

Aus der Medizinischen Klinik II, Klinikum Augsburg,
Akademisches Lehrkrankenhaus der Ludwig-Maximilians-Universität München
Chefarzt: Professor Dr. med. Günter Schlimok

**Allogene periphere Blutstammzelltransplantation nach
dosisreduzierter Konditionierung bei Patienten mit akuter
myeloischer Leukämie abhängig von zytogenetischen und
molekulargenetischen Aberrationen**

Dissertation

Zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Tim Pfeiffer

aus Solingen

2014

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München



Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. Christoph Schmid

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. Michaela Feuring-Buske
Prof. Dr. med. Jan Braess

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

Tag der mündlichen Prüfung: 08.05.2014

Für meine Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis.....	6
1 Einleitung.....	7
1.1 Akute myeloische Leukämie	7
1.1.1 Definition	7
1.1.2 Epidemiologie	8
1.1.3 Ätiologie	8
1.1.4 Pathogenese	9
1.1.5 Klinische Symptomatik	11
1.1.6 Diagnostik	11
1.1.7 Klassifikation.....	13
1.1.8 Allgemeine Behandlungsstrategie.....	14
1.1.9 Prognose.....	15
1.2 Allogene Stammzelltransplantation	16
1.2.1 Grundlagen	16
1.2.2 Dosisreduzierte Konditionierung	17
1.2.3 Die allogene SZT im Therapiekonzept der AML	18
1.2.4 Sequenzielle Konditionierung – Das FLAMSA-RIC-Protokoll.....	20
2 Fragestellung / Zielsetzung.....	23
3 Material und Methoden	24
3.1 Datenerhebung.....	24
3.2 Definitionen	24
3.3 Statistik	27
4 Ergebnisse	28
4.1 Ergebnisse molekular definierter Subgruppen von Patienten mit normalem Karyotyp	28
4.2 Ergebnisse von Patienten mit Hochrisiko-Zytogenetik.....	40
5 Diskussion.....	45

5.1	Einfluss des Mutationsstatus für NPM1 und FLT3 auf die Transplantationsergebnisse bei AML mit normalem Karyotyp	45
5.2	Transplantationsergebnisse von Patienten mit AML und MDS und einer Hochrisiko-Zytogenetik.....	49
6	Zusammenfassung	54
7	Literaturverzeichnis	56
8	Danksagungen	64
9	Lebenslauf	65

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AML.....	Akute Myeloische Leukämie
CR1.....	First Complete Remission
CR2.....	Second Complete Remission
GvHD.....	Graft versus Host Disease
EBMT	European Society for Blood and Marrow Transplantation
FAB.....	French American British Group
HSCT.....	Hematopoietic Stem Cell Transplantation
LAD	Leukemia-associated Death
LFS.....	Leukemia free survival
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MPN.....	Myeloproliferative Neoplasie
NRM.....	Non-relapse mortality
OS	Overall survival
RIC.....	Reduced intensity conditioning
SEER.....	Surveillance Epidemiology and End Results
TRM	Transplant-related mortality
SZT	Stammzelltransplantation
ZNS.....	Zentrales Nervensystem

1 EINLEITUNG

1.1 Akute myeloische Leukämie

1.1.1 Definition

Die akute myeloische Leukämie ist eine hämatologische Neoplasie, die durch unkontrollierte Vermehrung von Vorläuferzellen (myeloische Blasten) mit Verdrängung der normalen Hämatopoese im Knochenmark charakterisiert ist.

Die pathogenetische Grundlage der AML ist die sog. leukämische Transformation einer hämatopoetischen Stammzelle, die zur Proliferation eines leukämischen Klons führt. Während die Tendenz zur Proliferation und Teilung erhalten bleibt, ist die Fähigkeit der funktionsuntüchtigen Blasten zur weiteren Differenzierung (Reifung) verloren gegangen. Darüber hinaus zeigt sich eine verminderte Apoptose. Als Folge der ungehemmten Proliferation kommt es zur Verdrängung der physiologischen Blutbildung im Knochenmark (Knochenmarksinsuffizienz) mit konsekutiver Anämie, Granulozytopenie und Thrombozytopenie und dem daraus resultierenden klinischen Erscheinungsbild.

In Folge der ungehemmten Expansion im Knochenmark werden leukämische Blasten meist in das periphere Blut ausgeschwemmt, weshalb bei klinischer Manifestation im Rahmen der Diagnosestellung meist eine deutliche Leukozytose registriert wird. Darüber hinaus kann es zu einer Infiltration extramedullärer Organe durch die leukämischen Blasten kommen. Das Wort „akut“ in AML bezieht sich auf den klinischen Verlauf der Erkrankung und grenzt es gegen die chronisch myeloische Leukämie ab, welche biologisch und klinisch eine komplett andere Erkrankung darstellt.

In enger Verwandtschaft zur AML stehen die myelodysplastischen Syndrome (MDS). Dabei handelt es sich um eine heterogene Gruppe von hämatologischen Neoplasien, die durch die maligne Transformation einer hämatopoetischen Stammzelle entstehen und durch eine ineffektive und dysplastische Hämatopoese einer oder mehrerer Zellreihen gekennzeichnet sind. Während bei der AML die exzessive Proliferation der Blasten mit Reifungsstopp und minimaler Differenzierung überwiegt, bleibt beim MDS teilweise eine weitere Differenzierung des malignen Klons bei geringgradiger Proliferationstendenz erhalten. Dabei zeigen die myelodysplastischen Syndrome einen variablen klinischen Verlauf mit chronischen Verlaufsformen bis hin zum raschen Übergang in eine sekundäre AML in ca. 20-30%.

1.1.2 Epidemiologie

Im Gegensatz zum amerikanischen Krebsregister SEER (Surveillance Epidemiology and End Results) existiert in Deutschland kein zentrales flächendeckendes Register für die adulte AML. Die folgenden Prävalenz- und Inzidenzraten resultieren daher aus Schätzungen und statistischen Rechenmodellen, angewendet auf die deutschen Bevölkerungsdaten. (1) Demnach liegt die Inzidenz bei Erwachsenen in Deutschland für Männer bei 4,3/100.000 und bei Frauen bei 2,9/100.000 pro Jahr. Die Anzahl der geschätzten Neuerkrankungen pro Jahr beträgt 3600. Altersspezifisch nimmt die Inzidenz mit dem Alter zu: Während bis zu einem Alter von 45 Jahren eine Inzidenz von 3/100.000/Jahr angegeben wird, steigt die Anzahl der Neuerkrankungen bei 70-jährigen auf 15/100.000/Jahr deutlich an. Die Anzahl der Neuerkrankungen wird über einen repräsentativen Zeitraum von 10 Jahren als konstant angegeben. (2) (3) Nach Daten aus dem amerikanischen SEER-Register beträgt das mediane Erkrankungsalter bei Diagnosestellung 67 Jahre. (2)

Die Mortalität der akuten myeloischen Leukämie beträgt nach den Daten der SEER 2,7/100.000. Dabei sind die altersadjustierten Mortalitätsraten mit deutlichen Unterschieden behaftet. So wird mit steigendem Lebensalter auch eine steigende Mortalität angegeben. Die 5-Jahresüberlebensraten für erwachsene AML-Patienten in den USA beträgt 21%. (2) Während das Gesamtüberleben bei AML-Patienten in der Altersgruppe bis 60 Jahren in den letzten vier Dekaden stetig verbessert werden konnte, ist eine derartig positive Entwicklung bei Patienten über dem 60. Lebensjahr ausgeblieben. (4)

1.1.3 Ätiologie

Die Ätiologie der AML ist bislang weitgehend ungeklärt. Dennoch scheinen externe Einflussgrößen und prädisponierende Faktoren zu existieren, von denen man annimmt, an der Entstehung einer AML beteiligt zu sein.

Ein hohes leukämogenes Potential besitzt das organische Lösungsmittel Benzol. (5) Eine therapie-assoziierte AML (t-AML) ist definiert durch das Auftreten einer AML nach Exposition gegenüber ionisierender Strahlung und Chemotherapeutika (Alkylanzien, Topoisomerase-II-

Hemmer) und wird in der aktuell gültigen WHO-Klassifikation als eigenständige biologische Entität aufgeführt.

Während bei der de novo oder primären AML keine fassbaren Ursachen identifiziert werden können, geht der sog. sekundären AML eine hämatologische Erkrankung voraus. Dabei findet sich bei ca. 15% aller AML-Patienten ein myelodysplastisches Syndrom (MDS) in der Vorgeschichte, aber auch myeloproliferative Neoplasien (MPN) oder aplastische Anämien können in eine akute myeloische Leukämie transformieren.

Ein deutlich erhöhtes Leukämierisiko zeigen Patienten mit einer genetischen Prädisposition. Hierzu zählen hereditäre Erkrankungen wie die Trisomie 21 (Down-Syndrom, ca. 20-fach erhöhtes Risiko) und das Klinefelter-Syndrom.

1.1.4 Pathogenese

Die akute myeloische Leukämie ist eine genetische Erkrankung. Für die Entstehung der AML wird ein pathogenetisches Modell postuliert, welches die maligne Transformation einer hämatopoetischen Stammzelle mit daraus resultierender Proliferation eines leukämischen Klons erklärt:

Nachdem in tierexperimentellen Untersuchungen gezeigt werden konnte, dass eine einzelne genetische Alteration nicht in der Lage ist die leukämische Entwicklung einer Stammzelle zu initiieren, (6) geht man gegenwärtig von einem Zusammenwirken von mindestens zwei genetischen Aberrationen auf molekularer Ebene aus, die den leukämischen Prozess verantworten. Diese sogenannte „Two-hit-Hypothese“ unterscheidet zwischen zwei Klassen von Mutationen: Die genetischen Defekte der Klasse I bewirken einen Proliferations- und/oder ein Überlebensvorteil der Blasten, während Klasse-II-Mutationen eine Blockierung der Differenzierung mit verminderter Apoptose induzieren. (7)

Nur das simultane Auftreten einer Klasse-I- und einer Klasse-II-Mutation besitzt das Potential eine akute myeloische Leukämie mit autonomer Zellexpansion auszulösen. Die immensen Fortschritte auf dem Gebiet der Epigenetik verlangen jedoch nach einer Verfeinerung der „Two-hit-Hypothese“. Die Epigenetik befasst sich mit Veränderungen der Genregulation und Genexpression ohne direkte Modifizierung der Gensequenz. Diese epigenetischen Regulationsvorgänge scheinen einen entscheidenden Einfluss auf die Entstehung und Entwicklung von Genmutationen zu haben und können als Klasse-III-Mutationen in das Modell

der „Two-hit-Hypothese“ integriert werden. (8) Einen schematischen Überblick über die molekulare Pathogenese der AML gibt Abbildung 1.

