. Weitere 107 Patienten (10%) wurden nur bestrahlt (FTBI, SD-TBI, TLI/TAI). Patienten ohne Bestrahlung (14%) erhielten typischerweise Cyclophosphamid mit oder ohne weitere Medikamente in Kombination.

Die GvHD Prophylaxe bestand z. B. aus einer Chemotherapie mit Methotrexat und/ oder Ciclosporin A, einer T-Zell Depletion des Knochenmarks oder der Gabe von Antithymozyten-Globulin. Therapeutika der Graft-versus-Host Erkrankung waren Ciclosporin A, Antithymozyten-Globulin, Kortikosteroide, Azathioprin, Thalidomid, Methotrexat, Cyclophosphamid oder eine Kombination aus diesen Medikamenten.

3.3. Datensammlung

Die briefliche Erstanzeige der jeweiligen Transplantationszentren erfolgte im Oktober 2005. Anhand eines Fragebogens in Englisch und in Deutsch sollten die gewünschten Informationen über die noch rekrutierbaren transplantierten Patienten ermittelt werden. Der Fragebogen konnte in Papierformat oder auf elektronischem Datenträger in den freien Feldern vervollständigt werden. Die grau unterlegten Felder waren bereits aus der letzten Auswertung bekannte Daten, welche zusätzlich auf Richtigkeit überprüft werden sollten. Um die Teilnahmebereitschaft weiter zu erhöhen wurden bis zu zwei Erinnerungsschreiben mit ausfüllbarem Fragebogen auf CD Rom an die Zentren verschickt, die zunächst nicht geantwortet hatten. Zusätzlich erfolgten bis zu drei E-Mail Erinnerungsschreiben und mehrere telefonische Kontaktversuche.

Erfragt wurden: letztes Untersuchungsdatum bzw. letzter Kontakt mit klinischem Gesundheitszustand, Ausprägung einer chronischen GvHD, Rückfall in die Grunderkrankung, Status des Patienten, Todesdatum und Todesursache. Gefragt wurde insbesondere nach dem Auftreten eines Zweitumors mit Diagnosedatum, sowie ICD 9 Klassifizierung und Kopie des histopathologischen Befundes des Tumors.

3.4. Statistik

3.4.1. Univariate Statistik: Die Kaplan-Meier-Methode

Mit Hilfe der Kaplan Meier Überlebenszeitanalyse lässt sich die Wahrscheinlichkeit berechnen, dass ein Ereignis bis zu einem bestimmten Zeitpunkt eintritt.

Es wird das Risiko für die Entstehung von Zweitumoren in Abhängigkeit der Zeit nach Transplantation berechnet (39).

Dies ist mit der Kaplan Meier Methode auch dann möglich, wenn nicht alle Patienten identische Beobachtungszeiträume haben.

Denn von einigen Patienten ist nur bekannt, dass das Zielereignis (Tumor) noch nicht eingetreten ist, weil entweder vor Studienende der Kontakt abgebrochen ist oder das Endereignis bei Studienende noch nicht eingetreten ist.

Man spricht in diesen Fällen auch von zensierten Daten. Daten von Patienten, bei denen der Kontakt vor dem Ende des Untersuchungsintervalls abbrach, wurden in der vorliegenden Studie von der Auswertung nicht ausgeschlossen.

Das Risiko für die Tumorentstehung in der Beobachtungsgruppe wurde mit der Allgemeinbevölkerung, adjustiert für Geschlecht und Alter, verglichen. Die Vergleichsdaten zur jährlichen Tumor Inzidenz der Europäischen Bevölkerung wurden dem Dänischen und Saarländischen Krebsregister entnommen (40). Die erwartete Fallzahl von Tumor Inzidenzen (E), kalkuliert mit Alter, Geschlecht und Beobachtungszeit wurde mit der Inzidenz in der Transplantationskohorte (F) verglichen. Für die Annahme, dass sich die Tumor Inzidenzen (E) und (F) nicht unterscheiden lautet die Nullhypothese $H_0: E = F$. Die Signifikanz wurde festgelegt bei einem p-Wert $\leq 0,05$ unter der Annahme der Nullhypothese. Eine standardisierte Ratio (F/E) wurde ebenfalls berechnet.

3.4.2. Univariater Log-Rang Test

Allgemein gilt der Log-Rang Test als Standardverfahren in der Überlebenszeitanalyse für Gruppenvergleiche.

In der vorliegenden Arbeit erfolgte mit Hilfe dieses Testes die univariate Analyse der potenziellen Risikofaktoren einer bösartigen Neubildung mit der Zeit bis zur Tumordiagnose. Risikofaktoren mit $p < 0,200$ wurden in der multivariaten Analyse weiter untersucht (Cox Regression).

Falls die Nullhypothese richtig ist, treten die Tumoren unabhängig von der Zugehörigkeit zu einer bestimmten Variablen (potentieller Risikofaktor) auf. Ist nun eine Gruppe der anderen Gruppe überlegen, so werden Tumoren bei dieser Gruppe weniger bzw. später diagnostiziert. Damit ergibt sich eine Abweichung zwischen tatsächlich beobachteten und bei zufälliger Reihenfolge erwarteten Tumoraufreten. Bei einem Signifikanzniveau von $< 5\%$ kann somit ein unterschiedliches Risiko zwischen den beiden Gruppen statistisch signifikant nachgewiesen werden. Diese Methode wurde in der vorliegenden Arbeit auch für die Analyse des Gesamtüberlebens in Abhängigkeit vom Vorhandensein eines Tumors verwendet.

3.4.3. Exakter Fischer-Test

Der **Exakte Fisher-Test** (exakter Chi-Quadrat-Test) ist ein Signifikanztest, welcher auch bei einer geringen Anzahl von Beobachtungen zuverlässige Resultate liefert. Im Anwendungsgebiet entspricht er dem Chi-Quadrat-Test. Dieser Test wurde genutzt um die Häufigkeit eines Merkmals (Mammakarzinom) in zwei statistisch unabhängigen Gruppen (Bestrahlte/ nicht Bestrahlte) zu vergleichen und zugleich die Frage nach der Signifikanz des Testes zu beantworten.

3.4.4. Multivariate Statistik: Die Cox-Regression

Mit Hilfe des Cox Modells lässt sich wie bei der Kaplan-Meier-Methode der Einfluss von bestimmten Variablen („Risikofaktoren“) auf das Auftreten eines bestimmten Zielereignisses (z. B. Tumor) untersuchen.

Allerdings können bei der Cox-Regression mehrere Einflussvariable (Kovariaten) in das Modell einbezogen werden. Eine gängige Methode bei der Verwendung mehrerer Einflussvariablen ist die Bildung des Likelihood Quotienten.

Ein zentraler Begriff für die Interpretation des Cox Modells ist die Hazard Funktion $h(t)$.

Damit wird die Wahrscheinlichkeit pro Zeiteinheit berechnet, dass eine Person innerhalb eines kleinen Zeitintervalls das Zielereignis (z. B. Tumor) erfährt, wenn sie bis zum Beginn des Zeitintervalls überlebt hat. Die Funktion kann daher als das Risiko pro Zeiteinheit für das Tumorauftreten zum Zeitpunkt t interpretiert werden.

$h(t) = \frac{\text{Anzahl der Personen mit Zielereignis im Intervall, das bei } t \text{ beginnt}}{\text{Anzahl der Personen, die bis } t \text{ tumorfrei waren}} \times \text{Intervallbreite}$

Aus der Stärke der Bedeutung der Einflussvariablen (sog. Regressionskoeffizienten) lassen sich Hazard Ratio`s berechnen. Diese gelten als Maß für die Stärke des Zusammenhangs zwischen Variable und Zielereignis.

4. Ergebnisse

Bei 300 Patienten (29%) konnte keine aktuelle Datenerhebung erfolgen, da diese weder persönlich noch durch die jeweiligen Transplantationszentren kontaktiert werden konnten.

4.1. Überlebende und Sterberate

Die mediane Beobachtungsdauer betrug 17 Jahre und 11 Monate, wobei die maximale Zeit bei 32 Jahren und 3 Monaten lag. Die beobachtete Sterberate des Patientenkollektivs betrug 16,6%. 172 Patienten starben insgesamt nach mehr als fünf Jahren nach Transplantation. 90 dieser Patienten waren bereits 1999 verstorben. Folgende Tabelle 1 zeigt die erfragten Todesursachen.

Tabelle 1. Todesursachen 1999 und 2008.

<u>Todesursachen</u>	<u>1999</u>	<u>2008</u>
Zweitmalignom	10	42
Rückfall	44	54
Chronische GvHD	22	36
AIDS	5	7
Infektion	3	3
Unfall	3	3
Hepatitis	0	1
Niereninsuffizienz	0	1
unbekannt	3	25

Nicht bei allen Verstorbenen mit malignem Zweittumor konnte eindeutig geklärt werden, ob der Zweittumor allein todesursächlich war. Beispielsweise verstarben zwei Patienten mit Basaliomen, welche zusätzlich internistisch erkrankt waren. Tabelle 2 zeigt mit bzw. an welchen Zweitmalignomen die Patienten verstorben sind.

Tabelle 2. Anzahl der mit Tumoren Verstorbenen

<u>Zweittumor</u> (Diagnose > 5 Jahre nach KMT)	<u>Anzahl der verstorbenen</u> <u>Patienten</u>
Tumoren der Mundhöhle und Lippe	6
Ösophaguskarzinom	2
Dünndarmkarzinom	1
Kolonkarzinom	3
Rektumkarzinom	2
Analkarzinom	1
Hepatozelluläres Karzinom & Ösophagus Karzinom	1*
HNO Tumor	1
Larynxkarzinom	1
Sarkom	2#
Plattenepithelkarzinom der Haut	3
Basaliom	2
Mammakarzinom	4
Zervixkarzinom	1
Glioblastom	3
Neurofibrosarkom	1
Schilddrüsenkarzinom	1
solider Tumor (davon 1 Adenokarzinom)	2
Hodgkin-Lymphom, Uteruskarzinom & Hauttumor	1**
Lungentumor	1
Leukämie	2
Lymphom	1
Blasenkarzinom	1

* Patient mit zwei verschiedenen Zweittumoren

** Patient mit drei verschiedenen Zweittumoren

Granulozystisches Sarkom als Rezidiv der AML

4.2. Zweitmalignome

4.2.1. Anzahl und Art der Zweitmalignome

Maligne Zweittumore wurden bei 100 Patienten diagnostiziert. Der erbetene histologische Befund wurde nur von 26% der gemeldeten Tumoren übermittelt. Semimaligne Basaliome der Haut entstanden bei weiteren 14 Patienten, ferner traten Meningeome des zentralen Nervensystems bei zusätzlich fünf Patienten auf. Sechs der Patienten bekamen zwei verschiedene Tumore. Drei verschiedene Tumore wurden bei zwei Patienten diagnostiziert.

Die häufigsten Zweittumore finden sich in der Haut, vertreten durch Basaliome und Plattenepithelkarzinome. An zweiter Stelle zu nennen, ist das Mammakarzinom, gefolgt von malignen Tumoren der Mundhöhle (inklusive Lippen, Zunge und Speicheldrüsen), Schilddrüse, Uterus und Zervix, Kolon und Rektum sowie des ZNS (Tabelle 3).

Tabelle 3. Maligne Zweittumore von Patienten, welche mehr als 5 Jahre nach Transplantation überlebten.

<u>Neubildungen</u>	<u>ICD 9 Code</u>	<u>Patienten, n</u>	
Basaliom	173	14	*
Plattenepithelkarzinom der Haut	173	8	
Malignes Melanom der Haut	172	2	
Mammakarzinom	174	16	=*
Maline Tumore von Lippe, Zunge, Speicheldrüsen und Mundhöhle	140-145	12	
Ösophaguskarzinom	150	2	
Dünndarntumor	152	1	
Kolonkarzinom	153	5	
Rektumkarzinom	154	3	
Hepatozelluläres Karzinom	155	2	*
Zervixkarzinom	180	5	
Uteruskarzinom	182	2	
Adnextumor	183	1	
Seminom	186	1	

Tabelle 3. (Fortsetzung)			
<u>Neubildungen</u>	<u>ICD 9 Code</u>	<u>Patienten, n</u>	
Larynxkarzinom	161	1	
Schilddrüsenkarzinom	193	12	*
Glioblastom	191	3	
Neurofibrosarkom	191	1	
Lymphom	201	4	# ‡
Leukämie	208	1	§
Fibrosarkom	171	3	
Riesenzelltumor	170	1	†
Magenkarzinom	151	1	
HNO Tumor	160	1	
Lungentumor	162	1	*
Prostatakarzinom	185	2	
Urothelkarzinom	188	4	* #
solider Tumor	199	4	
Spenderzell-Leukämie	205	1	
Gesamtzahl der Patienten mit malignen Tumoren		114	
(Inklusive 14 Patienten mit Basaliomen, exklusive 5 Patienten mit Meningeomen.)			

* Ein Patient hatte zwei verschiedene Tumore

Ein Patient hatte drei verschiedene Tumore

=* Ein Patient mit malignem und semimaligen Tumor

‡ Erst Diagnose war 2 x AML, SAA und CML

§ Erstdiagnose war SAA

† Tumor war invasiv aber nicht metastasierend

4.2.2. Kumulative Wahrscheinlichkeit an malignen Zweittumoren zu erkranken

Das errechnete Risiko für einen malignen Zweittumor betrug nach 10 Jahren 4,0% ($\pm 0,5\%$) nach 15 Jahren 8,5% ($\pm 1,0\%$), nach 20 Jahren 14% ($\pm 1,9$) und nach 25 Jahren 21% ($\pm 2,6$) (Abbildung 2a).

Bereits 1999 betrug das errechnete Risiko für einen Zweittumor nach 10 Jahren 3,5% ($\pm 0,6\%$) und nach 15 Jahren 11,5% ($\pm 2,3\%$), wie in Abbildung 2b zu sehen ist. Im Vergleich der Abbildungen 2a und 2b ist zu erkennen, dass selbst nach einer langen Beobachtungszeit (Median 17 Jahre und 11 Monate) keine Abflachung der Kurve hinsichtlich der Wahrscheinlichkeit an einen malignen Zweittumor zu erkranken erreicht wird.

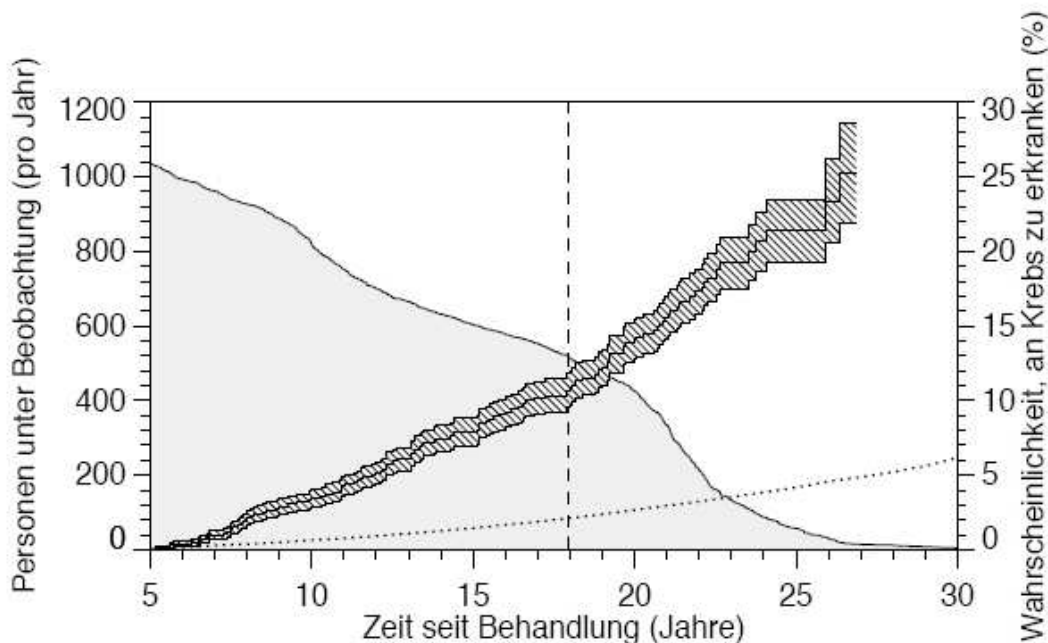


Abbildung 2a, von 2008. Kumulative Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung eines malignen Zweittumors als Funktion der Zeit nach Knochenmarktransplantation (mediane Beobachtungszeit nach Transplantation: 17 Jahre und 11 Monate; Meningeome ausgeschlossen).