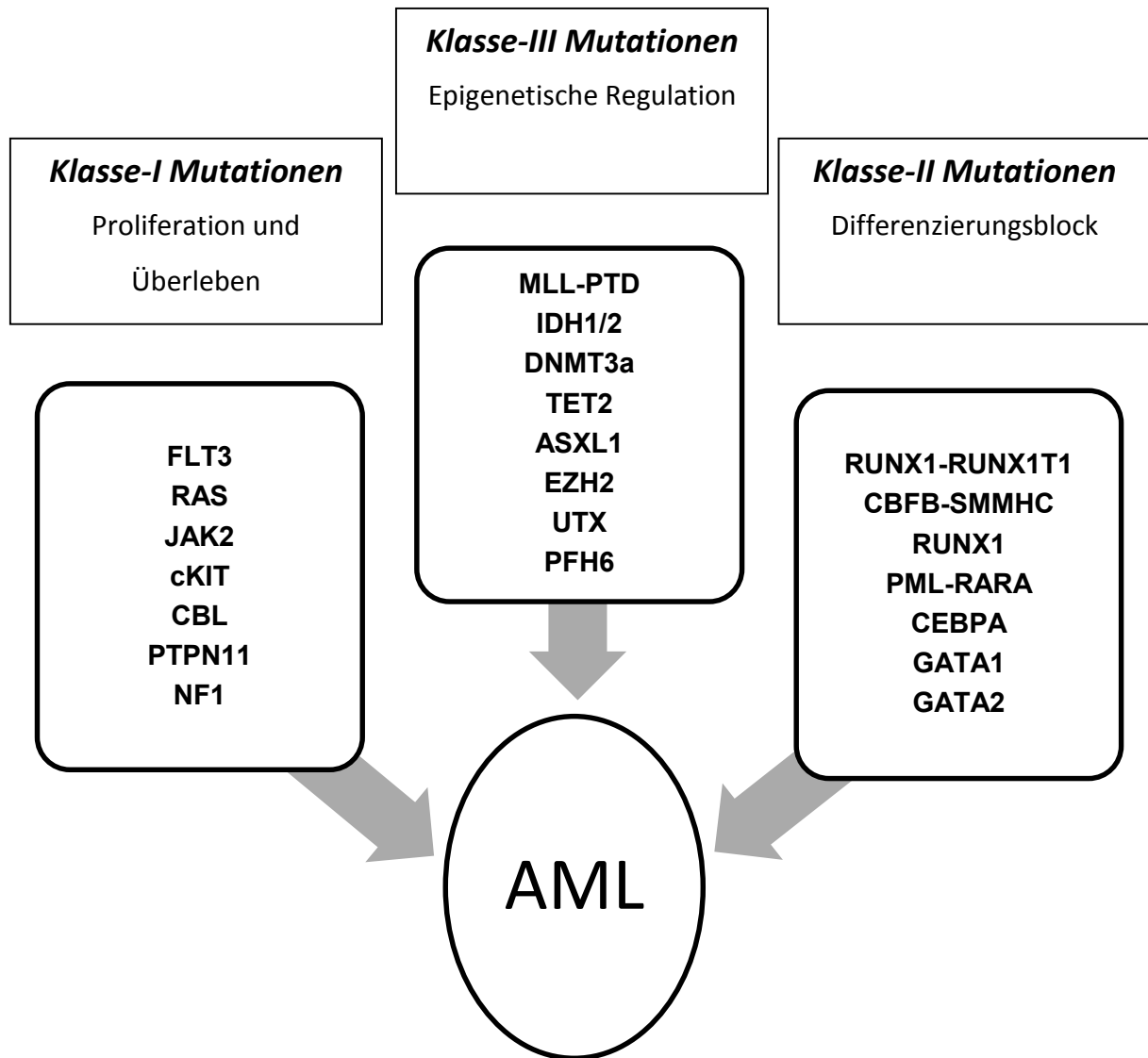


Abb. 1. Erweitertes Modell der „Two-hit-Hypothese“

1.1.5 Klinische Symptomatik

Das Ausmaß der Knochenmarksinsuffizienz durch Infiltration der leukämischen Blasten mit Verdrängung der normalen Hämatopoese bestimmt weitgehend das klinische Erscheinungsbild der AML. Im peripheren Blut resultiert eine Zytopenie der reifzelligen Zellreihen. Als Ausdruck der Anämie zeigt sich vor allem eine verminderte Leistungsfähigkeit und Abgeschlagenheit sowie eine allgemeine Blässe und Dyspnoe. Im Rahmen der Granulozytopenie treten oft über mehrere Wochen protrahierte Infekte auf, die vorzugsweise in den oberen Atemwegen lokalisiert sind. Spontane Hämatomausbildung, Schleimhautblutungen und Petechien gehören zum klinischen Erscheinungsbild einer Thrombozytopenie, wobei auch hier die Ausprägung vom Grad der Zytopenie abhängt. Des Weiteren können sich extramedulläre Manifestationen der AML durch Infiltration mit leukämischen Blasten zeigen (Gingivahyperplasie, Chlorome der Haut, ZNS-Befall), die insgesamt gesehen aber eher selten registriert werden.

1.1.6 Diagnostik

Die Diagnostik der AML umfasst ein breites Spektrum an Methoden, die zusammengenommen eine präzise Charakterisierung der Erkrankung ermöglichen und die Zuordnung zu definierten Subgruppen mit unterschiedlicher Biologie und Prognose zulassen. Am Anfang steht die Zytomorphologie am Knochenmarks-Ausstrich, die mit Hilfe der Pappenheim-Färbung und der Zytochemie die Zuordnung der Blasten zur myeloischen Reihe, sowie die Einordnung in eine der Subgruppen der FAB-Klassifikation (M0 bis M7) erlaubt. Dabei wird ein myeloischer Blastenanteil im Knochenmark von mindestens 20% gefordert.

Ergänzt wird die Zytomorphologie durch die Immunphänotypisierung, die das Expressionsmuster verschiedener Antigene auf der Oberfläche der myeloischen Blasten analysiert und daraus einen sog. Leukämie-assoziierten Immunphänotyp (LAIP) definiert. Dieses individuelle Antigenprofil kann im Verlauf der Erkrankung in einigen Fällen zum Nachweis einer minimalen Resterkrankung (MRD) genutzt werden. (9) Komplettiert wird die spezifische Diagnostik der AML durch die modernen Methoden der Zytogenetik und Molekulargenetik, welche eine zentrale Rolle im Rahmen der Diagnostik einnehmen und im Folgenden genauer beschrieben werden.

Mit den modernen Nachweismethoden der Zytogenetik lassen sich bei der AML über 50 strukturelle Chromosomenaberrationen nachweisen. Dabei unterscheidet man aus zytogenetischer Sicht zwischen zwei großen Gruppen: Aberrationen mit balancierten Veränderungen sind durch strukturellen Umbau ohne Materialverlust oder Zugewinn gekennzeichnet und meist Folge einer Translokation oder einer Inversion. Die zweite Gruppe umfasst unbalancierte Chromosomenanomalien, die entsprechend durch den Verlust (Deletion) oder Zugewinn von chromosomalen Materials bzw. eines ganzen Chromosoms (Monosomie, Trisomie) charakterisiert sind. Als komplex aberranter Karyotyp wird das Auftreten von drei oder mehr voneinander unabhängigen Chromosomenaberrationen bezeichnet. Auf der Basis zahlreicher Untersuchungen an großen Patientenkollektiven wurden drei prognostische Subgruppen erarbeitet, die sich durch folgende Aberrationen im Karyotyp der leukämischen Blasten definieren (10):

<i>Günstig</i>	t(8;21), inv(16), t(16;16), t(15;17)
<i>Intermediär</i>	normaler Karyotyp, alle in den beiden anderen Gruppen nicht genannte Aberrationen
<i>Ungünstig</i>	Monosomie 5, 5q-, Monosomie 7, 7q-, Trisomie 13, inv(3), 11q23-Aberrationen, 17p-Aberrationen, 20q+, komplex aberranter Karyotyp (≥ 3 zytogenetische Aberrationen)

Im Gegensatz zur akuten myeloischen Leukämie finden sich bei den Chromosomenveränderungen beim MDS in erster Linie unbalancierte Veränderungen. Dabei handelt es sich vorwiegend um Verluste von genetischem Material. Zu den zytogenetischen Aberrationen mit ungünstiger Prognose zählen vor allem Anomalien an Chromosom 7 (Monosomie 7, 7q-) und komplex aberrante Karyotypen, während eine isolierte Deletion 5q im Gegensatz zum Vorkommen bei der AML mit einer günstigen Prognose assoziiert ist. (11)

Bei ca. 45% der AML-Patienten werden zum Zeitpunkt der Diagnosestellung keine zytogenetischen Veränderungen gefunden. Unter den zytogenetisch definierten Subgruppen umfasst diese Gruppe mit normalem Karyotyp damit den größten Anteil aller Patienten mit einer akuten myeloischen Leukämie. Obwohl die Patienten mit normalem Karyotyp nach der zytogenetisch basierten Risikoeinteilung in ihrer Gesamtheit einer intermediären Prognose zugeordnet werden, konnten in den letzten Jahren durch molekulargenetische Methoden zahlreiche Mutationen identifiziert werden, welche die Definition weiterer biologischer

Subgruppen mit erheblichen Unterschieden im Therapieansprechen und in der Gesamtprognose erlaubt. Bei diesen molekularen Markern handelt es sich um Genmutationen auf molekularer Ebene, die durch zytogenetische Diagnostik nicht fassbar sind. Diese Mutationen können für die große Heterogenität innerhalb der Kohorte der AML-Patienten mit normalem Karyotyp verantwortlich gemacht werden. Unter den zahlreichen bislang detektierten molekularen Aberrationen wird gegenwärtig die Analyse von drei somatisch erworbenen Mutationen für die klinische Routinediagnostik empfohlen: Mutationen im Nukleophosmin 1-Gen (NPM1^{mut}), Mutationen im myeloischen Transkriptionsfaktor $\text{CEBP}\alpha$ und die interne Tandemduplikation im fms-like Tyrosinkinase 3 Gen (FLT3-ITD). (12) Patienten mit einem normalem Karyotyp und mutiertem NPM1 / FLT3 Wildtyp Status oder einer bi-allelischen $\text{CEBP}\alpha$ -Mutation zeigen eine günstige Prognose. (13) Dagegen ist das Vorkommen einer isolierten FLT3-ITD oder ein Wildtyp an beiden Genloci (NPM1 und FLT3) mit einer ungünstigen Prognose assoziiert. (12)

1.1.7 Klassifikation

Der Einsatz moderner diagnostischer Verfahren, insbesondere in der Molekulargenetik und Zytogenetik, hat zu entscheidenden Fortschritten im Verständnis der molekularen genetischen und epigenetischen Grundlagen der AML geführt. Dieser Wissenszuwachs wurde in der aktuell gültigen WHO-Klassifikation von 2008 anerkannt und neben den etablierten Erkenntnissen aus Zytomorphologie, Zytochemie und Immunphänotypisierung berücksichtigt. (14)

Eine wesentliche Änderung in der aktuellen Klassifikation betrifft eine Subgruppe der AML, die sich über das Auftreten bestimmter genetischer Veränderungen definiert. Diese vier rekurrenten zytogenetischen Abberationen sind derart charakteristisch, dass beim Vorliegen einer dieser Veränderungen die Diagnose AML gestellt werden darf, auch wenn der sonst geforderte Blastenanteil von mindestens 20 % im Knochenmark deutlich unterschritten wird.