- Die grau gedeckte Fläche zeigt die beobachtete Anzahl an Patienten als eine Funktion der Zeit nach Transplantation (Personen unter Beobachtung, pro Jahr).
- Die schraffierte Funktion zeigt die beobachtete kumulative Tumor Inzidenz: d. h. die Wahrscheinlichkeit einen malignen Tumor ab einem bestimmten Zeitpunkt zu entwickeln.

- Die gepunktete Linie zeigt entsprechende Werte der altersspezifischen Inzidenzrate vom saarländischen und dänischen Krebsregister.
- Die vertikal gestrichelte Linie zeigt die mediane Beobachtungszeit nach Transplantation.

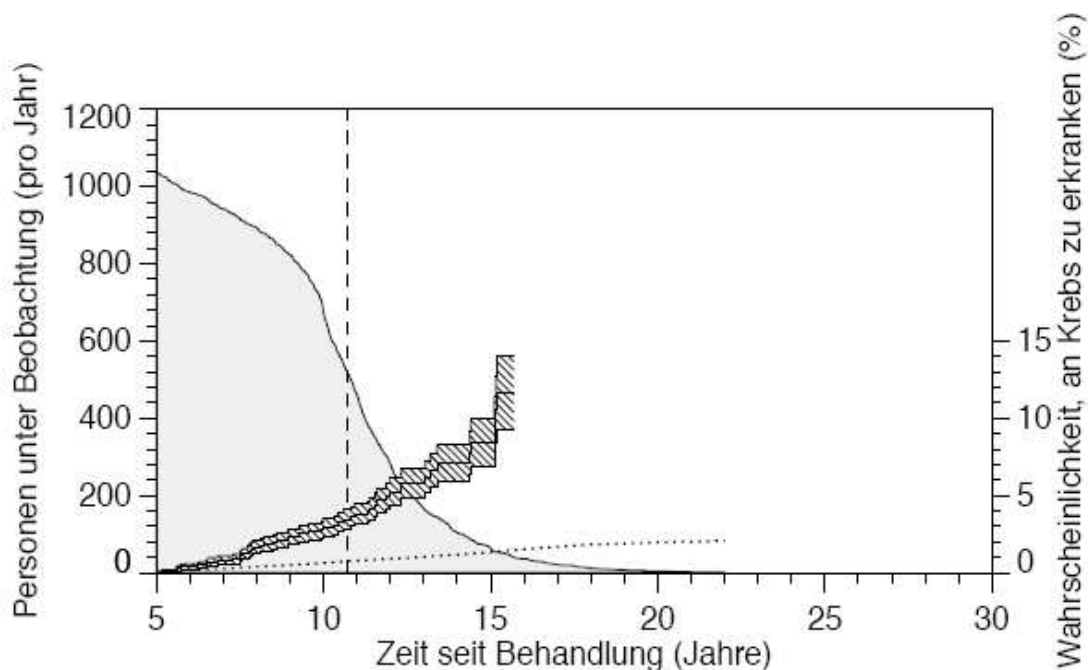


Abbildung 2b, von 1999. Kumulative Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung eines malignen Zweittumors als Funktion der Zeit nach Knochenmarktransplantation (mediane Beobachtungszeit nach Transplantation: 10 Jahre und 8 Monate; Meningeome ausgeschlossen).

- Die grau gedeckte Fläche zeigt die beobachtete Anzahl an Patienten als eine Funktion der Zeit nach Transplantation (Personen unter Beobachtung, pro Jahr).
- Die schraffierte Funktion zeigt die beobachtete kumulative Tumor Inzidenz: d. h. die Wahrscheinlichkeit einen malignen Tumor ab einen bestimmten Zeitpunkt zu entwickeln.
- Die gepunktete Linie zeigt entsprechende Werte der altersspezifischen Inzidenzrate vom saarländischen und dänischen Krebsregister.
- Die vertikal gestrichelte Linie zeigt die mediane Beobachtungszeit nach Transplantation.

4.2.3. Kumulative Anzahl der Fälle für maligne Zweittumore nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation

Die kumulative Inzidenz für maligne Tumore nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation ist nach vorliegender Analyse ca. 6-mal höher als in einer nach Alter und Geschlecht geordneten Vergleichsgruppe (Abbildung 3a, von 2008).

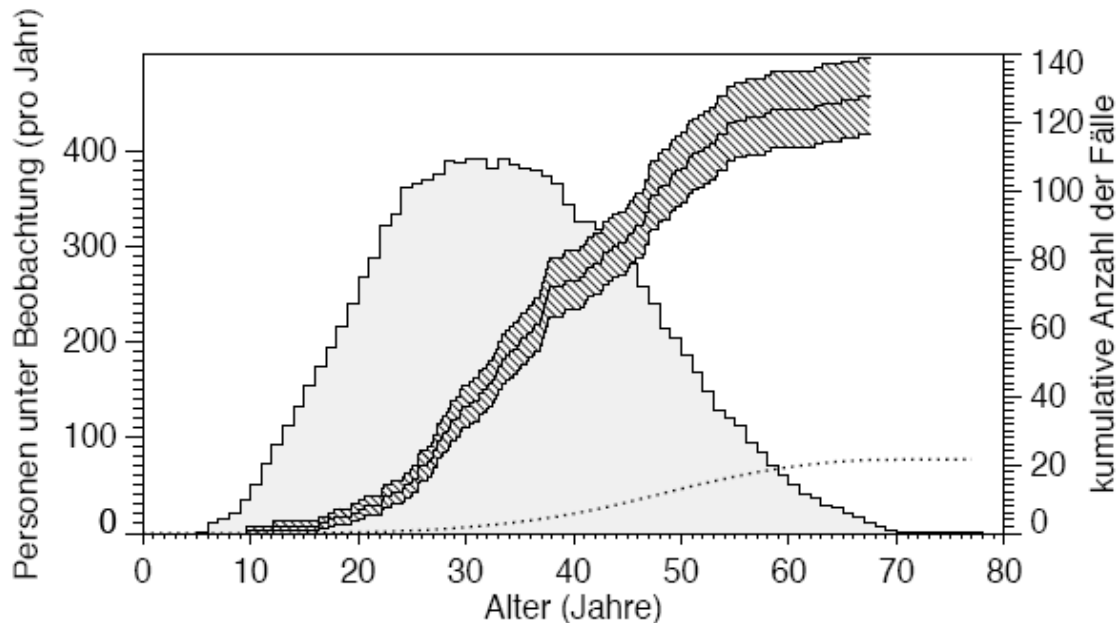


Abbildung 3a, von 2008. Kumulative Anzahl der Fälle für maligne Tumore nach Knochenmarkstransplantation als Funktion des Alters.

- Die graue Fläche zeigt die Altersverteilung während des Beobachtungszeitraumes, ab einem bestimmten Alter (Personen unter Beobachtung, pro Jahr).
- Die schraffierte Funktion repräsentiert die beobachtete kumulative Tumorzinidenz in einem speziellen Alter.
- Die gepunktete Linie zeigt die altersspezifische Inzidenz des saarländischen und dänischen Krebsregisters.

In der Studie von 1999 zeigte sich bereits eine ca. 5-mal höhere kumulative Inzidenz maligner Tumore als in einer nach Alter und Geschlecht geordneten Vergleichsgruppe (siehe Abbildung 3b, von 1999).

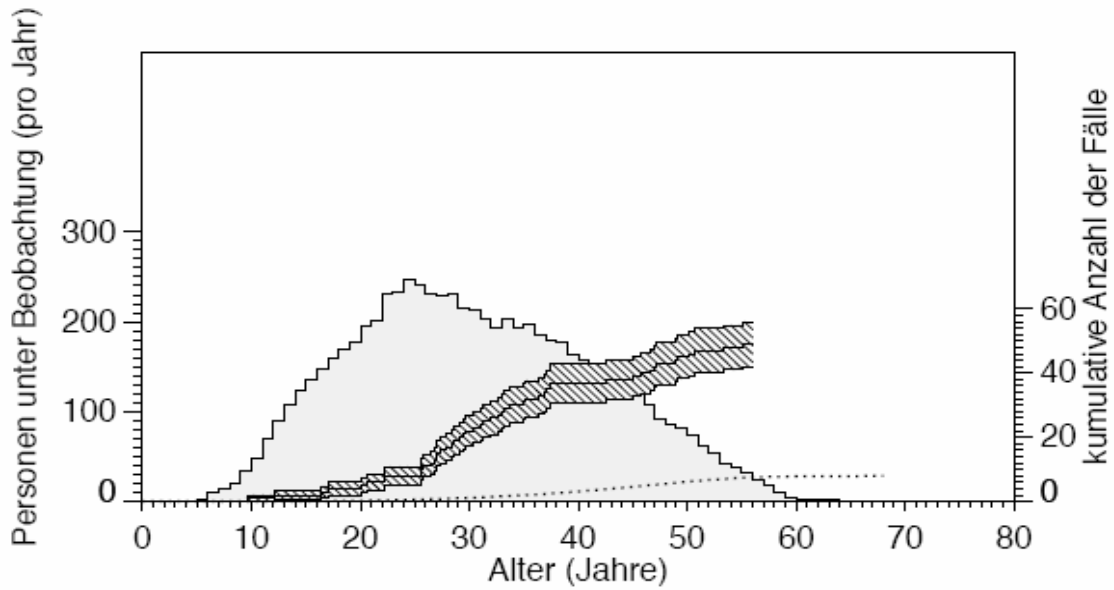


Abbildung 3b, von 1999. Kumulative Anzahl der Fälle für maligne Tumore nach Knochenmarktransplantation als Funktion des Alters.

- Die graue Fläche zeigt die Altersverteilung während des Beobachtungszeitraumes, ab einem bestimmten Alter (Personen unter Beobachtung, pro Jahr).
- Die schraffierte Funktion repräsentiert die beobachtete kumulative Tumor Inzidenz in einem speziellen Alter.
- Die gepunktete Linie zeigt die altersspezifische Inzidenz des saarländischen und dänischen Krebsregisters.

4.2.4. Standardisierte Inzidenzraten (SIR)

Nachfolgende Abbildungen zeigen die Standardisierten Inzidenzraten (SIR) sowie die Standardisierten Mortalitätsraten (SMR) der verschiedenen Tumore nach unterschiedlichen Zeitabständen. Die folgenden Zahlen bestätigen die Ergebnisse der Studie von 1999.

Der Anstieg der SIR betrug mehr als das 50-fache bei Tumoren der Schilddrüse, etwa das 20-fache beim Ösophaguskarzinom und mehr als das 10-fache bei Tumoren der Mundhöhle inklusive Kehlkopf, sowie von Weichteil- und Bindegewebe und ebenso bei Tumoren der Haut (Abbildungen 4).

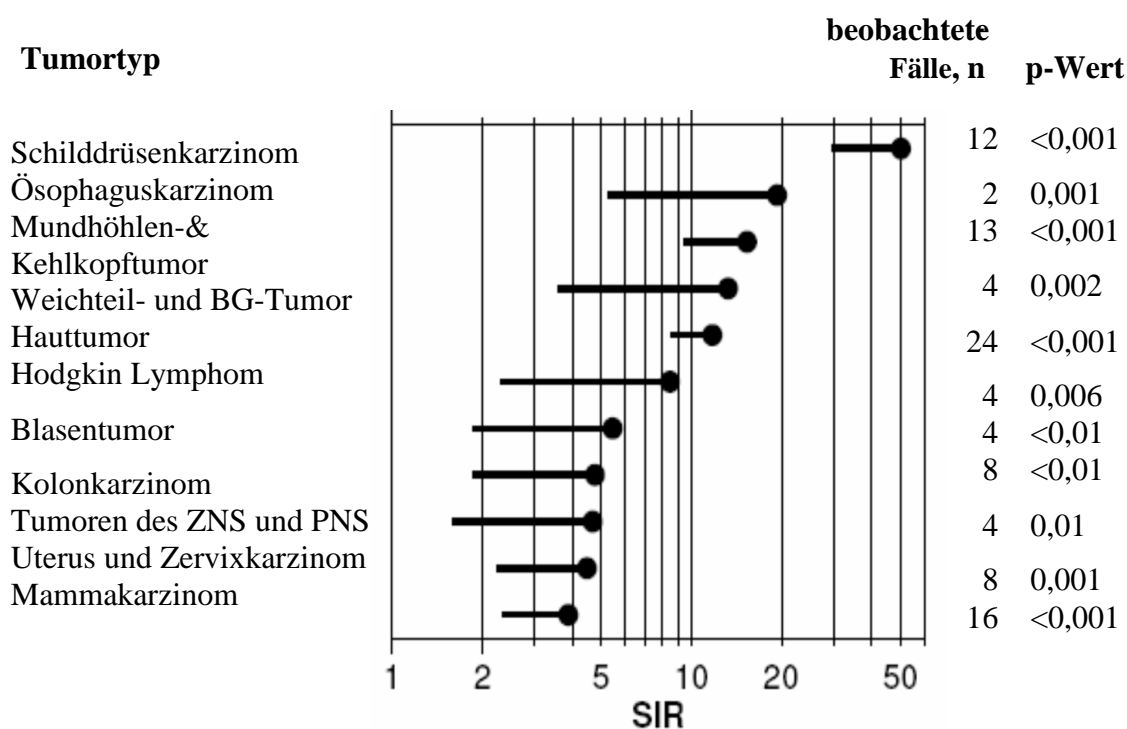


Abbildung 4. Standardisierte Inzidenz Ratio² (SIR) maligner Zweittumore nach Knochenmarkstransplantation, Zeitabstand nach HSZT: 5 Jahre. Die SIRs beobachteter und erwarteter Anzahl der Fälle (Kreise) der verschiedenen Tumorarten. Die erwarteten Fallzahlen sind abgeglichen mit alters- und geschlechtsspezifischen Inzidenzen des Saarländischen und Dänischen Krebsregisters.

² SIR: Standardisierte Inzidenzverhältnisse: Das Verhältnis der Inzidenz-Rate eines bestimmten Kollektivs zu der Inzidenz-Rate der gesamten Bevölkerung unter Berücksichtigung (Standardisierung) von Alter und Geschlecht.

Ein SIR-Wert von 1 bedeutet, dass die Zahl der Erkrankungen der erwarteten Anzahl entspricht. Werte über 1 weisen auf eine höhere, Werte unter 1 auf eine niedrigere Erkrankungsrate hin.

Auffällig und neu ist ein Anstieg der SIR auf das 4-fache beim Mammakarzinom. Um den starken Anstieg zu verdeutlichen zeigt die folgende Abbildung 5 beispielhaft die kumulative Anzahl der Fälle mit Mammakarzinom bei weiblichen EBMT Patienten. Es wurden 16 Fälle beobachtet versus 3,6 erwarteter Fälle. Zu erwähnen ist auch, dass von den 16 beobachteten Fällen 15 der Patientinnen bestrahlt wurden und nur eine Patientin keiner Strahlentherapie ausgesetzt war. Der Vergleich der Häufigkeit des Merkmals Mammakarzinom in den Gruppen der Bestrahlten und nicht Bestrahlten zeigte jedoch keinen signifikanten Unterschied im exakten Fischer-Test.

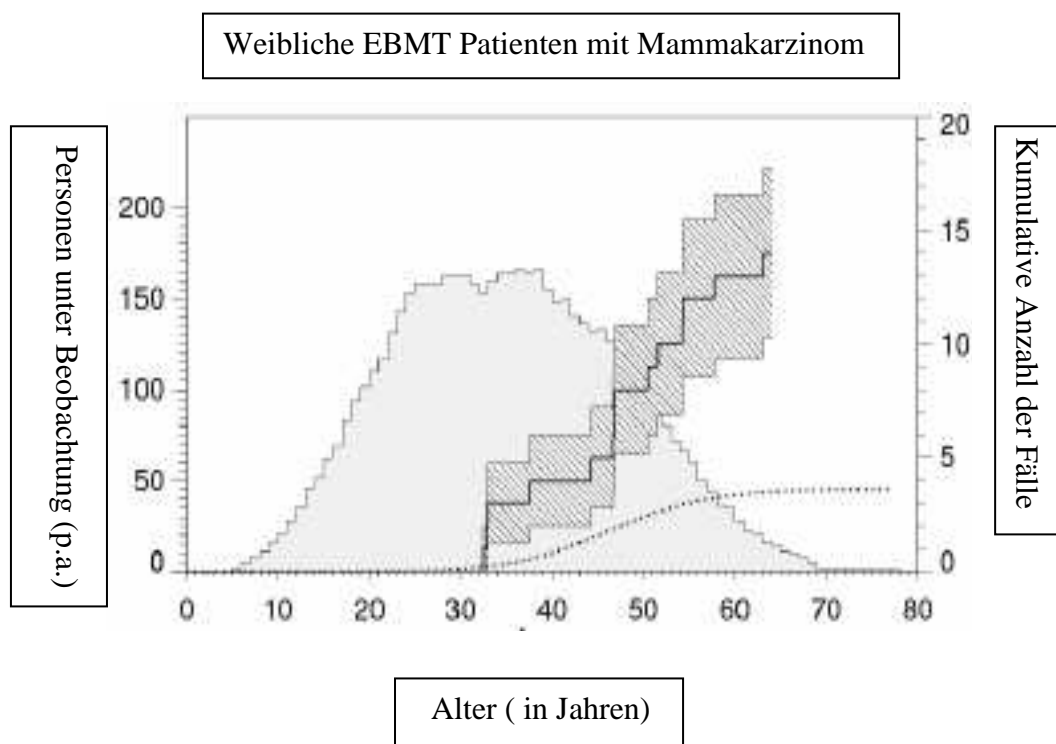


Abbildung 5 Kumulative Anzahl von Mammakarzinomen bei weiblichen EBMT Patienten nach Knochenmarktransplantation als Funktion des Alters.

4.2.5. Standardisierte Mortalitätsraten (SMR)

Die detektierten Zweittumore sind mit unterschiedlichen Mortalitätsraten verbunden. Im Laufe der Zeit ändert sich die Sterblichkeitsrate tumorspezifisch. Beispielhaft sichtbar beim Mundhöhlen- und Kehlkopfkarcinom sowie bei Tumoren des ZNS und PNS. Folgende Abbildungen zeigen die standardisierten Sterblichkeitsraten (SMR) nach unterschiedlichen Zeitabständen (Abbildungen 6a-c).

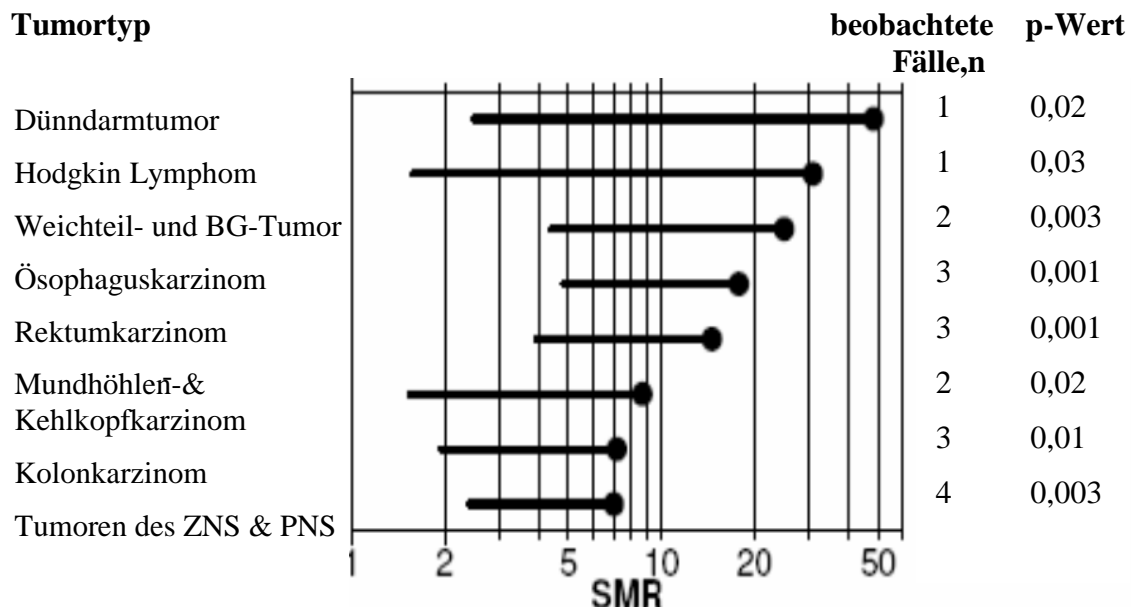


Abbildung 6a Mortalität, kein Zeitabstand:

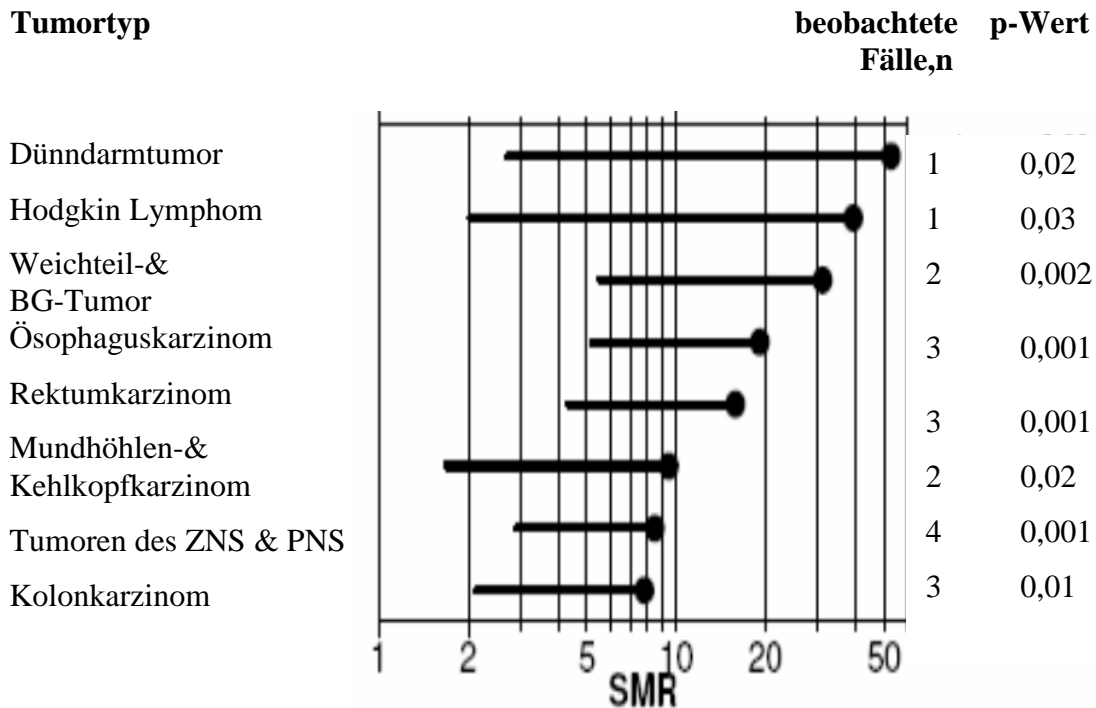


Abbildung 6b Mortalität, Zeitabstand: 5 Jahre

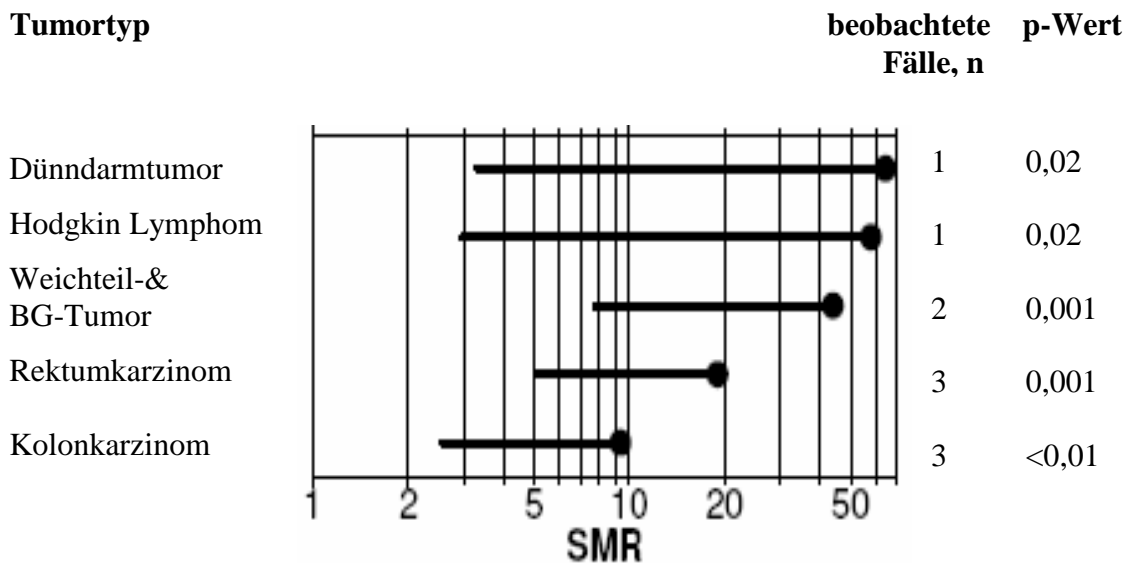


Abbildung 6c Mortalität, Zeitabstand: 10 Jahre

Abbildung 6a-c . Standardisierte Mortality Ratio (SMR) maligner Zweitumore nach Knochenmarkstransplantation. Die SMRs beobachteter und erwarteter Anzahl der Fälle (Kreise) der verschiedenen Tumorarten. Die erwarteten Fallzahlen sind abgeglichen mit alters- und geschlechtsspezifischen Mortalitäten des Saarländischen und Dänischen Krebsregisters.

4.3. Risikofaktoren

4.3.1. Univariate Analyse

In der folgenden Tabelle 3 ist die statistische Relevanz aus der univariaten Analyse in Hinsicht auf die möglichen Risikofaktoren zu sehen.

Statistische Signifikanz erreichte das Patientenalter (ab 30. Lebensjahr) und -geschlecht (Abbildungen 7 und 8), chronische Graft versus Host Erkrankung (Abbildung 9) und die Anzahl der Immunsuppressiva zur GvHD Therapie.

Tabelle 4. Risikofaktoren für maligne Neubildungen nach Knochenmarktransplantation, univariate Analyse.

Variable	Patienten	Patienten mit Tumoren		P *
	N	N	%	
Patientengeschlecht				0,043
Männer	579	53	9,2	
Frauen	457	61	13,3	
Patientengeschlecht ohne Tumore der weiblichen Geschlechtsorgane				>0,05
Männer	579	53	9,2	
Frauen	457	61	13,3	
Patientenalter				0,002
m&w				
bis 10	172	13	7,6	>0,05
11-20J.	327	32	9,8	>0,05
21-30J.	286	31	10,8	>0,05
31-40J.	186	27	14,5	0,019
ab 40J.	65	11	16,9	0,049
W				0,012
bis 10	67	5	7,5	>0,05
11-20J.	138	20	14,5	>0,05
21-30J.	123	12	9,8	>0,05
31-40J.	93	15	16,1	>0,05
ab 40J.	37	9	24,3	0,009

Tabelle 4 (Fortsetzung)				
Variable	Patienten	Patienten mit Tumoren		P *
	N	N	%	
Spendergeschlecht				0,092
W	361	46	12,7	
M	430	42	9,8	
Spenderalter				0,022
m&w				
bis 10	67	11	16,4	>0,05
11-20J.	240	13	5,4	>0,05
21-30J.	199	5	2,5	>0,05
31-40J.	137	15	10,9	0,002
ab 40J.	60	5	8,3	>0,05
HLA des Spenders				0,368
Allogen	956	109	11,4	
Autolog/mt	79	5	6,3	
Diagnose				>0,05
AML/MDS	316	39	12,3	>0,05
ALL	239	5	2,1	>0,05
CML	210	24	11,4	>0,05
SAA	195	18	9,2	>0,05
Andere	76	8	10,5	>0,05
Konditionierung				0,122
Chemo-	148	14	9,5	
Radio & Chemo-	752	94	12,5	
Bestrahlung				0,146
Nein	148	14	9,5	
ja, davon	860	100		
– Einzeldosis	520	68	13,1	>0,05
– fraktioniert	250	24	9,6	>0,05
– abdominal/LK	90	8	8,9	>0,05

Tabelle 4 (Fortsetzung)				
Variable	Patienten	Patienten mit Tumoren		P *
	N	N	%	
Prophylaxe GvHD				>0,05
Methotrexat	270	33	12,2	>0,05
Ciclosporin	392	57	14,5	>0,05
Methotrexat und Ciclosporin	73	7	9,6	>0,05
T-Zell Depletion mit ATG	97	7	7,2	>0,05
akute GvHD				>0,05
Grad 0 oder 1	740	81	10,9	
Grad 2 bis 4	183	27	14,8	
chronische GvHD				0,009
Non	500	60	12,0	
Limited	226	22	9,7	
Extensive	155	28	18,1	0,005
Immunsuppressive Therapie der chronischen GvHD				0,27
Nein	556	62	11,2	
Ja	330	45	13,6	
Methylprednisolon	315	42	13,3	>0,05
Ciclosporin	126	19	15,1	0,108
Azathioprin	75	12	16,0	0,147
Thalidomid	12	4	33,3	0,008
ATG	8	2	25,0	>0,05
Cyclophosphamid	4	0	0,0	>0,05
Methotrexat	8	2	25,0	0,089
Anzahl Immunsuppressiva				0,048
0	556	62	11,2	>0,05
1	182	24	13,2	>0,05
2	44	5	11,4	>0,05
3	86	10	11,6	>0,05
4	13	4	30,8	>0,05
5	5	2	40,0	>0,05

* Log-Rang-Test.