Zusammenfassend reflektiert die gegenwärtige WHO-Klassifikation die Heterogenität der AML-Erkrankung mit definierten Subgruppen, die sich in ihrer Prognose und ihrem Verlauf teilweise erheblich unterscheiden. Daraus leiten sich auch an Subgruppen adaptierte Therapieansätze ab, die zunehmend zu einer Individualisierung der AML-Therapie geführt haben und in aktuellen Studien weiterentwickelt werden.

Tab. 1. WHO Klassifikation der AML (14)

Gruppe	Beschreibung
1	AML with recurrent cytogenetic abnormalities: <ul style="list-style-type: none"> - t(8;21)(q22;q22), RUNX1-RUNX1T1 - inv(16)(p13.1;q22), t(16;16)(p13.1;q22) CBFB-MYH11 - acute promyelocytic leukemia with t(15;17)(q22;q12); PML-RARA and variants <p>Definierend für eine AML unabhängig von der Blastenzahl</p>
	<ul style="list-style-type: none"> - AML with t(9;11)(p22;q23), MLLT3-MLL or other 11q23 (MLL) abnormalities - AML with t(6;9)(p23;q34), DEK-NUP214 - AML with inv(3)(q21;q26.2) oder t(3;3)(q21;q26.2), RPN1-EVI1 - AML (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13;q13), RBM15-MKL1 - provisional entities: AML with mutated NPM1, AML with mutated CEBPA <p>Definierend für eine AML nur wenn $\geq 20\%$ Blasten im Knochenmark</p>
2	AML with myelodysplasia related changes
3	Therapy-related myeloid neoplasm (t-AML)
4	Myeloid sarcoma
5	Myeloid proliferations associated with Down syndrome
6	Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm
7	AML, not otherwise specified (AML-NOS)
8	Acute leukemias of ambiguous lineage

1.1.8 Allgemeine Behandlungsstrategie

Wie bereits angedeutet, führt die überragende Bedeutung der zytogenetischen und molekularen Diagnostik mit Identifikation prognostisch unterschiedlicher Subgruppen zunehmend zu einer Individualisierung der Therapie mit risikoadaptierten Therapiestrategien, die den konventionellen Ablauf der Behandlung teilweise verlassen. Darüber hinaus bestimmen patientenbezogene Faktoren wie das Alter und die Co-Morbidität die Wahl des geeigneten Therapieregimes. Im Wesentlichen besteht die Therapie der akuten myeloischen Leukämie aus zwei Hauptphasen: Die initiale Phase umfasst die Induktionstherapie und verfolgt das Ziel einer Reduktion der Leukämiezellen mit Erreichen einer kompletten Remission ($< 5\%$ Blasten im Knochenmark). Als weltweit anerkannter Standard gilt dabei die

Kombination aus Daunorubicin als Kurzinfusion über drei Tage und einer kontinuierlichen Infusion mit Cytarabin (Ara-C) über sieben Tage. Am Tag 22 nach Therapiebeginn erfolgt die erneute Applikation der Chemotherapeutika nach gleichem Modus, was zur der Bezeichnung Doppelinduktion geführt hat. Mit diesem sogenannten „7+3“-Schema kann bei 60-80 % der Patienten eine komplette Remission erreicht werden. Nach abgeschlossener Doppelinduktion und Regeneration der normalen Hämatopoese schließt sich die zweite Hauptphase der Behandlung an: die Postremissionstherapie. Sie beinhaltet in erster Linie eine intensive Konsolidierungstherapie mit dem Ziel der endgültigen Eradikation des malignen Zellklons. Als optionale Therapiemodalitäten stehen dabei neben einer erneuten intensiven Chemotherapie mit meist drei Zyklen hochdosiertem Cytarabin auch die Hochdosistherapie mit anschließender autologer SZT oder die allogene SZT zur Verfügung. Ein weiterer Bestandteil der Postremissionstherapie kann die Erhaltungstherapie über mehrere Jahre im Anschluss an die Konsolidierungstherapie sein, wobei der routinemäßige Einsatz außerhalb von Studien nicht empfohlen wird. (15)

Die beschriebenen Therapiestrategien können nicht auf eine Unterform der AML, die sog. Promyelozytenleukämie (PML oder M3), angewendet werden. Aufgrund der abweichenden Therapieansätze auf der Basis einer weitgehend entschlüsselten molekularen Pathogenese wurden Patienten mit einer M3-Leukämie von der vorliegenden Analyse ausgeschlossen.

1.1.9 Prognose

Um die Wahrscheinlichkeit des Therapieansprechens als auch die Dauer des krankheitsfreien Überlebens von AML-Patienten vorhersagen zu können, wurden eine Reihe von krankheitsspezifischen und patientenspezifischen Prognosefaktoren identifiziert, die zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Erkrankung als Prädiktoren für das Behandlungsergebnis bedeutsam sind. Neben den zytogenetischen und molekulargenetischen Merkmalen sind zum Zeitpunkt der Diagnosestellung folgende etablierte Faktoren als prognostisch ungünstig zu bewerten: Alter > 60 Jahre, LDH > 700 U/l, Leukozyten > 100.000 / μ l, eine sekundäre AML aus einem MDS und eine therapie-assoziierte AML (t-AML). (16) (17) (18) Im weiteren Verlauf der Erkrankung ist eine Blastenpersistenz nach dem ersten Zyklus Induktionstherapie bzw. das späte Erreichen einer kompletten Remission mit einer ungünstigen Prognose assoziiert. Darüber hinaus ist die Dauer der Remission ein weiterer prognostischer Parameter mit einer

ungünstigen Situation für Patienten, die innerhalb von 6 Monaten nach Erreichen einer kompletten Remission rezidivieren. Patienten mit einer primär refraktären Erkrankung haben eine besonders schlechte Prognose.

1.2 Allogene Stammzelltransplantation

1.2.1 Grundlagen

Die allogene Stammzelltransplantation ist die Übertragung von hämatopoetischen Stammzellen eines geeigneten verwandten oder unverwandten Spenders auf einen Empfänger. Ziel des Verfahrens ist zum einen die Eradikation der malignen Grunderkrankung und zum anderen die Etablierung der Hämatopoese und des zellulären Immunsystems des Spenders im Patienten. Finden sich nach erfolgreicher Transplantation im Knochenmark und im peripheren Blut des Empfängers ausschließlich Zellen der Spenderhämatopoese, spricht man von einem kompletten Chimärismus.

Das kurative Potential der Stammzelltransplantation stützt sich auf zwei Effekte. Zum einen wird durch Vorbehandlung (Konditionierung) mittels Ganzkörperbestrahlung und/oder Chemotherapie eine hohe antileukämische Effektivität erzielt, zum anderen führt die Übertragung des Immunsystems des Spenders zu einer allogenen Immunreaktion im Empfänger mit Elimination maligner Zellen durch immunkompetente T-Lymphozyten und NK-Zellen des Spenders, was als sog. Graft-versus-Leukemia (GvL-) Effekt bezeichnet wird.

Dieser hohen therapeutischen Effektivität steht allerdings eine häufig beträchtliche therapieassoziierte Morbidität und Mortalität (*transplant related mortality*, TRM) gegenüber. Verantwortlich dafür sind drei Faktoren: Bei einem Teil der angewandten Konditionierungsprotokolle stellt die hohe Toxizität der Konditionierungsbehandlung ein beträchtliches Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko dar. Des Weiteren tragen potentiell letale Infektionen während der Aplasiephase und während der bis zu einem Jahr andauernden Rekonstitution des Immunsystems sowie die Entwicklung einer Graft versus host disease (GvHD) zur TRM bei. Im Gegensatz zum GvL-Effekt (s.o.) handelt es sich bei der GvHD um den unerwünschten Effekt der allogenen Immunreaktion, deren Auftreten von spender- und empfängerabhängigen Risikofaktoren mitbestimmt wird. Klinisch manifestiert sich die akute GvHD, die in der Regel zusammen mit oder in den Wochen nach dem Anwachsen der Spenderhämatopoese auftritt, an der Haut (meist in Form eines Erythems sowie eines

makulopapulösen Exanthems), am Darm (Diarrhoe) und Leber (Erhöhung der Cholestaseparameter). Klassischerweise wird beim Auftreten der GvHD nach dem Tag +100 ab Transplantation oder einer Persistenz der akuten GvHD bis über den Tag +100 hinaus von einer chronischen GvHD gesprochen, die prinzipiell jedes Organ befallen kann. Als Overlap-Syndrom wird das simultane Auftreten von Merkmalen einer akuten und chronischen GvHD bezeichnet. (19) (20)

1.2.2 Dosisreduzierte Konditionierung

Die klassische Vorbehandlung (Standardkonditionierung) zur allogenen Transplantation besteht aus einer hochdosierten Chemotherapie bzw. einer Ganzkörperbestrahlung in Kombination mit einer Chemotherapie. Mit dieser Behandlung wird eine hohe antitumoröse Wirkung, eine irreversible Eradikation der Hämatopoese zum „Platzschaffen“ für ein vollständiges Anwachsen (Engraftment) der Spender-Hämatopoese und eine hochgradige Immunsuppression zur Vermeidung der Abstoßung erreicht. Aufgrund der hohen Toxizität ist die Anwendung dieses Konditionierungsregimes jedoch nur auf jüngere Patienten ohne schwerwiegende Begleiterkrankungen beschränkt. In den 1990er Jahren gewann man die Erkenntnis, dass zum Anwachsen der transplantierten Stammzellen nicht die myeloablative Chemotherapie mit „Platzschaffen“ im Knochenmark des Empfängers von entscheidender Bedeutung ist, sondern vielmehr eine ausgeprägte Immunsuppression das Engraftment ermöglichen kann. (21) Auf der Basis dieser Einblicke in die immunologischen Mechanismen der allogenen Transplantation wurden in der Folge verschiedene dosisreduzierte oder nicht-myeloablative Konditionierungsprotokolle entwickelt, die die Anwendung der allogene SZT auch bei älteren komorbiden Patienten möglich machte. Die Nachteile der dosisreduzierten Konditionierung gegenüber dem klassischen Therapieregime sind ein erhöhtes Risiko für eine Transplantatabstoßung und für ein Rezidiv.

Zusammenfassend charakterisiert die verminderte Akuttoxizität und die Ausnutzung des Graft-versus-Leukemia Effektes das Therapiekonzept der dosisreduzierten Konditionierung.

1.2.3 Die allogene SZT im Therapiekonzept der AML

Die allogene Stammzelltransplantation als Therapieoption mit dem größten kurativen Potential kann grundsätzlich drei großen Gruppen von Patienten mit akuter myeloischer Leukämie angeboten werden. Die erste Gruppe umfasst Patienten mit einem primären Induktionsversagen. Die zweite Gruppe umfasst Patienten in erster kompletter Remission, die aufgrund individueller Risikofaktoren ein mittleres oder hohes Risiko für ein Rezidiv haben. Zu den etablierten Risikofaktoren zählt der Karyotyp der AML bei Diagnosestellung, der eine Eingruppierung in die drei entsprechenden Risikogruppen wie oben beschrieben erlaubt. Bei normalem Karyotyp und eigentlich intermediärer Prognose nach zytogenetischen Kriterien (s.o.) kann der Nachweis von molekularen Aberrationen die prognostische Einordnung entscheidend verändern. Die dritte Gruppe schließt Patienten jenseits der ersten kompletten Remission ein.

Allogene SZT im primären Induktionsversagen

Die allogenen SZT ist die Therapie der Wahl bei Patienten mit einer refraktären akuten myeloischen Leukämie. Unter dem Begriff refraktäre AML können Patienten mit einem primären Induktionsversagen (primary induction failure, PIF), einem Frührezidiv mit einer Dauer der ersten kompletten Remission von weniger als 6 Monaten sowie refraktäre Rezidive und Mehrfachrezidive zusammengefasst werden. (22) Weniger als 10% der Patienten mit einer refraktären AML überleben langfristig ohne eine allogene SZT, (23) was die sehr ungünstige Prognose dieser Patientengruppe verdeutlicht und die Durchführung einer Transplantation als einzige kurative Therapieoption rechtfertigt.

Allogene SZT in erster kompletter Remission

Zytogenetische Aberrationen gelten als etablierte unabhängige Prognosefaktoren mit hohem prädiktivem Wert in Bezug auf Therapieansprechen und Gesamtüberleben. Wie bereits erwähnt, können chromosomale Veränderungen drei prognostischen Gruppen mit unterschiedlichem Rezidivrisiko zugeordnet werden (siehe unter 1.1.6). Die Indikationsstellung zur allogenen SZT orientiert sich weitgehend an dieser zytogenetisch-basierten Risikostratifizierung. Für Patienten mit einer prognostisch ungünstigen Zytogenetik

besteht eine eindeutige Empfehlung zur allogenen Stammzelltransplantation in erster kompletter Remission, während Patienten mit einer Niedrigrisiko-Zytogenetik in gleicher Situation nicht von einer allogenen SZT profitieren und einer konventionellen Konsolidierungstherapie zugeführt werden sollten. (10) (24) Bei Patienten mit intermediärem Risiko und normalem Karyotyp bzw. dem Fehlen einer prognostisch relevanten Aberration liegen keine einheitlichen Empfehlungen zur allogenen SZT in erster kompletter Remission vor. An dieser Stelle orientiert sich die Indikationsstellung an nicht genetischen Risikofaktoren, die einen ungünstigen Verlauf der Erkrankung vorhersagen und den Einsatz der allogenen Stammzell-Transplantation als effektivste Therapieoption erforderlich machen. Als prognostisch ungünstig gilt dabei das Vorliegen einer therapie-assoziierten AML (t-AML), also dem Auftreten einer AML nach vorausgegangener Chemotherapie oder Radiotherapie. (25) Zwar findet sich eine auffällige Häufung von ungünstigen chromosomalen Anomalien, die wiederum eine Einordnung in die entsprechende zytogenetische Risikogruppe zulässt, aber auch ohne dem Vorliegen eines ungünstigen aberranten Karyotyps ist die t-AML durch einen aggressiven Verlauf charakterisiert, der wohl unter anderem als Folge therapie-induzierter nicht detektierbarer Schäden im Knochenmarksstroma und an anderen Organen zu erklären ist. Des Weiteren kann die Indikation zur Transplantation in erster kompletter Remission gestellt werden, wenn Patienten mehr als einen Zyklus Induktionschemotherapie zum Erreichen einer kompletten zytologischen Remission benötigen und damit ein negativer Krankheitsverlauf zu erwarten ist. (26) Vor dem Hintergrund der unterschiedlichen prognostischen Relevanz der molekularen Aberrationen wurde die Rolle der allogenen Stammzelltransplantation als Konsolidierungstherapie in erster kompletter Remission für molekular definierte Subgruppen der AML mit normalem Karyotyp untersucht. In einer großen Studie konnte gezeigt werden, dass das Vorhandensein eines verwandten Spenders für eine allogene SZT bei Patienten mit ungünstigem Genotyp (FLT3-ITD positiv/ NPM1mut oder NPM1wt/FLT3wt) das Gesamtüberleben verbessert, wohingegen die Transplantation bei günstiger Konstellation (NPM1mut/FLT3-ITD negativ) keine Vorteile im Gesamtüberleben im Vergleich zur konventionellen Chemotherapie erzielt. (12) Eine weitere Arbeit bestätigt den Vorteil der allogenen SZT als konsolidierendes Therapieverfahren in erster kompletter Remission bei Patienten mit ungünstigem Genotyp. (27)

Allogene SZT jenseits der ersten kompletten Remission

In der Rezidivsituation sollte allen Patienten mit einem verfügbaren Spender unabhängig ihrer initialen Prognosegruppe eine allogene SZT mit der höchsten Priorität angeboten werden. Während die meisten Studien den prognostischen Einfluss der molekularen Marker bei Patienten mit normalem Karyotyp in erster kompletter Remission nach absolvierter Induktionstherapie analysieren, existieren nur einige wenige Untersuchungen über die Bedeutung der molekularen Aberrationen bei Patienten im Rezidiv oder nach einem primärem Induktionsversagen, d.h. dem Persistieren der Leukämie nach zwei Zyklen Induktionstherapie. Ein gewichtiger Patientenanteil von 15% mit primären Induktionsversagen und ca. 44% mit AML-Rezidiv (12) unterstreicht die Notwendigkeit nach individuellen Therapiestrategien auf der Basis des molekularen Risikoprofils. In diesem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass ein günstiger Genotyp seine prognostische Wertigkeit sowohl in der Situation der refraktären Erkrankung als auch im Rezidiv beibehält, wenn an dieser Stelle eine antikörperhaltige Therapie angewendet wurde. (28) Für die FLT3-ITD-Mutation konnte in zwei Studien bei rezidierten Patienten der gleiche anhaltend negative Effekt auf die Prognose demonstriert werden. (29) (30) Die Rolle der allogenen Stammzelltransplantation bleibt aufgrund der begrenzten Patientenzahlen in diesen Analysen unklar, wurde doch der Großteil der Patienten mit einer Salvage-Chemotherapie behandelt.

1.2.4 Sequenzielle Konditionierung – Das FLAMSA-RIC-Protokoll

Das FLAMSA-RIC-Protokoll wurde als dosisreduziertes Konditionierungsregime bei allogener Stammzelltransplantation für Hochrisikopatienten mit AML und MDS entwickelt. (22) (31) In der vorliegenden Arbeit erfolgte die allogene SZT bei allen Patienten einheitlich nach Konditionierung mit dem FLAMSA-RIC-Protokoll im Sinne einer sequenziellen Konditionierung. Dabei kann der Therapieablauf in zwei Phasen mit jeweils unterschiedlicher Intention aufgeteilt werden:

In einer ersten Phase erhalten die Patienten zur Reduktion der vorhandenen Leukämiezellmasse über vier Tage eine Chemotherapie mit Fludarabin (30 mg/m^2), hochdosiertem AraC (2 g/m^2) und Amsacrine (100 mg/m^2): Abkürzung FLAMSA. Nach drei Tagen Therapiepause beginnt die zweite Phase, die der eigentlichen Konditionierung mit dem Ziel der Eradikation der Hämatopoese des Patienten entspricht und die Transplantation von Stammzellen zur Wiederherstellung der Blutbildung erforderlich macht. Im Gegensatz zur

traditionellen Konditionierung, bei der üblicherweise eine Ganzkörperbestrahlung (TBI) von 12 Gy mit 60 mg/kg Cyclophosphamid (Cy) kombiniert wird, erhalten die Patienten an dieser Stelle eine dosisreduzierte Variante mit 4 Gy TBI und beim Vorliegen eines verwandten Spenders eine Cyclophosphamid-Dosis von nur 40 mg/kg. Damit ist das Prinzip der dosisreduzierten Konditionierung (RIC = reduced intensity conditioning) erfüllt. Anstelle der TBI kann bei Patienten mit Kontraindikationen gegen eine Ganzkörperbestrahlung intravenöses Busulfan (8 x 0,8 mg/kg) eingesetzt werden.

Zur Prophylaxe von Abstoßung und GvHD wird vor der Transplantation über drei Tage Anti-Thymozytenglobulin (ATG) und ab dem Vortag der Transplantation Ciclosporin A (CSA) sowie ab dem Transplantationstag MMF verabreicht. Die meisten Patienten erhielten mobilisierte periphere Blutstammzellen, wobei in einigen Fällen auch Knochenmark als Stammzellquelle akzeptiert wurde.