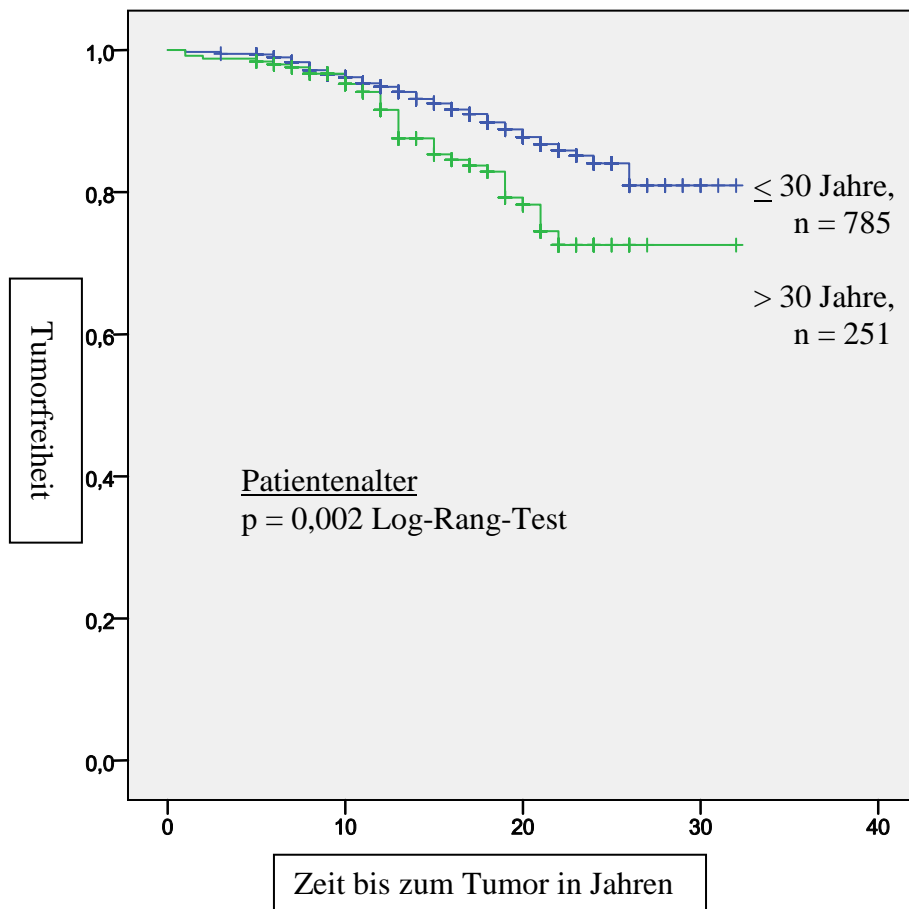


Abbildung 7. Funktion der Zeit nach Transplantation ohne Zweitumor; Patientenalter > 30 Jahre als Risikofaktor für die Entstehung von Zweitmalignomen nach Stammzelltransplantation. Univariate Analyse.

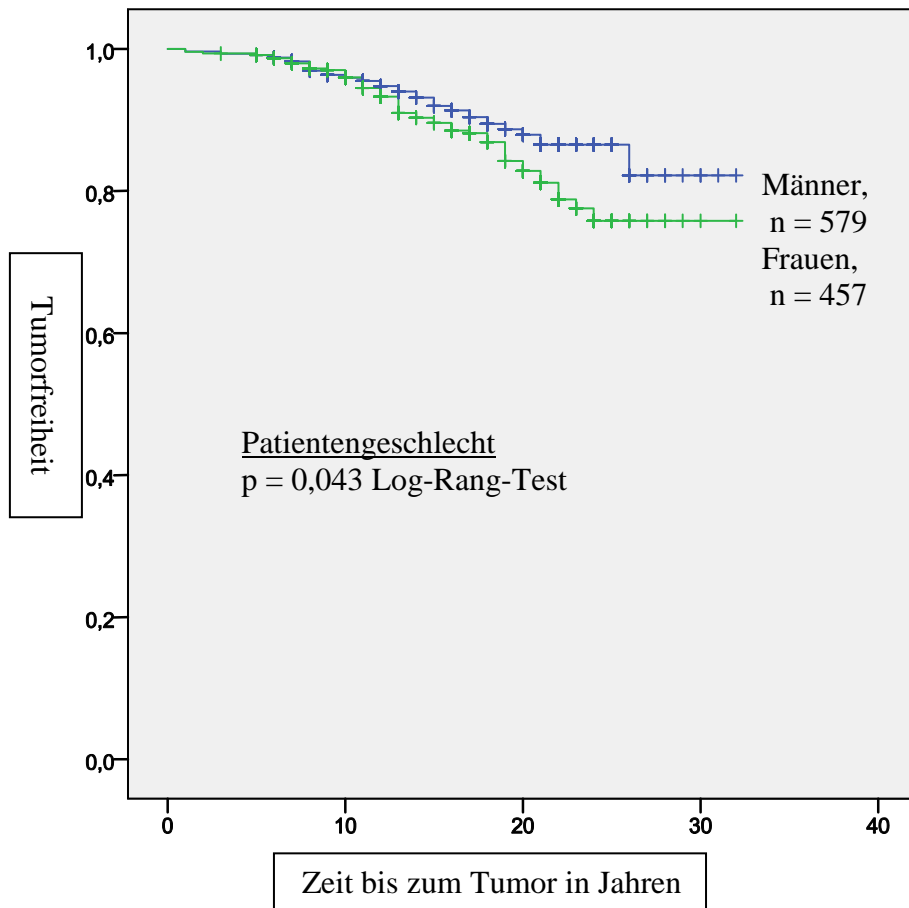


Abbildung 8. Funktion der Zeit nach Transplantation ohne Zweittumor; Patientengeschlecht als Risikofaktor für die Entstehung von Zweitmalignomen nach Stammzelltransplantation. Univariate Analyse.

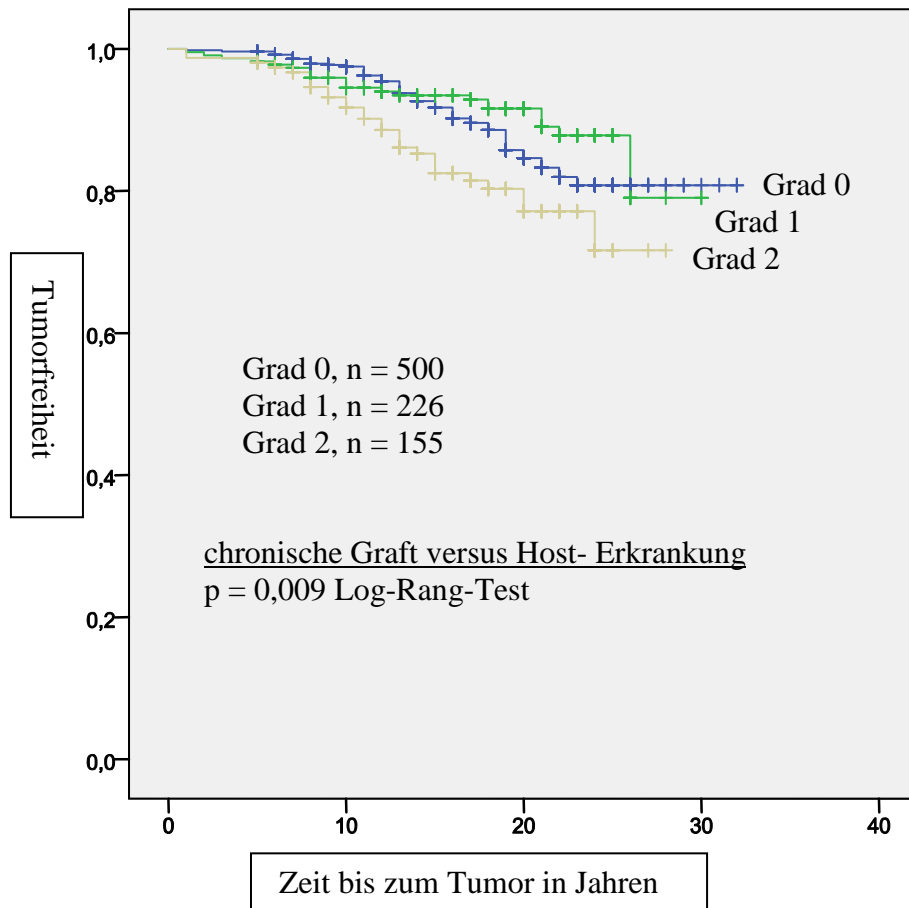


Abbildung 9. Funktion der Zeit nach Transplantation ohne Zweittumor, chronische Graft versus Host-Erkrankung Grad 0-2 als Risikofaktor für die Entstehung von Zweitmalignomen nach Stammzelltransplantation. Univariate Analyse.

4.3.2. Multivariate Analyse

Die Variablen mit statistischer Signifikanz $p < 0,200$ im Log rank Test (Tabelle 4) wurden mit Hilfe der Cox Regression in eine multivariate Analyse eingebracht. Obwohl die Immunsuppressive Therapie in der univariaten Analyse eine statistische Signifikanz von $p > 0,200$ aufweist, wurde dieser Faktor in die Cox Regression einbezogen.

4.3.2.1. Risikofaktoren zur Entstehung von Zweitmalignomen

Die multivariate Analyse ergab als Risikofaktoren für die Entstehung von Zweitmalignomen nach Stammzelltransplantation Patientenalter über 30 Jahre und eine immunsuppressive Behandlung, speziell mit Thalidomid (Tabelle 5). Zielereignis bzw. Endpunkt der Berechnung war das Auftreten eines Tumors.

Tabelle 5. Risikofaktoren zur Entstehung von Zweitmalignomen nach HSZT:

Multivariate Analyse im Cox Modell mit Hazard Ratio.

<u>Variable</u>	<u>Univariate Analyse</u>	<u>Cox Modell</u>	<u>Hazard Ratio</u>
	p	p	(95% Konfidenzintervall)
Patientenalter > 30 Jahre	0,019	0,025	1,022 (1,003-1,004)
Immunsuppressive Behandlung	0,27	0,024	3,223 (1,168-8,899)

4.3.2.2. Tumorfreies Überleben

Die Ergebnisse zeigen weiterhin, dass ein tumorfreies Überleben geringer ist bei Patienten mit einem Transplantationsalter über 30 Jahre, ebenso bei Patienten mit weiblichem Stammzellspender, immunsuppressiver Behandlung und Bestrahlung (Tabelle 6 und Abbildung 10). Zielereignisse bzw. Endpunkte der Berechnung waren Tumor oder Tod, alle Lebenden wurden zensiert.

Tabelle 6. Risikofaktoren, die nach HSZT ein tumorfreies Überleben mindern:
Multivariate Analyse im Cox Modell mit Hazard Ratio.

<u>Variable</u>	<u>Univariate Analyse</u>	<u>Cox Modell</u>	<u>Hazard Ratio</u>
	p	p	(95% Konfidenzintervall)
Alter des Patienten > 30 Jahre	0,019	0,001	1,032 (1,019-1,046)
Weiblicher Stammzellspender	0,092	0,022	1,426 (1,052-1,931)
Immunsuppressive Behandlung	0,27	0,020	1,441 (1,060-1,957)
Bestrahlung	0,146	0,030	1,986 (1,067-3,696)

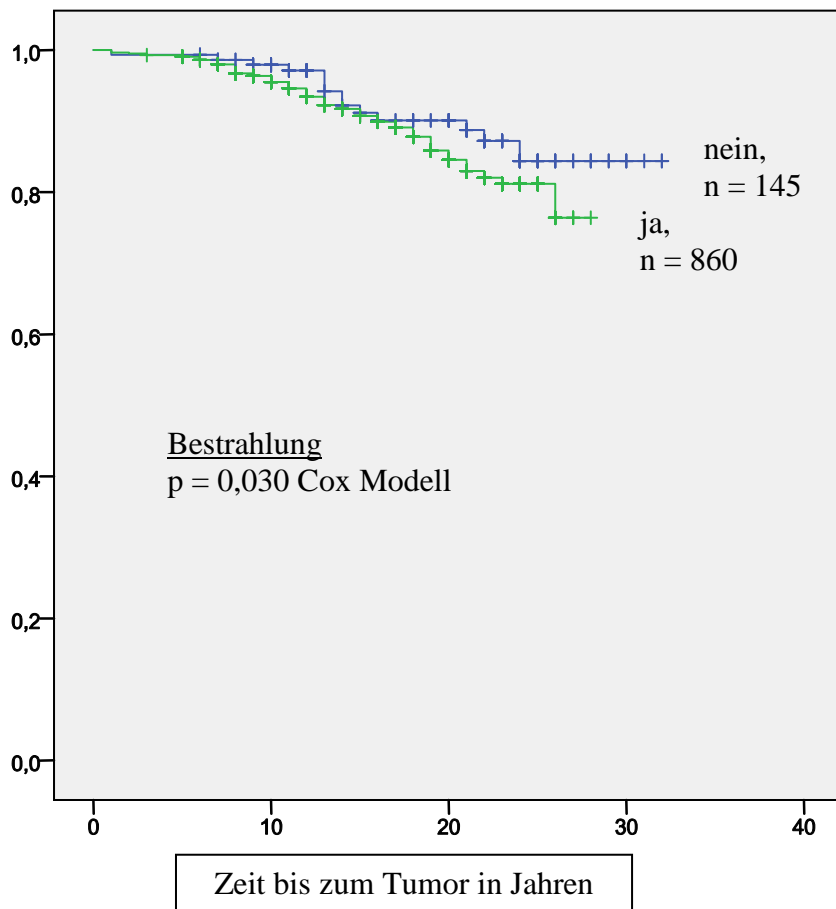


Abbildung 10. Tumorfreie Überlebensfunktion, Bestrahlung als Risikofaktor für die Entstehung von Zweitmalignomen nach Stammzelltransplantation in der multivariaten Analyse.

Abschließend zeigt Tabelle 7 die Anzahl der Patienten mit Zweitmalignomen in Zusammenschau mit den Risikofaktoren Bestrahlung und immunsuppressive Therapie.

Tabelle 7. Anzahl der Patienten mit Zweitmalignomen in Zusammenhang mit den Risikofaktoren.

Neubildungen	ICD 9 Code	Patienten, n	Bestrahlt n	IS Therapie n
Mammakarziom	174	16	15	2
Basaliom	173	14	12	5
Lippen-, Zungen-, Speicheldrüsen- und Mundbodenmalignome	140-145	12	10	8
Schilddrüsenkarzinom	193	12	9	4
Plattenepithelkarzinom der Haut	173	8	6	2
Zervixkarzinom	180	5	5	1
Meningeome	237	5	5	0
Kolonkarzinom	153	5	4	3
Urothelkarzinom	188	4	4	1
solider Tumor	199	4	4	1
Rektumkarzinom	154	3	3	0
Glioblastom	191	3	3	1
Lymphom	201	4	3	3
Ösophaguskarzinom	150	2	2	2
Hepatozelluläres Karzinom	155	2	2	1
Fibrosarkom	171	3	2	0
Melanom	172	2	2	1
Uteruskarzinom	182	2	2	1
Prostatakarzinom	185	2	2	2
Magenkarzinom	151	1	1	1
Dünndarm Stromatumor	152	1	1	1
HNO Tumor	160	1	1	1
Larynxkarzinom	161	1	1	1
Lungentumor	162	1	1	0
Riesenzelltumor	170	1	1	0
Adnextumor	183	1	1	0
Seminom	186	1	1	0
Neurofibrosarkom	191	1	1	0
Spenderzell Leukämie	205	1	1	1
Leukämie	208	1	0	1

5. Diskussion

5.1. Einleitung

Die Knochenmarktransplantation entwickelte sich seit ihren Anfängen in den 70er Jahren zu einer gut etablierten Methode zur Heilung verschiedener hämatologischer Erkrankungen. Viele der Patienten können so überleben und nach einem Zeitraum von etwa ein bis zwei Jahren nach Therapie wieder ein leistungsfähiges Leben in einem guten Allgemeinzustand führen.