In der Posttransplantationsphase wird gemäß dem Protokoll eine frühzeitige Reduktion bzw. ein Absetzen der immunsupprimierenden Medikamente empfohlen (ab Tag +42), sofern es die klinische Situation zulässt. Ein weiterer Bestandteil des Therapiekonzeptes ist die prophylaktische Transfusion von Spenderlymphozyten (pDLT) ab dem Tag +120 nach SZT, vorausgesetzt die Patienten erfüllen zu diesem Zeitpunkt definierte Bedingungen (keine aktive Infektion, keine medikamentöse Immunsuppression seit mindestens einem Monat und keine Zeichen einer GvHD bzw. keine stattgehabte akute GvHD Grad IV). Insgesamt sind drei DLI-Gaben mit steigender Dosierung der transfundierten Zellzahl vorgesehen. (31)

Tab. 2. Das FLAMSA-RIC-Protokoll

Tag -12 bis -9:	Fludarabine 30mg/m² + AraC 2g/m² + Amsacrine 100mg/m²	<i>Intensive Chemotherapie</i>
Tag -8 bis -6:	Pause	
Tag -5:	TBI 4 Gy	<i>Dosisreduzierte Konditionierung</i>
Tag -4 bis -3:	CY 60/40 +ATG 20/10 mg/kg	
Tag -2:	ATG 20 (10) mg/kg	
GVHD-Prophylaxe:	CSA + MMF	
Tag 0:	HSCT	
Ab Tag +42:	Schrittweise Reduktion der Immunsuppression	
Tag +90:	Absetzen der Immunsuppression	
Tag +120	Prophylaktische DLT (eskalierendes Dosierungsschema)	

2 FRAGESTELLUNG / ZIELSETZUNG

Die vorliegende Arbeit untersucht den Stellenwert der allogenen Stammzelltransplantation nach einem einheitlichen Konditionierungsprotokoll (FLAMSA-RIC) in molekulargenetisch und zytogenetisch definierten Subgruppen bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie in unterschiedlichen Krankheitsstadien. Dabei wurden zum einen Patienten mit normaler Zytogenetik und unterschiedlichen molekularen Veränderungen analysiert, zum anderen wurden Patienten mit ungünstigem Karyotyp ausgewertet. Im Mittelpunkt der Analyse standen die prognostische Bedeutung der genetischen Abberationen sowie die Effektivität des Konditionierungsprotokolls innerhalb der differenzierten Gruppen. Die erzielten Ergebnisse sollen zur Optimierung und Individualisierung der Transplantationsstrategie bei klinisch und genetisch definierten Subgruppen von Patienten mit akuter myeloischer Leukämie beitragen.

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Datenerhebung

In der vorliegenden Arbeit erhielten alle analysierten Patienten vor allogener Stammzelltransplantation eine dosisreduzierte Konditionierung nach dem FLAMSA-RIC-Regime (s.o.). Das FLAMSA-Protokoll gilt als innovatives Regime für AML- und MDS-Patienten mit erhöhtem Risiko. (31) (22) Nach der Entwicklung des Protokolls Ende der neunziger Jahre begann die systematische Registrierung von Patienten, die nach diesem Therapieregime behandelt und allogent transplantiert wurden. Der Datensatz umfasst inzwischen über 700 Patienten aus 16 europäischen Transplantationszentren. Für die Fragestellungen der vorliegenden Arbeit wurden aus diesem Kollektiv entsprechende Patienten ausgewählt, die die definierten Kriterien erfüllten und darüber hinaus in relevanten Eigenschaften charakterisiert waren. In einem weiteren Schritt wurden Krankenakten und Arztbriefe ausgewertet, gezielt fehlende Detailangaben bei den behandelnden Transplantationszentren erfragt und original Genetik- und Chimärismusbefunde durch persönliche Besuche und direktem Kontakt mit den behandelnden Ärzten erhoben. Die Patienten waren vor Transplantation von ihren behandelnden Ärzten über die Weitergabe ihrer Daten an das Register aufgeklärt worden und hatten ihr schriftliches Einverständnis erteilt.

3.2 Definitionen

In beiden Analysen wurden folgende Definitionen und Klassifikationen verwendet: (15) (32)

Stadium bei Transplantation

Komplette Remission:

Blastenanteil im Knochenmark < 5%, Normozellularität in allen drei Zellreihen; im peripheren Blut Neutrophile $\geq 1500/\mu\text{l}$, Thrombozyten $\geq 100\ 000/\mu\text{l}$; keine extramedulläre Manifestation der AML

Primäres Induktionsversagen:

Definiert durch eine Blastenpersistenz im Knochenmark >5% oder Nachweis von Blasten im peripheren Blut nach entweder zwei Zyklen konventioneller Induktions-Chemotherapie oder nach einer Induktions-Chemotherapie einschließlich mindestens einem Kurs Hochdosis AraC (> 1g/m²)

Rezidiv:

Wiederauftreten von Blasten im peripheren Blut und/oder >5% Blasten im Knochenmark sowie jede neue extramedulläre Infiltration

Refraktäres Rezidiv:

Zirkulierende Blasten im peripheren Blut oder >5% Blasten im Knochenmark nach mindestens einem Kurs Salvage-Chemotherapie

Transplantation

Akute und chronische GvHD:

Klassifikation gemäß den Kriterien von Sullivan et al. (33)

Tag des Engraftments:

Erster von zwei aufeinanderfolgenden Tagen mit einer Neutrophilenzahl von über 500 /µl Blut bzw. erster von drei aufeinanderfolgenden Tagen mit einer Thrombozytenzahl von über 20 G/l im peripheren Blut

Transplantations-bedingte Sterblichkeit:

Zur Einschätzung der transplantations-bedingten Mortalität wurde der EBMT-Risikoscore verwendet. (34) Dabei werden das Krankheitsstadium, das Alter des Patienten, das Zeitintervall von Diagnose bis zur Transplantation, das Ausmaß der Histokompatibilität sowie die Geschlechtskombination von Spender und Empfänger in einem Punktesystem verwertet und daraus ein Score errechnet, der eine Aussage über die zu erwartende behandlungs-bedingte Mortalität erlaubt

Therapieansprechen und Überleben

Komplette hämatologische Remission nach Transplantation:

<5% Blasten ohne Zeichen von Dysplasie im Knochenmark sowie > 1500 Neutrophile/ul im peripheren Blut (auf die Bedingung einer vollständigen Regeneration der Thrombopoese wurde verzichtet, da diese durch Faktoren wie GvHD, Viren oder Medikamentennebenwirkung primär oder sekundär behindert werden kann)

Gesamtüberleben:

Synonym: Overall survival (OS). Intervall von Transplantations- bis zum Todesdatum bzw. bis zum Datum des letzten Kontaktes

Leukämie-freies Überleben:

Synonym: Leukemia-free survival (LFS). Intervall von Transplantations- bis zum Rezidiv- bzw. Todesdatum

Nicht-leukämieassoziierte Mortalität:

Synonym: Non-relapse Mortality (NRM). Tod ohne Hinweise auf eine aktive Leukämie als Ursache

Leukämieassoziierte Mortalität:

Synonym: Leukemia-associated death (LAD). Tod durch persistierende Leukämie nach Transplantation oder im Rezidiv nach Transplantation

An Tag +30 nach allogener SZT erfolgte bei allen Patienten die erste Evaluierung des Therapieansprechens einschließlich der Bestimmung des Chimärismus aus dem Knochenmark.

Zytogenetische und molekulargenetische Analyse

Die zytogenetische Charakterisierung der Chromosomen erfolgte nach standardisierten Methoden (35). Dabei wurde die Nomenklatur entsprechend des „International System for Human Cytogenetic Nomenclature“ (ISCN, Basel, 2009) verwendet. (36) Zur Identifikation molekularer Aberrationen kamen entsprechende Analysetechniken zum Einsatz, die am jeweiligen Zentrum als Standard etabliert waren und den allgemeinen Empfehlungen entsprachen. (12) (37) (38) (39)

3.3 Statistik

Die kumulativen Inzidenzen für die leukämie-assoziierte Mortalität (leukemia-associated death, LAD) und für die Nicht-leukämie-assoziierte Mortalität (Non-relapse Mortality, NRM) wurden durch Kaplan-Meier-Analyse simultan kalkuliert und mittels log-rank Test zwischen den unterschiedlichen Risikofaktoren verglichen. Das Gesamtüberleben (overall survival, OS) wurde vom Tag der Transplantation bis zum Todestag oder dem Tag des letzten follow-up, und das Leukämie-freie Überleben (leukemia free survival, LFS) vom Tag der Transplantation bis zum Tag des Rezidivs oder bis zum Todestag in Remission berechnet. OS und LFS wurde mit der Kaplan-Meier Methode abgeschätzt. Risikofaktoren für time-to-event Variablen wurden mittels log rank Test (univariate Analysen) und einem Cox proportional regression model (multivariate Analysen) analysiert. Zur Datenanalyse kam das Statistikprogramm SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) zum Einsatz.

4 ERGEBNISSE

4.1 Ergebnisse molekular definierter Subgruppen von Patienten mit normalem Karyotyp

Es konnten 141 Patienten (medianes Alter 51,0, 18,4 - 69,3 Jahre) mit normalem Karyotyp und bekanntem Mutationsstatus für NPM1 und FLT3 in die Analyse eingeschlossen werden. Abhängig vom Krankheitsstadium wurden die Patienten in vier Subgruppen aufgeteilt: 40 Patienten wurden im primären Induktionsversagen (PIF) und 101 Patienten jenseits der ersten kompletten Remission transplantiert. Die zuletzt genannte Gruppe umfasst 51 Patienten mit erstem unbehandeltem Rezidiv, 39 mit refraktärem Rezidiv und 11 Patienten in zweiter kompletter Remission zum Zeitpunkt der Transplantation. Insgesamt hatten 14 Patienten einen günstigen und 127 einen ungünstigen Genotyp (Tabelle 3). Zum Vergleich dienten 36 Patienten mit normalem Karyotyp, die in erster kompletter Remission transplantiert wurden (Indikationen für eine allogene SZT in CR1 innerhalb der Vergleichsgruppe sind unter der Tabelle 3 aufgeführt).

Tab. 3. Patientencharakteristika von 141 Patienten mit normalem Karyotyp, die im primären Induktionsversagen (PIF) oder jenseits der ersten kompletten Remission allogene transplantiert wurden. Zum Vergleich sind 36 Patienten mit allogener SZT in erster kompletter Remission aufgeführt

		Total	PIF	Firstuntreated relapse*	First refractory relapse	CR2	CR1**
number	<i>n</i>	141	40	51	39	11	36
age	<i>(y, median, range)</i>	51(18-69)	45 (18-66)	54(23-68)	49 (22-68)	48 (22-69)	50 (24-68)
Patient sex	<i>male</i>	70	26	20	18	6	16
	<i>female</i>	71	14	31	21	5	20
Donor sex	<i>male</i>	72	18	33	15	6	19
	<i>female</i>	51	16	14	16	5	15
	<i>missing</i>	18	6	4	8	0	2
donor type	<i>HLA id</i>	38	10	18	9	1	16
	<i>mismatched family</i>	3	0	2	1	0	0
	<i>matched unrelated</i>	72	17	24	23	8	14
	<i>mismatched unrelated</i>	28	13	7	6	2	6
molecular subgroups	<i>NPM1^{mut}/FLT3wt</i>	13	3	3	7	0	8
	<i>NPM1mut/FLT3mut</i>	18	3	11	3	1	9
	<i>NPM1wt/FLT3mut</i>	33	9	12	11	1	8
	<i>NPM1wt/FLT3wt</i>	77	25	25	18	9	11
courses of conventional chemotherapy prior to SCT	<i>1</i>	7	3	1	2	0	4
	<i>2</i>	45	29	16	0	0	19
	<i>3</i>	24	6	13	5	1	10
	<i>4</i>	22	2	11	7	2	1
	<i>>4</i>	39	0	6	25	8	0
	<i>missing</i>	4	0	4	0	0	2

Fortsetzung Tabelle 3

CMV serostatus (pt/don)	<i>neg / neg</i>	35	10	15	5	5	12
	<i>pos / neg</i>	33	10	11	8	4	5
	<i>neg / pos</i>	8	3	3	2	0	3
	<i>pos / pos</i>	58	15	19	23	2	14
	<i>missing</i>	7	2	3	1	0	2
circulating blasts	<i>no; n (%)</i>	51 (44%)	16 (46%)	14 (38%)	10 (29%)	11 (100%)	36 (100%)
	<i>yes; n (%)</i>	66 (56%)	19 (54%)	23 (62%)	24 (71%)	0	0
	<i>% blasts in BM, median (range)</i>	13% (1-98)	2% (2-89)	5% (1-76)	6,5% (1-98)	n.a.	n.a.
	<i>missing; n</i>	24	5	14	5	0	0
	<i>%, median (range)</i>	13 (0-100)	16 (4-90)	30 (4-100)	50 (3-95)	<5%	n.a.
Bone marrow blasts	<i>missing</i>	13	1	6	6	0	0
Duration of CR1	<i>days, median (range)</i>		n.a.	185; (37-1553)	240; (59-762)	426; (31-1046)	n.a.
EBMT risk score⁽³⁴⁾	<i>1</i>	0	0	0	0	0	4
	<i>2</i>	0	0	0	0	0	13
	<i>3</i>	5	0	2	1	2	14
	<i>4</i>	36	13	14	7	2	4
	<i>>4</i>	97	27	34	29	7	0
	<i>missing</i>	4	0	1	2	0	1
Conditioning***	<i>FLAMSA-4Gy-Cy; no(%)</i>	121 (86%)	36 (10%)	39 (80%)	36 (92%)	10 (91%)	28 (78%)
	<i>FLAMSA-Bu8-Cy; no (%)</i>	20 (14%)	4 (10%)	12 (20%)	3 (8%)	1 (9%)	8 (22%)
CD34+ cells / kg ****	<i>10⁶ CD34+/kg, (range)</i>	7,1; (1,1-34,6)	7,2; (2,2-15,3)	7,0; (3,0-34,6)	6,8; (2,6-20,0)	7,2; (2,3-15,3)	6,7; (1,1-12,7)

* 10 patients had received lowdose AraC for control of leukemic proliferation during preparation for alloHSCT

** Among patients transplanted in CR1, 5 had standard risk CN-AML, 31 had been assigned to the FLAMSA-RIC regimen because of the following conditions defining increased risk: Delayed response or incomplete CR after induction (n=15), molecular relapse (n=1), detection of FLT3-ITD (was regarded as independent risk factor by several centers, n=11), tAML (n=2) and extramedullary AML (n=1).

*** Gy, Gray; Bu, i.v. Busulfan; Cy, Cyclophosphamide****data restricted to PBSC recipients

Therapieansprechen

Nach allogener SZT erreichten 127 von 141 Patienten (90%) eine komplette Remission, ohne Unterschiede in Bezug auf Genotyp oder Stadium bei Transplantation. Sieben Patienten (5%) starben in einer anhaltenden Aplasie und zeigten eine refraktäre Erkrankung nach HSCT. Das Engraftment von Neutrophilen und Thrombozyten wurde im Median nach 16 Tagen erreicht.

Überleben

Die mediane Nachbeobachtungszeit unter 67 Überlebenden lag bei 36 Monaten. Das Gesamtüberleben (*overall survival*, OS) nach einem, zwei und vier Jahren lag bei $64\pm 4\%$, $53\pm 4\%$ und $44\pm 5\%$, das entsprechende Leukämie-freie Überleben (*leukemia free survival*, LFS) bei $58\pm 4\%$, $48\pm 4\%$ und $40\pm 4\%$. Für Patienten, die im primärem Induktionsversagen transplantiert wurden, zeigte sich ein statistisch signifikanter Vorteil im Gesamt- und Leukämie-freiem Überleben im Vergleich zur Gruppe der Patienten, die jenseits der ersten kompletten Remission einer Transplantation zugeführt wurden ($p=0.013$, $HR=2.097$, $95\%CI=1.17-3.759$ für das Gesamtüberleben, $p=0.017$, $HR: 1.997$, $95\%CI=1.131-3.525$ für das LFS; Abb. 2a+b). Unter allen transplantierten Patienten, die ein initiales Therapieansprechen im Sinne einer kompletten Remission erreichten, rezidierten 34 (27%). Dabei betrug die kumulative Inzidenz der leukämie- und der nicht-leukämie-assoziierten Mortalität (LAD bzw. NRM) an Tag +100 $5\pm 2\%$ bzw. $8\pm 2\%$ und nach zwei Jahren $28\pm 4\%$ bzw. $18\pm 3\%$ (Abb. 3). Die Ursachen für die NRM waren Infektionen ($n=16$), akute oder chronische GvHD ($n=5$), GvHD mit Infektion ($n=4$) und andere Komplikationen ($n=6$). Eine akute GvHD der Grade I, II, III und IV wurde in 30%, 16%, 8% und 6% der Patienten dokumentiert. Dabei war eine akute GvHD der Grade III und IV mit einer statistisch signifikant höheren NRM ($p=0,011$) und ebenso einem schlechteren Gesamtüberleben ($p=0,004$) assoziiert. Unter den lebenden Patienten ab Tag +100 nach Transplantation entwickelten 24% eine chronische GvHD vom begrenzten (limited) Typ, während sich bei 22 % eine ausgeprägte (extensive) Form manifestierte. Grundsätzlich war das Auftreten einer chronischen GvHD mit einer reduzierten Rezidivrate ($p=0,034$), einer niedrigeren Inzidenz von leukämie-assoziierten Todesfällen ($p=0,001$) und einem längerem Gesamtüberleben ($p=0,01$) assoziiert. Die negativen bzw. positiven Effekte der aGvHD und der cGvHD blieben ohne signifikante Unterschiede in jedem Krankheitsstadium und innerhalb der unterschiedlichen molekularen Subgruppen erhalten.

Abb. 2a+b. Gesamtüberleben (OS) und Leukämie-freies Überleben (LFS) nach allogener SZT für Patienten mit CN-AML in Abhängigkeit vom Stadium bei Transplantation. Patienten im primärem Induktionsversagen (PIF) erreichten ein überlegendes OS ($p=0.013$) und LFS ($p=0.017$) verglichen mit Patienten, die jenseits der ersten kompletten Remission ($> CR1$) transplantiert wurden. Zum Vergleich dienten Patienten mit Transplantation in erster kompletter Remission (CR1)

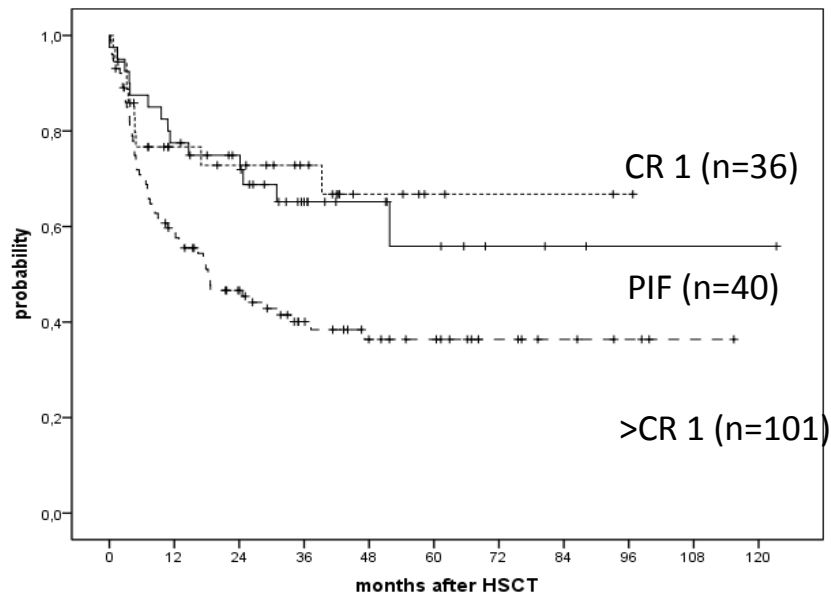


Abb. 2a. Gesamtüberleben (OS)

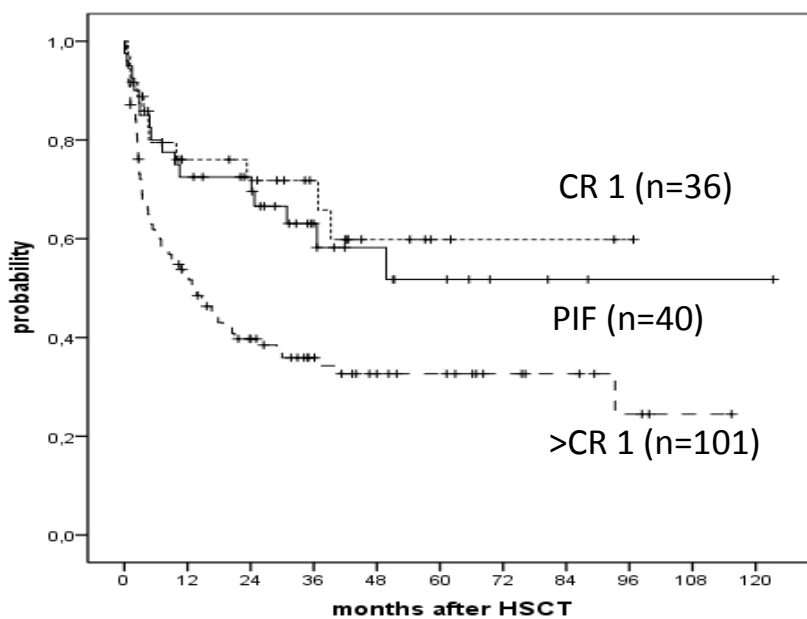


Abb. 2b. Leukämie-freies Überleben (LFS)