Jedoch besteht die Gefahr, nach einer Knochenmark- oder Stammzelltransplantation an einem Zweitmalignom zu erkranken (6, 12, 14, 26, 41-44).

Viele Aspekte zur Entstehung dieser Zweittumore sind bis heute nur unvollständig verstanden und verschiedene Risikofaktoren werden diskutiert (41, 45, 46).

Vorliegende retrospektive Multicenter-Studie mit der bisher längsten Beobachtungszeit (Median 17,9 Jahre) untersuchte das Auftreten von malignen Zweittumoren und damit verbundene Risikofaktoren an über 1000 Patienten nach Knochenmarktransplantation. Um realistische Beobachtungsergebnisse zu erzielen, wurden in diese Studie nur Patienten einbezogen, die mindestens fünf Jahre nach Transplantation überlebten. Somit entfallen akut auftretenden Komplikationen nach Transplantation, Post Transplantations Lymphome oder Frührezidive und deren Therapie.

Die nachfolgende Diskussion bespricht die angewandte Methode, orientiert sich an den eigenen Ergebnissen im Vergleich zur Literatur und beantwortet die Fragestellungen.

5.2. Material und Methoden

Um die Tumor Inzidenz und die damit verbundenen Risikofaktoren zu ermitteln wurde ein Fragebogen entworfen, der den jeweiligen Transplantationszentren zugesandt wurde.

Der verwendete Fragebogen bestand primär aus bereits im Vorwege umfangreich validierten Fragen analog der Studie von 1999 der Late Effect Working Party der EBMT mit Leitung von Prof. Dr. H.J. Kolb (15).

Bei der Auswahl der Punkte wurde darauf geachtet, dass die Fragen speziell über Tumorart, Histologie und Tumordatum zur ersten Studie identisch waren um einen Verlauf der Tumorinzidenzen beobachten zu können.

Zur leichteren Identifizierung der Patienten wurden pro Fragebogen jeweils die individuellen Basisdaten laut EBMT des jeweiligen Patienten aufgenommen. Um die Motivation der teilnehmenden Tumorzentren zu erhöhen, wurden die zu beantwortenden Fragen kategorisiert und einzelnen Nummern zugeordnet.

Da die Anzahl der Patienten der einzelnen Transplantationszentren sehr variierten und zum Teil relativ hoch waren, wird in nachfolgenden Studien darauf zu achten sein, dass eine elektronische Datenerfassung und Versendung erfolgen kann.

5.3. Überlebende und Sterberate

In der aktuellen Follow-up-Untersuchung verstarben 42 Patienten mit einem Zweittumor. Es konnte jedoch nicht eindeutig geklärt werden, ob die Tumorentstehung allein als Todesursache verantwortlich gemacht werden kann. Die meisten Tumore sind als alleinige Todesursache möglich. Neben hämatologischen und lymphoproliferativen Tumoren litten die verstorbenen Patienten hauptsächlich an soliden Tumoren, beispielsweise an Plattenepithelkarzinomen, Kolon- oder Mammakarzinomen. Jedoch verstarben zwei Patienten mit Basaliomen, wobei einer der Patienten an einem Morbus Wegener erkrankt war und der andere zusätzlich an einem Infekt litt. Somit ist unklar, was hier genau zum Tode führte.

Bei der Betrachtung der standardisierten Mortalitätsraten im Verlauf der Zeit nach Transplantation (Abbildungen 6a-c) zeigt sich ein besonders starker Anstieg der Sterblichkeitsrate beim Dünndarmtumor, dem Hodgkin-Lymphom sowie bei Bindegewebs- und Weichteiltumoren. Diese Werte sind auf Grund der niedrigen Fallzahlen und nicht eindeutig geklärter Todesursache kritisch zu betrachten.

5.4. Zweitmalignome

Wie bereits in der ersten retrospektiven Untersuchung desselben Patientenkollektivs mit einer medianen Beobachtungszeit von 10,7 Jahren (15) zeigte sich auch in dieser Auswertung mit deutlich längerer Beobachtungszeit (mediane Beobachtungszeit 17 Jahre, 11 Monate), eine weiter kontinuierlich zunehmende Zahl an Sekundärmalignomen. Steigende Tumorinzidenzen wurden zuvor bereits in Studien mit sehr hohen Patientenzahlen, jedoch mit kurzer Beobachtungszeit gezeigt (12, 26). Es blieb aber unklar, ob nicht zum Beispiel nach 15 Jahren ein Plateau erreicht würde. Die vorliegende Arbeit, die die weltweit längste Beobachtungszeit von Langzeitüberlebenden nach HSZT bietet, konnte jedoch zeigen, dass die Zahl der Sekundärmalignome auch 25 Jahre nach Transplantation weiter stetig zunimmt. Patienten nach HSZT sollten deshalb lebenslang regelmäßig nachuntersucht werden.

Vergleicht man die Ergebnisse der vorliegenden Studie mit den Resultaten anderer Autoren in Bezug auf die verschiedenen Tumorarten, zeigt sich, dass sich das Spektrum von malignen Zweittumoren mit dem Zeitraum nach Transplantation ändert.

Cohen beschreibt beispielsweise das Auftreten von B-Zell Lymphomen innerhalb der ersten drei bis fünf Monate nach Transplantation (51). Von akuten und chronischen Leukämien innerhalb von sechs Monaten bis zu drei Jahren nach Transplantation berichtet Deeg et al. (56). Ebenfalls EBV assoziierte Non-Hodgkin-Lymphome entstehen innerhalb kurzer Latenzzeit nach Transplantation (6).

Solide Zweittumore hingegen entstehen in wachsendem Maße mit zunehmender Zeit nach Transplantation.

5.5. Solide Tumore

Die eigenen Ergebnisse zeigen nach einer medianen Beobachtungszeit von 17 Jahren und 11 Monaten eine kontinuierliche Häufung an soliden Zweittumoren. Das errechnete Risiko für einen malignen Zweittumor nach 10 Jahren beträgt 4,0%, nach 15 Jahren 8,5%, 14% nach 20 Jahren und liegt nach 25 Jahren bei 21%.

Die Inzidenz für maligne Tumore ist ca. 6-mal höher, als in einer nach Alter und Geschlecht geordneten Vergleichsgruppe. Die häufigsten Zweittumore

manifestieren sich in der Haut, vertreten durch Basaliome und Plattenepithelkarzinome. An zweiter Stelle zu nennen, ist das Mammakarzinom, gefolgt von malignen Tumoren der Mundhöhle (inklusive Lippen, Zunge und Speicheldrüsen), Schilddrüse, Uterus und Zervix, Kolon und Rektum sowie des ZNS.

Unser Spektrum an soliden Zweitmalignomen stimmt größtenteils mit folgend genannten Studien überein, obwohl diese im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit eine relativ kurze Beobachtungsdauer haben.

Bhatia et al. berichten nach einer medianen Beobachtungszeit von über drei Jahren von soliden Tumoren der Leber, Speicheldrüse und Schilddrüse (22). Ebenso von Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle und Ösophagus, Mammakarzinom, Zervixkarzinom und einem Astrozytom. Die kumulative Inzidenzrate für solide Tumore liegt bei 1,6% nach 5 Jahren und 6,1% nach 10 Jahren.

Nach einer medianen Beobachtungszeit von fast fünf Jahren (2,5 Monate bis 14 Jahre) nach Transplantation an über 2000 Patienten findet Witherspoon et al 13 solide Tumoren von insgesamt 35 Malignomen (6). Hierbei sind Adenokarzinome, Plattenepithelkarzinome, Basalzellkarzinome, Melanome oder Glioblastome zu nennen.

Rizzo beobachtet in seiner Patientenkohorte von über 28.000 Patienten insgesamt 189 solide Tumore. Es wurden mehr als 6600 Patienten länger als 5 Jahre, knapp 2000 Patienten länger als 10 Jahre und 378 Patienten länger als 15 Jahre nach beobachtet.

Haupttrisikofaktor für Plattenepithelkarzinome sind chronische GvHD und männliches Patientengeschlecht.

„Nicht Plattenepithelkarzinome“ waren vor allem vertreten durch Tumore der Mamma, Schilddrüse, des Knochens sowie Bindegewebs- und Weichteiltumore oder maligne Melanome. Hierfür galt Bestrahlung in Abhängigkeit vom Alter < 30 Jahre als Haupttrisikofaktor (26).

Langzeitstudien sind selten. Zwei Studien mit längerer Beobachtungszeit bestätigen die zunehmende Tumor Inzidenz mit der Zeit nach Transplantation. Zum einen veröffentlichte Kolb et al. in seiner Studie von 1999 53 maligne Zweittumore der 1036 Patienten nach einer medianen Beobachtungszeit von 10,7 Jahren.

Die häufigsten Tumore waren die der Haut, Mundhöhle, Uterus, Schilddrüse und Mamma. In der Analyse zeigt sich ebenfalls eine steigende kumulative Tumor Inzidenz mit 3,5% nach 10 Jahren und 12,8% nach 15 Jahren. Eine der größten amerikanischen Studien zum Thema stammt von Curtis et al.

In der Analyse von Curtis et al. an über 19000 Patienten liegt die kumulative Tumor Inzidenz Rate bei 2,2% nach 10 Jahren und 6,7% nach 15 Jahren (12). An soliden Zweittumoren beschreiben Curtis et al. Hauttumore (malignes Melanon), Tumoren der Mundhöhle, Leber, ZNS, Schilddrüse, Knochen- und Bindegewebstumore.

Hinsichtlich Tumorspektrum und Tumorentstehung bestätigt sich in unserer Studie, dass Langzeitüberlebende nach HSZT weiterhin der Gefahr, der Entwicklung von überwiegend soliden Zweittumoren, mit stetig steigender Inzidenz ausgesetzt sind. Die errechneten standardisierten Inzidenzverhältnisse (SIR) der 1036 Patienten mit Zweittumoren verglichen mit der Bevölkerung unter Berücksichtigung von Alter und Geschlecht zeigt auffällige Zahlen. Beispielsweise 50- bzw. 20-fach erhöhte SIR beim Schilddrüsen- bzw. Ösophaguskarzinom. Weiterhin beträgt bei Tumoren der Haut (Plattenepithelkarzinome und Basaliome), welche bereits in der Normalbevölkerung relativ häufig vorkommen, die Inzidenz Rate das 10-fache. Schon Leisenring et al. untersuchten an über 4800 Patienten nach allogener HSZT das Auftreten von Basalzell- und Plattenepithelkarzinomen. Bei 158 entdeckten Basaliomen und 95 Plattenepithelkarzinomen lag die errechnete 20 Jahres Inzidenz bei 6,5% bzw. 3,4%. Als Hauptrisikofaktoren wurden für beide Hauttumore Alter und Hauttyp verantwortlich gemacht, wobei eine GvHD Entwicklung und Strahlentherapie modifizierend einwirken. Leisenring schlussfolgert, dass ionisierende Strahlung das Risiko einer Basaliom Entstehung erhöht, jedoch nicht das eines Plattenepithelkarzinoms (57).

In der vorliegenden Arbeit wurden Basaliome als Zweittumore in der Analyse absichtlich mit berücksichtigt. Zwar bedeutet die Diagnose Basaliom kein Todesurteil aber in Mitteleuropa ist das Basaliom der häufigste bösartige Hauttumor. Durch sein lokal infiltrierendes und destruierendes Wachstum und einer derartig starken Häufung nach HSZT hat die Basaliomtherapie eine einschneidende Auswirkung auf die Lebensqualität von Langzeitüberlebenden.

Erwähnenswert ist außerdem die standardisierte Inzidenzrate des Mammakarzinoms, welche in der Studie von 1999 mit nur vier Mammakarzinomen noch keine tragende

Rolle spielte. Sie beträgt in der vorliegenden Arbeit das 4-fache im Vergleich zur Normalbevölkerung. Bemerkenswert ist, dass von allen beobachteten Fällen nur eine Patientin nicht bestrahlt wurden war. Strahlentherapie als Ursache der Mammakarzinom Entstehung wurde auch in anderen Arbeiten beschrieben (26, 58). Hinweise hierfür ergeben sich beispielsweise aus der Studie von Rizzo et al. in der auch die Strahlentherapie in Zusammenhang mit der Entstehung von „nicht Plattenepithelkarzinomen“, wie beispielsweise dem Mammakarzinom, gebracht wird. Rizzo et al. beobachten ein nahezu 6-fach erhöhtes Risiko für bestrahlungsassoziierte Mammakarzinome (26). Auch Friedman et al. berichten von einer erhöhten Inzidenz an Zweittumoren der Brust bei Patientinnen, welche einer Strahlentherapie ausgesetzt waren und vor ihrem 18. Lebensjahr transplantiert wurden (59).

5.6. Risikofaktoren

Zwei wichtige Risikofaktoren für das vermehrte Auftreten von Tumoren, welche bereits vielfältig in der Literatur publiziert wurden, sind einerseits eine immunsuppressive Therapie zum Beispiel nach Organtransplantation (37) und andererseits die Auswirkung von radioaktiver Bestrahlung beispielhaft bei Überlebenden nach der Atombombenexplosion in Hiroshima oder Nagasaki (47, 60-62). In der hier vorliegenden Arbeit bestätigen sich in der multivariaten Cox Analyse als Risikofaktoren für Zweitmalignome nach Knochenmarktransplantation Patientenalter > 30 Jahre und immunsuppressive Therapie. Bezieht man in die multivariate Cox Analyse zwei Endpunkte (Tumor oder Tod) verringert sich tumorfreies Überleben durch Immunsuppression, Patientenalter (> 30 Jahre) sowie weibliche Stammzellspender und Strahlentherapie.

5.6.1. Patientenalter

Alter als potenzieller Risikofaktor kann von zwei Seiten betrachtet werden. Verschiedene Autoren (Baker (20) als auch Curtis (12)) berichten von einer erhöhten Tumor Inzidenz vor allen bei Kindern, die unter ihrem 10. Lebensjahr transplantiert wurden. Gründe hierfür sieht Curtis beispielsweise in der Tatsache, dass diese Kinder einer kranialen Bestrahlung ausgesetzt waren (12). Bhatia erklärt die erhöhte Tumor Inzidenz hingegen mit einem Immundefizit in dieser Altersgruppe (22).

Höheres Alter gilt ebenfalls als Risikofaktor. Kolb beschreibt hier vor allen einen Zusammenhang mit dem weiblichen Geschlecht und führt die Menopause und die hohe Frequenz an Tumoren der weiblichen Geschlechtsorgane als Ursache heran (15). Eine erhöhte Inzidenz an Zweittumoren bei Patienten ab 40. Lebensjahr beschreibt auch Gallagher (61, 62). DNA Schäden als Folge von Bestrahlung und Chemotherapie sowie eine verminderte Fähigkeit zur Reparatur von DNA Defekten mit zunehmenden Alter sieht er als möglichen Grund hierfür (63, 65). In der vorliegenden Arbeit zeigt sich ebenfalls ein mittleres Alter (ab 30 Jahren) zum Zeitpunkt der Transplantation als Risikofaktor bei beiden Geschlechtern. Jedoch ist das Alter als Risikofaktor kaum beeinflussbar, so dass das Augenmerk speziell auf die weiteren beeinflussbaren Faktoren wie immunsuppressive- oder Radiotherapie gelenkt werden sollte. Denn auch in der vorliegenden Analyse wurden bis auf einen Patienten mit Zweittumor im Rahmen der Konditionierung alle in Kombination mit Chemotherapie bestrahlt. Außerdem waren einer Immunsuppression zur GvHD Prophylaxe oder Therapie, u. a. mit Thalidomid, alle Patienten in dieser Altersgruppe mit Zweitmalignomen ausgesetzt.