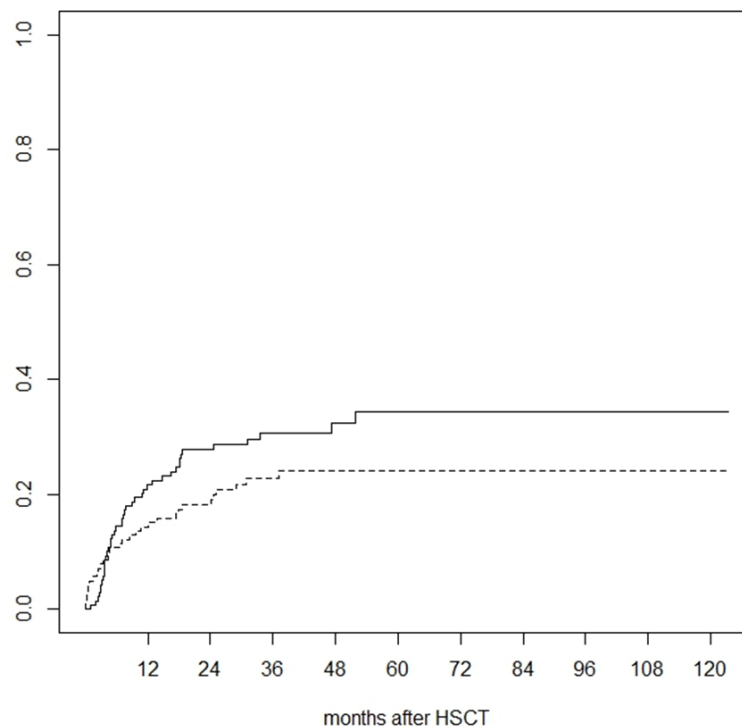


Abb. 3. Kumulative Inzidenz von leukämie-assoziiertem Tod (LAD - durchgezogene Kurve) und nicht-leukämie-assoziiertem Tod (NRM – gestrichelte Kurve) bei 141 Patienten mit fortgeschrittener CN-AML

Prophylaktische Spender-Lymphozytentransfusion (pDLT)

34 Patienten der Gesamtkohorte (24%) erfüllten die Voraussetzungen für eine adoptive Immuntherapie im Sinne einer Transfusion von Spenderlymphozyten (DLT). Obwohl die DLT-Gabe protokollgemäß ab dem Tag +120 vorgesehen war, verzögerte sich bei den meisten Patienten die erste Applikation, da die geforderten Kriterien zu diesem Zeitpunkt noch nicht erfüllt waren. So betrug die Zeit zwischen dem Tag der Transplantation und der ersten DLT-Gabe im Median 178 Tage. 13 Patienten erhielten eine, sechs erhielten zwei und 15 Patienten erhielten drei Transfusionen. Für die erste, zweite und dritte Spenderlymphozytengabe wurden jeweils 1×10^6 , 5×10^6 und 1×10^7 CD3-positive Zellen / kg Körpergewicht in vierwöchigem Abstand transfundiert (eskalierende Dosisstufen). Die Entwicklung einer chronischen GvHD und ein Rezidiv waren die Hauptgründe für weniger als die vorgesehenen drei DLT-Gaben. Ein Leukämie rezidiv trat bei 9 Patienten auf, wobei alle Betroffenen im weiteren Verlauf an der Erkrankung verstarben. Ein Patient verstarb an einer Infektion 15 Monate nach DLT-Gabe, ein weiterer Patient erlag 30 Monate nach Transfusion an den Folgen

einer GvHD. Zum Zeitpunkt des letzten follow-up lebten noch 23 Patienten. Das mediane Gesamtüberleben der mit DLT behandelten Patienten betrug 37 Monate (8-123), das Leukämie-freie Überleben 37 Monate (5-123). Die Entwicklung einer GvHD war die wichtigste Komplikation, wobei 8 von 27 Patienten mit einer DLT-induzierten akuten GvHD \geq II° und/oder einer chronischen GvHD betroffen waren. Unter den 72 lebenden Patienten zum Zeitpunkt +120 Tage nach Transplantation wurden folgende Gründe gegen den Einsatz der Spenderlymphozyten angegeben: Bei 36 Patienten lag eine überstandene akute GvHD \geq III° oder eine persistierende akute GvHD vor, zwei Patienten standen unter kontinuierlicher Immunsuppression, in drei Fällen verweigerte der Spender oder der Empfänger eine DLT, vier Patienten litten an einer aktiven Infektion und drei Patienten waren aufgrund transplantationsbedingter Komplikationen nicht für eine Transfusion mit Spenderlymphozyten geeignet. Des Weiteren wurden 13 Patienten im Rezidiv mit einer alternativen Methode behandelt. Bei 11 Patienten konnten keine Gründe evaluiert werden.

Detaillierte Analyse der Transplantation im primären Induktionsversagen

Unter den 40 Patienten, die die Definition für ein primäres Induktionsversagen (PIF) erfüllten (s.o.), erhielten acht zwei Zyklen einer konventionellen Induktionstherapie, drei Patienten wurden mit einem Kurs einer Hochdosis-AraC-basierten Chemotherapie behandelt und 29 erhielten mehr als einen Zyklus Chemotherapie einschließlich mindestens einem hochdosis-AraC-basiertem Protokoll. Vor Beginn der reduzierten Konditionierung nach dem FLAMSA-RIC-Regime wurden im Median zwei Zyklen Chemotherapie appliziert. Zum Auftakt der Konditionierungstherapie konnte bei 59% der Patienten zirkulierende Blasten im peripheren Blut nachgewiesen werden (Median 22%; 2%-89%), der mediane Blastenanteil im Knochenmark lag zu diesem Zeitpunkt bei 15,5% (4%-90%). Nach allogener SZT verstarb ein Patient in der Aplasie, ein weiterer an den Folgen der persistierenden AML. 38 Patienten zeigten ein initiales Ansprechen nach allogener SZT im Sinne des Erreichens einer kompletten zytologischen Remission. Davon rezidierten 8 Patienten nach einem medianen Zeitraum von 7,8 Monaten (1,9-49,8) nach Transplantation. Das Gesamtüberleben nach zwei und vier Jahren nach Transplantation lag bei $69 \pm 7\%$ bzw. $68 \pm 7\%$ und das Leukämie-freie Überleben bei $63 \pm 8\%$ bzw. $58 \pm 9\%$. Diesbezüglich annähernd gleiche Ergebnisse erreichten Patienten, die in erster kompletter Remission transplantiert wurden (Abb. 2a+b). Des Weiteren konnten keine Unterschiede im Outcome zwischen Patienten mit oder ohne Hochdosis-AraC in der

Induktionstherapie vor Konditionierung beobachtet werden. Die kumulative Inzidenz der leukämiebedingten Mortalität ($15\pm 6\%$) und der Non-relapse Mortality ($10\pm 5\%$) blieb niedrig. In der Gruppe der Patienten mit primärem Induktionsversagen erhielten 13 Patienten eine prophylaktische Spenderlymphozytentransfusion, wovon lediglich einer rezidierte. Das Vier-Jahres Gesamtüberleben der mit DLT behandelten Patienten betrug in dieser Gruppe 93%.

Von den 40 Patienten, die im primären Induktionsversagen transplantiert wurden, zeigten nur drei einen günstigen Genotyp, weshalb diese kleine Subgruppe von einer ausführlichen Analyse ausgeschlossen wurde. Dagegen konnte der überwiegende Anteil der Patienten der prognostisch ungünstigen Gruppe zugeordnet werden. So wurde bei 37 Patienten entweder eine FLT3-ITD-Mutation mit oder ohne mutierten NPM1-Status oder ein doppelt negativer Genotyp ($\text{NPM1}^{\text{wt}}/\text{FLT2}^{\text{wt}}$) nachgewiesen. Es zeigte sich ein Trend zum besseren Gesamtüberleben bei Patienten ohne mutiertem FLT3-ITD-Status (Gesamtüberleben nach 2 Jahren: $80\pm 9\%$ vs. $55\pm 15\%$, $p=0,101$, HR: 2,552, 95%-Konfidenzintervall: 0,821-7,923) und bei Patienten ohne zirkulierende Blasten im peripheren Blut zum Zeitpunkt des Beginns der Konditionierungstherapie (Gesamtüberleben nach 2 Jahren: 97% vs. 61% , $p=0,17$, HR: 2,298, 95%-Konfidenzintervall: 0,704-7,507). Dagegen hatte das Geschlecht des Spenders und Empfängers, der Spendertyp, der CMV-Status, der EBMT risk score, der prozentuale Blastenanteil im Knochenmark vor Konditionierungsbeginn und die Höhe der CD34-positiven Zellen im Transplantat keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Outcome.

Detaillierte Analyse der Transplantation jenseits der ersten kompletten Remission

Insgesamt 101 Patienten wurden jenseits der ersten kompletten Remission transplantiert. OS und LFS lagen zwei Jahre nach Transplantation bei $45\pm 5\%$ bzw. $40\pm 5\%$ und vier Jahre nach Transplantation bei $36\pm 5\%$ bzw. $33\pm 5\%$ (Abb. 2a+b). Im Vergleich zur Transplantation in erster kompletter Remission oder im primären Induktionsversagen wurden erhöhte Raten an leukämie-assoziierten Mortalität ($41\pm 6\%$) und an NRM ($33\pm 6\%$) gesehen, was zusammengenommen für das schlechtere Outcome in dieser Kohorte verantwortlich gemacht werden konnte. In der Subgruppenanalyse zeigten sich divergierende Ergebnisse bezüglich des Langzeitüberlebens. Patienten, die in zweiter kompletter Remission (CR2) transplantiert wurden, zeigten exzellente Überlebensraten (OS 73%), während das Outcome von im Rezidiv und im refraktären Rezidiv transplantierten Patienten signifikant unterlegen war ($p=0,07$, HR 2,972, 95%-Konfidenzintervall: 0,941-9,371; Abb. 4a).