5.6.2. Chronische GvHD, Spenderalter und Geschlecht

Ein signifikanter Risikofaktor in der Studie von 1999 am selben Patientenkollektiv ist eine ausgeprägte chronische GvHD. In der Literatur wird weiterhin ein Zusammenhang zwischen chronischer GvHD und der Entstehung von Plattenepithelkarzinomen der Haut und Mundhöhle beschrieben (5, 8, 9, 12, 15, 22, 26, 38, 44).

Rizzo et al. unterscheiden in ihrer Arbeit zwischen „Nicht-Plattenepithelkarzinomen“ und Plattenepithelkarzinomen. Für letzt genannte sehen Rizzo et al. männliches Patientengeschlecht und chronische GvHD als Hauptrisikofaktoren (26).

In der univariaten Analyse der vorliegenden Studie war die chronische GvHD ebenfalls ein signifikanter Risikofaktor für maligne Zweittumore, unabhängig der Einteilung ob Plattenepithelkarzinom oder „Nicht-Plattenepithelkarzinom“.

Festgestellt wurde ferner, dass Knochenmarksempfänger von älteren und weiblichen Spendern ein erhöhtes Risiko haben, an einem malignen Zweittumor zu erkranken (15, 64). Weibliches Spendergeschlecht als Risikofaktor für ein kürzeres tumorfreies Überleben war auch ein Ergebnis in unserer Auswertung.

Kolb erklärt dies im Zusammenhang; das GvHD Risiko steigt mit dem Alter und ist höher bei Empfängern von weiblichen Spendern. Ursachen vermutet er in der Immunisierung erwachsener Frauen gegen HLA Antigene während einer Schwangerschaft. Somit ist deren Knochenmark sensibilisiert und zeigt mehr GvHD gegen HLA-Antigene des Empfängers, die dem Kindsvater ähnlich sind (15).

Auch Gallagher beschreibt weibliches Spendergeschlecht als Risikofaktor (64), speziell wenn der Empfänger männlichen Geschlechts ist (63). In der Auswertung anderer Studien besteht eine Beziehung zwischen dem männlichen Geschlecht und der Entstehung von Karzinomen der Mundhöhle oder der Schilddrüse (7, 13, 22, 26). Ursachen können in der unterschiedlichen Lebensweise zwischen den Geschlechtern bezüglich Nikotin- und Alkoholkonsum in Zusammenschau mit transplantationsassoziierten Risikofaktoren liegen (12). Die univariate Analyse der eigenen Studie zeigt weibliches Patientengeschlecht als signifikanten Risikofaktor. Grund ist das gehäufte Auftreten von Tumoren der weiblichen Geschlechtsorgane wie Mammakarzinome, Uterus- oder Zervixtumore. Erfolgt die univariate Analyse ohne Tumore der weiblichen Geschlechtsorgane ist das Patientengeschlecht als Risikofaktor nicht mehr signifikant. Auch in der multivariaten Analyse bestätigt sich dieser Risikofaktor nicht.

5.6.3.Immunosuppression

Zur Prophylaxe oder Therapie einer Graft-versus-Host Erkrankung erhalten die Patienten nach einer Knochenmark- oder Stammzelltransplantation immunsuppressive Medikamente. Die multivariate Analyse bestätigt, dass Patienten mit langfristiger immunsuppressiver Therapie ein signifikant erhöhtes Risiko für die Entstehung von soliden Zweittumoren haben, im Gegensatz zu Patienten ohne Immunsuppression.

Socie et al. untersuchten beispielsweise die Risikofaktoren für die Entstehung von Zweitmalignomen in der Therapie der aplastischen Anämie (7). Dabei vergleicht er die beiden Therapieoptionen: immunsuppressive Behandlung (IS) versus Knochenmarktransplantation (KMT). Tabelle 8 fasst die Ergebnisse zusammen.

Tabelle 8 Zusammenfassung der Ergebnisse von Socie et al. (7).

<u>Therapie</u>	<u>IS</u>	<u>KMT</u>
Patientenzahl	860	748
Tumore gesamt	42	9
Tumorart	19 MDS 15 akute Leukämien 1 NHL 7 solide Tumore	2 akute Leukämien 7 solide Tumore
Kumulative 10 Jahres Inzidenz Rate für Tumore	18,8%	3,1%

Es ist zu erkennen, dass hauptsächlich hämatologische Tumore nach immunsuppressiver Therapie entstehen und sich solide Tumore sowohl unter Immunsuppression als auch im Rahmen der Knochenmarktransplantation bilden (7). Patienten mit chronischer GvHD und dauerhafter Immunsuppression zeigen in der Arbeit von Lishner et al. ein erhöhtes Risiko speziell für Tumore der Haut und Schleimhaut (8).

Hauttumore als Problem bei immunsupprimierten Patienten bringt Parrish in Zusammenhang mit UV Licht der Sonneneinstrahlung (32). Er zitiert eine Studie, die zeigt, dass Azathioprin DNA für UVA Strahlung sensitiviert (66). Einerseits entstehen DNA Schäden durch oxidativen Stress, verursacht durch Azathioprinmetaboliten und UVA Strahlung, andererseits ist der Metabolit selbst mutagen.

Diese Tatsache ist eine von multiplen Faktoren, die für das vermehrte Tumorwachstum verantwortlich sind, denn nicht alle Tumore entstehen auf sonnenexponierten Haut- oder Schleimhautarealen (32). Ursächlich diskutiert werden auch onkogene Viren, welche ein abnormes Zellwachstum bei unterdrückter Immunabwehr verursachen können (6, 67).

Es ist noch unklar, wie stark der Einfluss der verschiedenen immunsuppressiven Medikamente hinsichtlich der Tumorentstehung ist.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass eine immunsuppressive Therapie und auch die Kombination mehrerer Medikamente zur Unterdrückung des Immunsystems Risiko steigernd wirken.

Studien belegen bereits die erhöhte Gefahr der Tumorentwicklung unter langfristiger immunsuppressiver Therapie mit Azathioprin oder Ciclosporin (13, 15).

Hojo et al. erklären, dass Ciclosporin die Tumorprogression über einen direkten zellulären Effekt fördert. Autonome zelluläre Mechanismen bewirken, dass transformierte Zellen invasiv wachsen (68).

In dieser Arbeit können diese Schlussfolgerungen nicht gezogen werden, denn die hier einzeln untersuchten Immunsuppressiva zeigten bis auf Thalidomid keine statistische Relevanz. Ursächlich hierfür könnten zu geringe Fallzahlen sein.

Betrachtet man die Risikofaktoren mit der Zeit nach Transplantation, zeigt die erste Follow-up Untersuchung von Kolb et al. von 1999, dass Immunsuppression nach einer medianen Beobachtungszeit von 10,7 Jahren als ein Hauptrisikofaktor für solide Zweitmalignome gilt. (15).

Nach einer Latenz von 17,9 Jahren zeigt die vorliegende Studie, dass neben der Immunsuppression weitere Faktoren von Bedeutung sind, die ein tumorfreies Überleben mindern, wie zum Beispiel eine Strahlentherapie im Rahmen der zytotoxischen Konditionierung vor KMT.

5.6.4. Zytotoxische Konditionierung (Chemotherapie und Bestrahlung)

Um die Tumorzellen des Patienten zu zerstören, erfolgt vor der Knochenmarktransplantation die Konditionierungstherapie. Diese beinhaltet typischerweise eine Hochdosis Chemotherapie mit oder ohne Ganzkörperbestrahlung. Die Konditionierungstherapie bietet potenzielle Risikofaktoren für die Entstehung von soliden Zweittumoren (7, 9, 69, 70). In wie fern Chemotherapie bzw. Bestrahlung Einfluss auf die Tumorentstehung haben oder ob der kumulative Effekt beider Therapieoptionen ausschlaggebend ist, ist nicht vollständig geklärt.

Auch in der univariaten Auswertung wurde Chemotherapie versus Bestrahlung in Kombination mit Chemotherapie im Rahmen der Konditionierung untersucht, wobei sich keine statistisch relevanten Unterschiede ergaben.

Curtis et al. untersuchten den Zusammenhang zwischen Chemotherapeutika im Rahmen der Konditionierung und der Entstehung von soliden Zweittumoren. Dabei zeigte sich sowohl in der Einzel-, als auch in der Kombinationstherapie mehrerer Medikamente kein signifikant erhöhtes Risiko (12).

Die Strahlentherapie als Risikofaktor wurde in verschiedenen Studien der Literatur untersucht. Die Resultate sind unterschiedlich. Baker et al. beobachten nach einer medianen Beobachtungszeit von fünf Jahren keinen Zusammenhang mit Ganzkörperbestrahlung und der Entstehung von soliden Zweittumoren (20).

Auch die Risikofaktoranalyse von Kolb et al. von 1999 nach einer medianen Beobachtungszeit von 10,7 Jahren, zeigt, dass die Bestrahlung keinen signifikanten Effekt auf die Tumorentstehung hat (15).

Experimente mit Hunden zeigen nach ionisierender Bestrahlung ein erhöhtes Risiko für maligne Tumore (36, 71, 72). Die Höhe der Strahlendosis erreicht in diesen Experimenten sehr hohe Werte in Bezug auf die Größe der Tiere (von 6-21 Gy Einzeitbestrahlung). Gefolgert wird, dass eine hohe Gesamtstrahlendosis und hohe Dosisraten die Tumorentstehung fördern. Das in der eigenen Studie untersuchte Kollektiv war einer Strahlendosis von maximal 22 Gy und Dosisraten von maximal 0,22 Gy/min. ausgesetzt. Signifikante Ergebnisse in Hinsicht auf Strahlendosis und Dosisrate bezüglich einer Zweittumorentstehung konnten nicht erfasst werden, möglicherweise bedingt durch zu geringe Fallzahlen.

Jedoch belegt die Auswertung der aktuellen Studie, dass Bestrahlung nach einer sehr langen Nachbeobachtungszeit ein tumorfreies Überleben mindert.

Die Vermutung liegt nahe, dass der Einfluss der Bestrahlung auf Überleben und Tumorentstehung mit der Zeit nach Transplantation wächst.

Bestrahlungsassoziierte Tumore sind vor allem die der Schilddrüse, Mundhöhle, Speicheldrüsen und des ZNS (22, 26, 73-76). Dieses Tumorspektrum deckt sich mit den eigenen Ergebnissen.

Verschiedene Studien aus der Literatur sehen die Bestrahlung als bedeutsamen Risikofaktor für Sekundärmalignome nach Transplantation (9, 13, 14, 22).

In zwei Arbeiten von Witherspoon et al. gilt Ganzkörperbestrahlung ebenfalls als Risikofaktor für solide Tumore nach Knochenmarktransplantation (6, 16). Eine dieser Studien zeigt, dass das relative Risiko der Bestrahlung kleiner ist, als das der immunsuppressiven Therapie mit Antithymozyten Globulin oder monoklonalen Antikörpern (6). In der zweiten Studie zeigt sich ein stärkerer Zusammenhang zwischen dem Risikofaktor Ganzkörperbestrahlung und der Entstehung solider

Zweitumore. Wohingegen die Entstehung lymphoproliferativer Erkrankungen (z. B. Non-Hodgkin-Lymphome) mit Immunsuppression durch ATG oder monoklonalen T-Zell Antikörpern in Zusammenhang gebracht wird (16).

Einen starken Zusammenhang zwischen Bestrahlung und der Entstehung solider Zweitumore beschreibt Socié (7, 11, 13, 23). Eine höhere Tumorraten haben männliche Patienten, welche im Rahmen der Konditionierung bestrahlt wurden (7). Hochdosis Bestrahlung in jungen Jahren spielt auch eine wichtige Rolle bei der Entstehung maligner Tumore (23). In der Studie wurden über 3000 Kinder (Alter bis 17 Jahre) mit akuter Leukämie nach Knochenmarktransplantation bezüglich Tumorentstehung und damit verbundener Risikofaktoren beobachtet. Über die Hälfte der entdeckten soliden Tumore waren Schilddrüsen- und Hirntumore. Es wurde festgestellt, dass Patienten mit einer Hochdosis Bestrahlung (≥ 10 Gy Einzeldosis oder ≥ 13 Gy fraktionierte TBI) ein höheres Tumorrisiko zeigten als die mit geringerer Dosis oder ohne Bestrahlung.

Ähnliche Ergebnisse zeigt die Arbeit von Curtis et. al. (12). Auch hier ist eine Hochdosis Bestrahlung ein signifikanter Risikofaktor für die Entstehung solider Tumore nach Knochenmarktransplantation. Tumore im Hirn und Schilddrüse traten gehäuft bei Kindern auf, die während der Konditionierung bestrahlt wurden.

Weiterhin zeigen die Ergebnisse, dass eine Hochdosis Ganzkörperbestrahlung das Risiko für Melanome, Hirn- und Schilddrüsentumore signifikant erhöht, während unter dem Einfluss von Einzeitbestrahlung das Risiko für Tumore der Mundhöhle steigt.

Kein signifikanter Unterschied zeigte sich im Vergleich von Ganzkörperbestrahlung als Einzeldosis oder in fraktionierter Form. Jedoch ist eine steigende Dosis ein signifikanter Risikofaktor bei beiden Formen der Ganzkörperbestrahlung. Ab einer Einzeldosis von > 10 Gy bzw. einer fraktionierten Dosis > 13 Gy ist das relative Risiko um das 3-4-fache erhöht.

In der vorliegenden Arbeit besteht ebenfalls zwischen den einzelnen Bestrahlungsarten (Einzeitbestrahlung versus fraktionierter Bestrahlung) kein signifikanter Unterschied. Statistisch untersucht und verglichen wurden außerdem Strahlungsquelle, Dosis, Dosisraten sowie die Anzahl der Fraktionierungen. Auf Grund von teilweise unvollständigen Daten und niedriger Fallzahlen waren diese

Ergebnisse nicht verwertbar oder ohne statistische Relevanz. So bleibt weiterhin die Frage offen, in wie weit die einzelnen Bestrahlungsbedingungen ausschlaggebend auf eine maligne Zellproliferation sind. Um die Frage zu klären, könnte Gegenstand weiterer Studien mit sehr langer Beobachtungszeit und ausreichender Fallzahl sein, die einzelnen Bestrahlungsmodalitäten detaillierter zu beleuchten.

Zusammenfassend aus Literatur und den eigenen Ergebnissen ist zu bemerken, dass Strahlentherapie eine tragende Rolle in der Zweittumorentstehung nach HSZT einnimmt. Obwohl in einigen Studien nach relativ kurzer Beobachtungsdauer nach Transplantation dieser Schluss nicht gezogen werden konnte, zeigen andere Arbeiten diesen Risikofaktor.

Vorliegende Studie zeigt, dass die Inzidenz maligner Zweittumore nach langer Beobachtungszeit stetig zunimmt. Im Vergleich mit der ersten Untersuchung von 1999 mit dem Risikofaktor Bestrahlung. Nach welcher Zeit jedoch die Bestrahlung als signifikanter Risikofaktor hinzukommt, wird wohl von verschiedenen Faktoren beeinflusst. Wesentlich scheint hierbei die Latenzzeit kanzerogener radioaktiver Mechanismen bis zur malignen Zellproliferation zu sein, außerdem die Bestrahlungsbedingungen und das individuelle Risiko der bestrahlten Person.

5.7. Ausblick

Die Daten dieser Arbeit, über die verschiedenen Risikofaktoren und die damit verbundene erhöhte Inzidenz an soliden Zweittumoren bei Langzeitüberlebenden nach Knochenmarktransplantation, geben wichtige Hinweise auf die Ursache der Tumorentstehung im Verlauf der Zeit nach Transplantation.

Einschränkend ist darauf hinzuweisen, dass die detaillierten Zahlen zur Ganzkörperbestrahlung in Form von Bestrahlungsquelle, (Tages-) Dosis, Dosisrate, Lungendosis und genaue Anzahl der Fraktionierungen noch stark limitiert waren.

Auch waren in dieser zweiten Follow-up Untersuchung auf Grund der langen Beobachtungszeit 300 der 1036 Patienten nicht zu aktualisieren. Ziel in nachfolgenden Studien soll sein, die hauptsächlich zu beeinflussenden Risikofaktoren wie Immunsuppression und Bestrahlungsregime genauer zu analysieren. Beispielsweise in dem man die Bestrahlungsmodalitäten im Rahmen der Konditionierung als Ursache der Tumorentstehung bei Langzeitüberlebenden genauer erfasst oder verantwortliche Immunsuppressiva identifiziert und eine geeignete Medikamentenkombination oder Dosisanpassung vornehmen könnte. So

kann das Therapieregime der HSZT in Zukunft verbessert werden, um Langzeitüberlebende vor einem malignen Zweittumor, auch nach vielen Jahren, nach überstandener Transplantation, zu schützen. Auch die Tatsache, dass Langzeitüberlebende der stetigen Gefahr einer Zweitmalignom Entstehung ausgesetzt sind, macht es notwendig diese Patienten weiterhin regelmäßig zu untersuchen. Hierfür könnten spezielle Screeningprogramme entwickelt werden, die einheitliche Untersuchungspunkte enthalten, um speziell die bereits identifizierten Tumore wie die der Haut, Schilddrüse oder beispielsweise der Mamma frühzeitig zu erkennen. Außerdem sollten die Patienten dahingehend informiert und ggf. geschult werden, zum Beispiel in einer Selbstuntersuchung der Brust oder der genauen Inspektion ihrer Nävi.

6. Zusammenfassung

Hintergrund: Patienten nach HSZT haben ein ansteigendes Risiko erneut an malignen Zweittumoren zu erkranken. Die Häufigkeit und Risikofaktoren für maligne Zeittumore bei Langzeitüberlebenden wurden in dieser retrospektiven Multicenter-follow-up-Studie berechnet. In der bereits 1999 vorgenommenen Analyse dieser 1036 Patienten aus 45 Transplantationszentren der EBMT, welche mehr als 5 Jahre nach Transplantation überlebten, galten Patientenalter und Immunsuppression als Hauptrisikofaktoren für die Entstehung von malignen Zweittumoren.

Patienten und Methoden: In der aktuellen Follow-up Studie konnten Daten von 636 Patienten erneut erhoben werden, 100 Patienten starben und von 300 Patienten konnten die Daten nicht aktualisiert werden. Erneut wurden Zweittumore erfragt, die kumulative Inzidenz ermittelt und einer Vergleichsgruppe nach Alter und Geschlecht gegenübergestellt.

Als Variablen wurden Patientenalter und –geschlecht, Diagnose und Krankheitszustand zum Zeitpunkt der Transplantation, Histokompatibilität des Spenders, Konditionierungsschemata, Prophylaxe, Entwicklung und Therapie einer Graft versus Host-Erkrankung geprüft. Mit Hilfe des Log Rank Testes wurden in der Univariaten Analyse potenzielle Risikofaktoren für maligne Zweittumore mit der Zeit bis zur Tumordiagnose ermittelt. Risikofaktoren mit $p < 0,200$ wurden in die Multivariate Analyse (Cox Regression) einbezogen.

Ergebnisse: Die mediane Beobachtungszeit nach Transplantation lag bei 17,9 Jahren. Zweittumore wurden bei 114 Patienten erfasst, das errechnete Risiko für einen malignen Zweittumor betrug nach 10 Jahren 4,0% nach 15 Jahren 8,5%, nach 20 Jahren 14% und nach 25 Jahren 21%. Die Inzidenz für maligne Tumore in dieser Patientengruppe war ca. 6-mal höher als in einer nach Alter und Geschlecht geordneten Vergleichsgruppe ($p < 0,001$). Als Risikofaktoren nach HSZT ergaben sich in der multivariaten Analyse Patientenalter > 30 Jahre (HR 1,022; 95% KI 1,003-1,0042; $p = 0,025$) und immunsuppressive Behandlung (HR 3,223; KI 1,168-8,899; $p = 0,024$), speziell mit Thalidomid. Tumorfrees Überleben reduziert sich bei Patienten älter als 30 Jahre bei Transplantation (HR 1,032; KI 1,019-1,046;

$p < 0,001$), bei Patienten, die einen weiblichen Stammzellspender haben (HR 1,426; KI 1,052-1,931; $p = 0,022$), immunsuppressiver Behandlung (HR 1,441; KI 1,060-1,957; $p = 2,020$) und Strahlentherapie (HR 1,986; KI 1,067-3,696; $p = 0,030$).

Schlussfolgerung: Eine längere Nachbeobachtung von Patienten nach HSZT zeigt einen übernormalen Anstieg der kumulativen Inzidenz für maligne Neubildungen. Eine Nachbeobachtungszeit von mehr als 15 Jahren beweist, dass nicht nur älteres Patientenalter und Immunsuppression, sondern auch weibliches Spendergeschlecht und Strahlentherapie Risikofaktoren für ein Überleben ohne Zweitmalignome sind.

7. Literaturverzeichnis

1. Serota FT, Burkey ED, August CS, D'Angio GJ. Total body irradiation as preparation for bone marrow transplantation in treatment of acute leukaemia and aplastic anemia. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1983;9:1941-9.
2. Thomas E, Storb R, Clift RA, Fefer A, Johnson JL, Neiman PE, et al. Bone marrow transplantation (first of two parts). *N Engl J Med.* 1975;292:832-43.
3. Bortin MM, Horowitz MM, Rimm AA. Increasing utilization of allogeneic bone marrow transplantation. Results of the 1988-1990 survey. *Ann Intern Med.* 1992;116:505-12.
4. Flowers MED, Deeg HJ. Delayed complications after hematopoietic cell transplantation. In: Blume KG, Forman SJ, Applebaum FR, eds. *Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation.* 3rd ed. Boston, MA: Blackwell Science; 2004:944-961.
5. Koharazawa H, Yamaji S, Takasaki H, Takabayashi M, Fujimaki K, Taguchi J, Kanamori H, Ishigatsubo Y. [Triple secondary malignancy of gingiva, palate and esophagus after an allogeneic bone marrow transplantation for cutaneous T-cell lymphoma] 2005 Jul;46(7):496-500.
6. Witherspoon RP, Fisher LD, Schoch G, Martin P, Sullivan KM, Sanders J, et al. Secondary cancers after bone marrow transplantation for leukemia or aplastic anemia. *N Engl J Med.* 1989;321:784-9.
7. Socié G, Henry-Amar M, Bacigalupo A, Hovs J, Tichelli A, Ljungman P, et al. Malignant tumors occurring after treatment of aplastic anemia. European Bone Marrow Transplantation-Severe Aplastic Anaemia Working Party. *N Engl J Med.* 1993;329:1152-7.

- 8 Lishner M, Patterson B, Kandel R, Fyles G, Curtis JE, Meharchand J, et al. Cutaneous and mucosal neoplasms in bone marrow transplant recipients. *Cancer*. 1990;65:473-6.
9. Lowsky R, Lipton J, Fyles G, Minden M, Meharchand J, Tejpar I, et al. Secondary malignancies after bone marrow transplantation in adults. *J Clin Oncol*. 1994;12:2187-92.
10. Pierga JY, Socie´ G, Gluckman E, Devergie A, Henry-Amar M, Bridier A, et al. Secondary solid malignant tumors occurring after bone marrow transplantation for severe aplastic anemia given thoraco-abdominal irradiation. *Radiother Oncol*. 1994;30:55-8.
11. Socie´ G, Henry-Amar M, Cosset JM, Devergie A, Girinsky T, Gluckman E. Increased incidence of solid malignant tumors after bone marrow transplantation for severe aplastic anemia. *Blood*. 1991;78:277-9.
12. Curtis RE, Rowlings PA, Deeg HJ, Shriner DA, Socie´ G, Travis LB, et al. Solid cancers after bone marrow transplantation. *N Engl J Med*. 1997;336:897-904.
13. Deeg HJ, Socie´ G, Schoch G, Henry-Amar M, Witherspoon RP, Devergie A, et al. Malignancies after marrow transplantation for aplastic anemia and Fanconi anemia: a joint Seattle and Paris analysis of results in 700 patients. *Blood*. 1996;87:386-92.
14. Bhatia S, Ramsay NK, Steinbuch M, Dusenbery KE, Shapiro RS, Weisdorf DJ, et al. Malignant neoplasms following bone marrow transplantation. *Blood*. 1996;87:3633-9.
15. Kolb HJ, Socie´ G, Duell T, et al. Malignant neoplasms in long-term survivors of bone marrow transplantation: Late Effects Working Party of the European Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation and the European Late Effect Project Group. *Ann Intern Med*. 1999;131:738-744.

16. Witherspoon RP, Deeg HJ, Storb R. Secondary malignancies after marrow transplantation for leukemia or aplastic anemia. *Transplantation*. 1994;57:1413-8.
17. Ades L, Guardiola P, Socié G. Second malignancies after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: new insight and current problems. *Blood Rev*. 2002;16:135-146.
18. Curtis RE, Travis LB, Rowlings PA, et al. Risk of lymphoproliferative disorders following bone marrow transplantation: a multi-institutional collaborative study. *Blood*. 1999;94:2208-2216.
19. Rowlings PA, Curtis RE, Passweg JR, et al. Increased incidence of Hodgkin's disease after allogeneic bone marrow transplantation. *J Clin Oncol*. 1999;17:3122-3127.
20. Baker KS, DeFor TE, Burns JK, et al. New malignancies after blood or marrow stem-cell transplantation in children and adults: incidence and risk factors. *J Clin Oncol*. 2003;21:1352-1358.
21. Rizzo JD, Curtis RE, Deeg HJ, et al. Solid cancers in survivors of allogeneic bone marrow transplantation (BMT). *Blood*. 2001;96:557.
22. Bhatia S, Louie AD, Bhatia R, et al. Solid cancers after bone marrow transplantation. *J Clin Oncol*. 2001;19:464-471.
23. Socié G, Curtis RE, Deeg HJ, et al. New malignant diseases after allogeneic marrow transplantation for childhood acute leukemia. *J Clin Oncol*. 2000;18:348-357.
24. Deeg HJ, Socié G. Malignancies after hematopoietic stem cell transplantation: many questions, some answers. *Blood*. 1998;91:1833-1844.
25. Curtis RE, Travis LB, Deeg HJ, et al: Risk of lymphoproliferative disorders following bone marrow transplantation: A multi-institutional collaborative study. *Blood* 94:2208-2216, 1999.

26. Rizzo JD, Curtis RE, Socie´G, et al. Solid cancers after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2009;113: 1175-83.
27. Demarosi F, Lodi G, Carrassi A, Soligo D, Sardella A. Oral malignancies following HSCT: Graft versus host disease and other risk factors. *Oral Oncologie*. 2005; 41, 856-877 .
28. Curtis RE, Metayer C, Rizzo JD, Socie´ G ,Sobocinski KA, Flowers MED, et al. Impact of chronic GVHD therapy on the development of squamous-cell cancers after hematopoietic stem-cell transplantation: an international case-control study. *Blood* 2005.
29. Gratwohl A, Hermans J. Bone marrow transplantation activity in Europe 1992: report from the European Group for Bone Marrow Transplantation (EBMT). *Bone Marrow Transplant*. 1994;13:5-10.
30. Tucker MA, Coleman CN, Cox RS, Varghese A, Rosenberg SA. Risk of secondary cancers after treatment for Hodgkin's disease. *N Engl J Med*. 1988; 318:76-81.
31. Neglia JP, Meadows AT, Robison LL, Kim TH, Newton WA, Ruymann FB, et al. Second neoplasms after acute lymphoblastic leukemia in childhood. *N Engl J Med*. 1991;325:1330-6.
32. Parrish JA, Immunosuppression, Skin Cancer, and Ultraviolet A Radiation. *N Engl J Med*. 2005; 353;25.
33. Casciato DA, Scott JL. Acute leukemia following prolonged cytotoxic agent therapy. 1979 Jan;58(1):32-47.
34. van Leeuwen FE, Chorus AM, et al. Leukemia risk following Hodgkin's disease: relation to cumulative dose of alkylating agents, treatment with teniposide combinations, number of episodes of chemotherapy, and bone marrow damage. 1994 May;12(5):1063-73.

35. Tronko MD, Howe GR, Bogdanova TI, Bouville AC, Epstein OV, Brill AB, Likhtarev IA, Fink DJ, Markov VV, Greenebaum E, Olijnyk VA, Masnyk IJ, Shpak VM, McConnell RJ, Tereshchenko VP, Robbins J, Zvinchuk OV, Zablotska LB, Hatch M, Luckyanov NK, Ron E, Thomas TL, Voilleque PG, Beebe GW. A cohort study of thyroid cancer and other thyroid diseases after the chornobyl accident: thyroid cancer in Ukraine detected during first screening.
36. Kolb HJ, Lösslein LK, Beißer K, Schaffer E, Holler E, Schwella N, et al. Dose rate and fractionation of total body irradiation in dogs: short and long term effects. *Radiother Oncol*. 1990;18 Suppl 1:51-9.
37. Penn I. Cancers following cyclosporine therapy. *Transplantation*. 1987;43:32-5.
38. Text 28--8. Otsubo H, Yokoe H, Miya T, Atsuta F, Miura N, Tanzawa H, et al. Gingival squamous cell carcinoma in a patient with chronic graft-versus-host disease. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997;84(2):171-4.
39. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American Statistical Association*. 1958;53:457-81.
40. Muir C, Waterhouse J, Mack T, Powell J, Whelan S. *Cancer in Five Continents*. In: Muir C, Waterhouse J, Mack T, Powell J, Whelan S, eds. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. Lyon, France: JARC Scientific Publications; 1987.
41. Deeg HJ, Witherspoon RP: Risk factors for the development of secondary malignancies after marrow transplantation. *Hematol Oncol Clin North Am* 7:417-429, 1993.
42. Kolb HJ, Guenther W, Duell T, et al: Cancer after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 10:135-138, 1992.

43. Shapiro RS, McClain K, Frizzera G, et al: Epstein-Barr virus associated B cell lymphoproliferative disorders following bone marrow transplantation. *Blood* 71:1234-1243, 1988.
44. Witherspoon RP, Storb R, Pepe M, et al: Cumulative incidence of second malignant tumors in aplastic anemia patients given marrow grafts after conditioning with chemotherapy alone. *Blood* 79:289-290, 1992.
45. Deeg HJ: Delayed complications after bone marrow transplantation, in Forman SJ, Blume KG, Thomas ED (eds): *Bone Marrow Transplantation*. Boston, MA, Blackwell Scientific, 1994.
46. Socie G, Kolb HJ: Malignant diseases after bone marrow transplantation: The case for tumor banking and continued reporting to registries. EBMT Late-Effects Working Party (editorial). *Bone Marrow Transplant* 16:493, 1995.
47. The Committee for the Compilation of Materials on Damage Caused by the Atomic Bombs in Hiroshima and Nagasaki: *Hiroshima and Nagasaki: The Physical, Medical, and Social Effects of the Atomic Bombings*. New York, NY, Basic Books, 1981.
48. Deeg HJ, Prentice R, Fritz TE, Sale GE, Lombard LS, Thomas ED, Storb R: Increased incidence of malignant tumors in dogs after total body irradiation and marrow transplantation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 9:1505, 1983.
49. Broerse JJ, Hollander CF, Van Zwieten MJ: Tumor induction in Rhesus monkeys after total body irradiation with X-rays and fission neutrons. *Int J Radiat Biol* 40:671, 1981.
50. Kolb HJ, Rieder I, Bodenberger U, Netzel B, Schaffer E, Kolb H, Thierfelder S: Dose rate and dose fractionation studies in total body irradiation of dogs. *Pathol Biol* 27:370, 1979.
51. Cohen JI: Epstein-Barr virus lymphoproliferative disease associated with acquired immunodeficiency (review). *Medicine* 70:137, 1991.

52. Shapiro RS: Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphoproliferative disorders in immunodeficiency: Meeting the challenge. *J Clin Oncol* 8:371, 1990.
- 53 Seiden MV, Sklar J: Molecular genetic analysis of posttransplant lymphoproliferative disorders (review). *Hematol Oncol Clin NorthAm* 7:447, 1993.
54. Young L, Alfieri C, Hennessy K, Evans H, O'Hara C, Anderson KC, Ritz J, Shapiro RS, Rickinson A, Kieff E, Cohen JI: Expression of Epstein-Barr virus transformation-associated genes in tissues of patients with EBV lymphoproliferative disease. *N Engl J Med* 321:1080, 1989.
55. Schwartz RS, Beldotti L: Malignant lymphomas following allogeneic disease: Transition from an immunological to a neoplastic disorder. *Science* 149:1511, 1965.
56. Deeg HJ, Sanders J, Martin P, Fefer A, Neiman P, Singer J, Storb R, Thomas ED: Secondary malignancies after marrow transplantation. *Exp Hematol* 12:660, 1984.
57. Leisenring W, Friedman DL, Flowers ME et al. Nonmelanoma skin and mucosal cancers after hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol*. 2006;24:1119-26.
58. Kenney LB, Yasui Y, Inskip PD et al. Breast cancer after childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Ann Intern Med*. 2004;141:590-7.
59. Friedman DL, Rovo A, Leisenring W, et al. Increased risk of breast cancer among survivors of allogeneic hematopoietic cell transplantation: a report from the FHCRC and the EBMT-Late Effect Working Party. *Blood*. 2008;111: 939-44 .
60. Land CE, Saku T, Hayashi Y, et al: Incidence of salivary gland tumors among atomic bomb survivors, 1950-87: Evaluation of radiation-related risk. *Radiat Res* 146:28-36, 1996.
61. Thompson DE, Mabuchi K, Ron E, et al. Cancer incidence in atomic bomb survivors. Part II: Solid tumors, 1958-1987. *Radiat Res*. 1994;137:S17-67.

62. Preston DL, Ron E, Tokuoka S et al. Solid cancer incidence in atomic bomb survivors: 1958-1998. *Radiat Res.* 2007;168:1-64.
63. Gallagher G, Forrest DL: *Second Solid Cancers After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation* Wiley InterScience, 2006.
64. Gallagher G, Forrest DL. Second solid cancers after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer.* 2007;109:84-92.
65. Ershler WB, Longo DL. Aging and cancer: issues of basic and clinical science. *J Natl Cancer Inst.* 1997;89:1489–1497.
66. O'Donovan P, Perrett CM, Zhang X, et al. Azathioprine and UVA light generate mutagenic oxidative DNA damage. *Science* 2005;309:1871-4.
67. Zhang L, Epstein JB, Poh CF, Berean K, Lam WL, Zhang X, et al. Comparison of HPV infection, p53 mutation and allelic losses in post-transplant and non-posttransplant oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med* 2002;31(3):134–41.
68. Hojo M, Morimoto T, Maluccio M, Asano T, Morimoto K, Lagman M, et al. Cyclosporine induces cancer progression by a cell-autonomous mechanism. *Nature* 1999;397(6719):530–4.
69. Boice JD: Cancer following medical irradiation. *Cancer* 47:1081, 1981.
70. Kolb HJ, Bender-Gotze C: Late complications after allogeneic bone marrow transplantation for leukaemia. *Bone Marrow Transplant* 6:61, 1990.
71. Deeg HJ, Prentice R, Fritz TE, Sale GE, Lombard LS, Thomas ED, et al. Increased incidence of malignant tumors in dogs after total body irradiation and marrow transplantation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1983;9:1505-11.

72. Deeg HJ, Storb R, Prentice R, Fritz TE, Weiden PL, Sale GE, et al. Increased cancer risk in canine radiation chimeras. *Blood*. 1980;55:233-9.
73. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation (UNSCEAR): Sources and Effects of Ionizing Radiation. New York, NY, United Nations, 1994, Publication No. E-94:IX.11.
74. Ron E, Lubin JH, Shore RE, et al: Thyroid cancer after exposure to external radiation: A pooled analysis of seven studies. *Radiat Res* 141:259-277, 1995.
75. Cohen A, Rovelli A, Merlo DF, et al. Risk for secondary thyroid carcinoma after hematopoietic stem-cell transplantation: an EBMT Late Effects Working Party Study. *J Clin Oncol*. 2007;25: 2449-54.
76. Sigurdson AJ, Ronckers CM, Mertens AC et al. Primary thyroid cancer after a first tumour in childhood (the Childhood Cancer Survivor Study): a nested case-control study. *Lancet*. 2005;365:2014-23.

8. Anhang

8.1. Anschreiben in Deutsch

Klinikum der Universität München

Medizinische Klinik und Poliklinik III – Großhadern
Direktor: Prof. Dr. med. Wolfgang Hiddemann
Hämatopoetische Zelltransplantation: Prof. Dr. med. H.-J. Kolb



Klinikum der Universität München • Medizinische Klinik und Poliklinik III – Großhadern
KMT– Marchioninistraße 15 • D-81377 München

Prof. Mustermann

Dr. B. Heilmeier
Marchioninstr.15
81377 München

Tel. 7095-4240/4241

Fax. 7095-4242

email: Bernhard.Heilmeier@med.uni-muenchen.de

München, den....

Follow Up der 1999 veröffentlichten Langzeitüberlebenden nach Knochenmarktransplantation im Rahmen der Late Effect Working Party der EBMT

Sehr geehrter Prof. Mustermann,

wie besprochen, wollen wir im Rahmen der Late Effect Working Party der EBMT die 1999 veröffentlichten Patienten (Malignant Neoplasms in Long-Term Survivors of Bone Marrow Transplantation. Ann Int Med. 1999;131:738-44) weiterverfolgen. Wir bitten Sie deshalb, die aus Ihrem Transplantationszentrum eingebrachten Daten (in Kopie anbei) zu aktualisieren. In der Anlage finden Sie ein entsprechendes Formular sowohl in Papierform, als auch in Form einer Access-Datei (kann als E-mail zurückgesandt werden), wobei jeweils die leeren Felder zu aktualisieren sind. Sollte ein Zweitmalignom aufgetreten sein, so bitten wir um eine Kopie des histologischen Befundes. Für Rückfragen stehen wir Ihnen jederzeit gerne zur Verfügung. Wir bedanken uns im Voraus für Ihre Mitarbeit und verbleiben mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. H.-J. Kolb

Leiter der Hämatopoetischen
Zelltransplantation

Dr. B. Heilmeier

Wissenschaftl. Assistent

N. Stowasser

Doktorandin



8.2. Anschreiben in Englisch

Ludwig
Maximilians
Universität
München

LMU

Klinikum der Universität München

Medizinische Klinik und Poliklinik III ⇒ Großhadern
Direktor: Prof. Dr. med. Wolfgang Hiddemann
Hämatopoetische Zelltransplantation: Prof. Dr. med. H.-J. Kolb



Klinikum der Universität München • Medizinische Klinik und Poliklinik III – Großhadern
KMT – Marchioninstraße 15 • D-81377 München

Prof. Mustermann

Dr. B. Heilmeier
Marchioninstr.15
81377 München

Tel. 7095-4240/4241

Fax. 7095-4242

email: Bernhard.Heilmeier@med.uni-muenchen.de

München, ...

Follow up of the of the long-term survivors of bone marrow transplantation published in 1999 for the Late Effect Working Party of the EBMT

Dear Prof. Mustermann,

as discussed, we want to follow up the long-term survivors of bone marrow transplantation published in 1999 for the Late Effect Working Party of the EBMT (Malignant Neoplasm's in Long-Term Survivors of Bone Marrow Transplantation. Ann Int Med. 1999;131:738-44).

Thus we ask you to update the data from the patients (attached) brought into the study from your EBMT centre. Attached you will find a chart on paper and as Access file. The empty fields should be completed with the recent data either on the paper or in the Access file (return per email possible). In case of a secondary malignancy we ask you to send us a copy of the histology report. If you have any questions regarding any aspect of the chart, please do not hesitate to contact us.

Thank you in advance for your cooperation.

With kind regards

Prof. Dr. H.-J. Kolb

Leiter der Hämatopoetischen
Zelltransplantation

Dr. B. Heilmeier

Wissenschaftl. Assistent

N. Stowasser

Doktorandin



8.3. Fragebogen

EBMT-CENTER	<input type="text" value="XXX"/>	CENTER-COD	<input type="text" value="148"/>
PATIENT-NAME	<input type="text" value="XXX"/>	NOP	<input type="text" value="03"/>
		LEF	<input type="text" value="0"/>
		PAT.NO	<input type="text" value="1"/>
PATIENT-SEX	<input type="text" value="2"/>	BIRTH-DATE	<input type="text" value="09.06.1955"/>
		PATIENT-AGE (years)	<input type="text"/>
DONOR-AGE	<input type="text" value="22"/>	DONOR-GENDER	<input type="text" value="1"/>
		BMT-DATE	<input type="text" value="09.11.1983"/>
		PLX	<input type="text" value="2"/>
SURVIVAL TIME POST TRANSPLANTION (month)	<input type="text"/>	LFUDAT-A	<input type="text"/>
LFUDAT-B	<input type="text"/>	STATE	<input type="text"/>
		DIAGNOSE	<input type="text" value="1"/>
		STG	<input type="text" value="1"/>
HLA	<input type="text" value="id"/>	HL	<input type="text" value="1"/>
		CONDITION	<input type="text" value="CY,TBI"/>
		GVH-PROPH	<input type="text" value="CSA"/>
ACUTE-GVHD	<input type="text"/>	CHRONIC-GVHD	<input type="text"/>
		GVHTX	<input type="text" value="AZA"/>
		TX	<input type="text" value="2"/>
TUMOR	<input type="text"/>	TUMOR DIAGNOSE-DATE	<input type="text"/>
		TUMOR-TIME (month)	<input type="text"/>
TUMOR-TYPE	<input type="text"/>	TUMOR REP.	<input type="text"/>
		RECURRENT PRIMARY DISEASE	<input type="text"/>
DEATH-DAY	<input type="text"/>	CAUSE OF MORBIDITY/DEATH	<input type="text"/>
		KIN	<input type="text" value="100"/>
WORK	<input type="text"/>	CODE FOR RESTITUTION OF WORK	<input type="text"/>
		RADSC	<input type="text" value="L"/>
RADMD	<input type="text" value="B"/>	RAD	<input type="text" value="1"/>
		DOSE	<input type="text" value="800"/>
		FRACTS	<input type="text" value="1"/>
DAYRAD	<input type="text" value="1"/>	DSRATE	<input type="text" value="25"/>
		DSLUNG	<input type="text" value="800"/>

- LFUDAT-A:	last follow up date A
- LFUDAT-B:	last follow up date B
- STATE:	0= alive; 1= dead
- ACUTE GVHD:	
- CHRONIC GVHD:	
- TUMOR:	0= no; 1= yes
- TUMOR DATE:	date of tumor
- TUMOR TIME:	time until tumore occurrence in month
- TU.REP.	ICD - histology report
- RECURRENT PRIMARY DISEASE:	0= no; 1= yes
- COM/COD:	cause of morbidity/ cause of death
- WORK:	unknown; full; part; not; napp
- W:	code for restitution of work: 0= unknown; 1= full; 2= part; 3= not; 4= napp

9. Danksagung

Bei Herrn Prof. Dr. med. Hans-Jochem Kolb bedanke ich mich für die Überlassung des Themas, die freundliche Unterstützung und Hilfestellung während der gesamten Arbeit.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Dr. Bernhard Heilmeyer, für die sehr gute Betreuung und Motivation während dieser Arbeit. Vielen herzlichen Dank auch für die Hilfe und Unterstützung bei den Korrekturen, statistischen Auswertungen und die Durchsicht des Textes.

Ich bedanke mich sehr bei Frau Dr. Elke Nekolla, vom Helmholtz Zentrum München, dem deutschen Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt, für die Unterstützung der statistischen Auswertung der erhobenen Daten und die hervorragenden Abbildungen.

Ebenfalls vielen Dank an Herrn Dr. Alexander Crispin vom Institut für medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie der LMU München für seine unterstützende statistische Beratung und kompetenten Hinweise.

Bei Frau Prof. Dr. Monika Führer, Frau Dr. Johanna Tischer und Herrn Dr. Georg Lederrose möchte ich mich für die freundlichen Hinweise und Hilfe bei der Nachverfolgung der Münchner Patienten bedanken. Mein Dank gilt auch allen Transplantationszentren für die Datenübermittlung ihrer Patienten.

Besonderer Dank gilt meiner Schwester, meiner Oma und allen Freunden, die mich jederzeit geduldig motiviert haben und zu guter Letzt meinen Eltern, die mir mein Medizinstudium und diese Arbeit erst ermöglicht haben.

10. Lebenslauf

Nadine Stowasser Lachstedter Str. 10 C
99518 Großheringen
Tel.: 0151/15 36 44 02
E-mail: Nadine.Stowasser@1a-online.net

Geburtsdatum: 27.08.1979
Geburtsort: Apolda
Familienstand: ledig
Kinder: Karl Lukas Stowasser
Konfession: evangelisch
Eltern: Thomas Stowasser (Dipl. Ingenieur)
Kerstin Stowasser (Krankenschwester)
Geschwister: Isabell Stowasser (Juristin)

Schulbildung: 1986-1991 Grundschule Großheringen
1991-1998 Gymnasium Bergschule Apolda
Abschluss: 1998 Allgemeine Hochschulreife
Beruf: 1999-2002 Ausbildung und Abschluss
zur Bankkauffrau
Studium: 2002-2008 Humanmedizin an der
Ludwig Maximilians Universität München
Praktisches Jahr: 1. Tertial: Chirurgie, Klinikum Pasing
2. Tertial: Neurologie, Friedrich-Baur-Institut
3. Tertial: Innere Medizin, Klinikum Großhadern
Approbation: 20.11.2008
Berufliche Tätigkeit: seit 28.11.2008 Assistenzärztin in der
Saale Reha-Klinik II, Bad Kösen
Abteilung Kardiologie
Elternzeit: April 2009 - März 2010