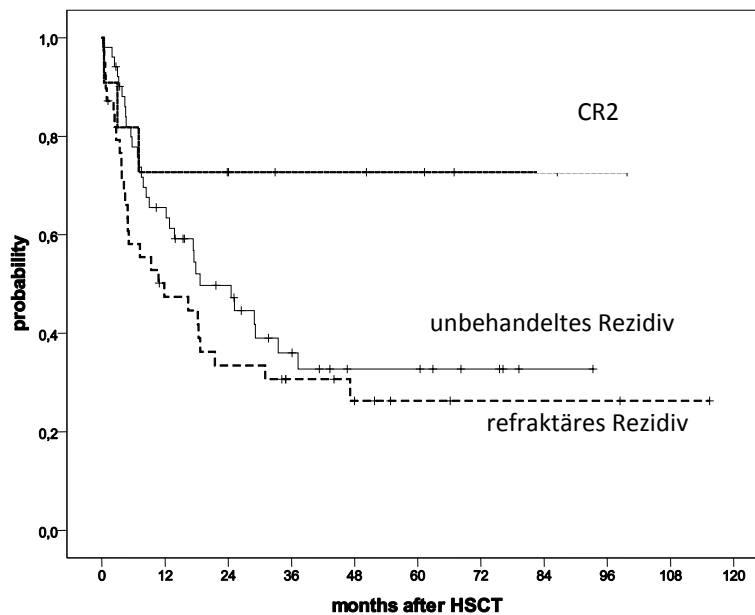


Abb. 4a. Gesamtüberleben von Patienten, die jenseits der ersten kompletten Remission transplantiert wurden. Einfluss des Stadiums bei Transplantation

Zum Zeitpunkt des Beginns der Konditionierungstherapie konnten signifikante Unterschiede in Bezug auf Patientencharakteristika zwischen den molekularen Subgruppen gefunden werden (Tabelle 4). So zeigten sich bei Patienten mit günstigem Genotyp ($\text{NPM1}^{\text{mut}}/\text{FLT3}^{\text{wt}}$) eine längere Remissionsdauer und weniger zirkulierende Blasten. Innerhalb der Subgruppe mit ungünstigem Genotyp waren die Charakteristika der Patienten mit einem doppelt negativen Mutationsstatus ($\text{NPM1}^{\text{wt}}/\text{FLT3}^{\text{wt}}$) vergleichbar mit denen der günstigen Prognosegruppe, ausgenommen eine kürzere Remissionsdauer (median: 9 vs. 12 Monate). Im Gegensatz dazu war das Vorhandensein einer FLT3-ITD Mutation unabhängig vom NPM1-Status mit einer kürzeren Remissionsdauer und einer höheren Zahl an Blasten im Knochenmark und im peripheren Blut assoziiert.

Tab. 4. Charakteristika von Patienten der unterschiedlichen molekularen Subgruppen zum Zeitpunkt des Rezidivs und bei Transplantation, die jenseits der ersten kompletten Remission transplantiert wurden.

		favorable genotype		unfavorable genotype	
		NPM1 ^{mut} /FLT3 ^{wt}	FLT3-ITD +/-NPM1 ^{mut}	NPM1 ^{wt} /FLT3 ^{wt}	p
n	Total: 101	11	38	52	
remission duration	median/range (d)	360 (191-1551)	141 (31-822)	284 (53-1065)	0,000
	<3 months;n (%)	-	16 (45%)	6 (13%)	
	3-6 months n (%)	-	7 (19%)	6 (13%)	
	>6 months n (%)	9 (100%)	13 (36%)	35 (74%)	
	missing (n)	2	2	5	
circulating blasts	no; n (%)	5 (56%)	3 (10%)	23 (56%)	0,000
	yes; n (%)	4 (44%)	26 (19%)	18 (44%)	
	median/range (%)	32 (1-91)	19 (1-96)	6 (1-98)	
	missing (n)	2	9	11	
Blasts in BM	median/range (%)	17 (0-91)	49 (0-90)	16,5 (0-100)	0,032
	<20%; n (%)	5 (56%)	9 (25%)	23 (52%)	
	>=20%; n (%)	4 (44%)	27 (75%)	21 (48%)	
	missing (n)	2	2	8	
donor	HLA id sibling; n (%)	3 (27%)	15 (39%)	10 (20%)	0,485
	1 AG mm sibling;n (%)	-	1 (3%)	-	
	MUD; n (%)	7 (63%)	16 (42%)	33 (65%)	
	1 AG mMUD; n (%)	-	6 (16%)	8 (16%)	
stage at HSCT	untreated first relapse	3 (27%)	23 (61%)	25 (48%)	0,078
	refractory first relapse	7(64%)	14 (37%)	18 (35%)	
	CR2	1 (9%)	1 (2%)	9 (17%)	

In Bezug auf das Gesamtüberleben erreichten Patienten mit einem günstigen Genotyp ein besseres Ergebnis im Vergleich zu Patienten mit ungünstigem Genotyp (Zwei-Jahres Gesamtüberleben: 80,8% vs. 41,9%; $p=0,031$, HR: 0,239, 95%-Konfidenzintervall: 0,058-0,979). Dagegen wurden innerhalb der Gruppe von Patienten mit ungünstigem Genotyp (NPM1wt/FLT3wt und FLT3-ITD mit oder ohne NPM1-Mutation) vergleichbare Ergebnisse im Gesamtüberleben erzielt ($p=0,360$, HR: 1,278, 95%-Konfidenzintervall: 0,756-2,163; Abb. 4b), und das, obwohl sich die Patienten zum Zeitpunkt des Beginns der Konditionierung in ihren klinischen Eigenschaften teilweise signifikant unterschieden.

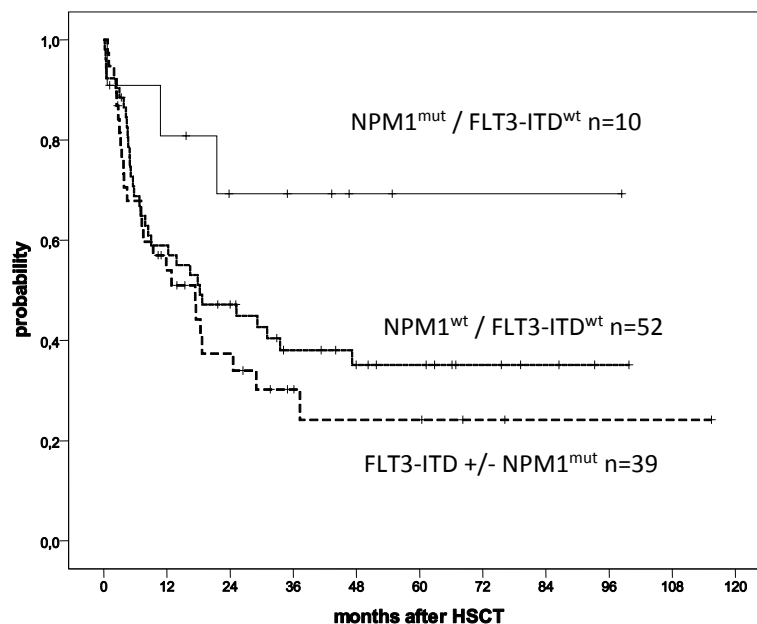


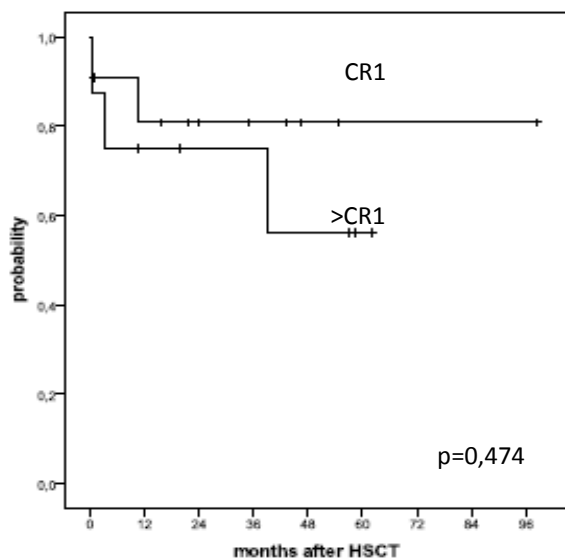
Abb. 4b. Gesamtüberleben von Patienten, die jenseits der ersten kompletten Remission transplantiert wurden. Einfluss der molekularen Subgruppen

In einer multivariaten Analyse waren drei Faktoren signifikant mit einem besseren Gesamtüberleben ab der Transplantation assoziiert: Eine Remissionsdauer länger als 6 Monate vor Transplantation ($p=0,042$), die molekulare Subgruppe (günstig vs. ungünstig, $p=0,033$) und die Zahl der CD-34-positiven Zellen im Transplantat oberhalb des Median von $6,8 \times 10^6/\text{kg KG}$ ($p=0,053$). Dagegen zeigten Geschlecht und Alter des Patienten und des Spenders, Spendertyp, CMV-Status und der EBMT-Risiko-Score keinen signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben. Eine prophylaktische Spenderlymphozytengabe erhielten 22 Patienten (22%), wobei keine Unterschiede zwischen den molekularen Subgruppen gesehen wurde. Acht Patienten, die DLI erhielten, rezidierten nach einem Median von 23 Monaten

nach Transplantation. Das 4-Jahres-Gesamtüberleben aller DLI-Empfänger, die jenseits der ersten kompletten Remission transplantiert wurden betrug 51%.

Vergleicht man die Ergebnisse der Patienten aus der Gruppe jenseits der ersten kompletten Remission mit denen, die in erster kompletter Remission einer Transplantation zugeführt wurden, zeigte sich für Patienten mit einem günstigen Genotyp kein signifikanter Unterschied im Gesamtüberleben ($p=0,474$, HR:0,724, 95%-Konfidenzintervall: 0,295-1,774). Dagegen waren Patienten mit einem ungünstigen Genotyp in Bezug auf das Gesamtüberleben signifikant unterlegen, wenn eine Transplantation jenseits der ersten kompletten Remission durchgeführt wurde ($p=0,012$, HR:1,651, 95%-Konfidenzintervall: 1,115-2,445; Abb. 5a+b).

5a



5b

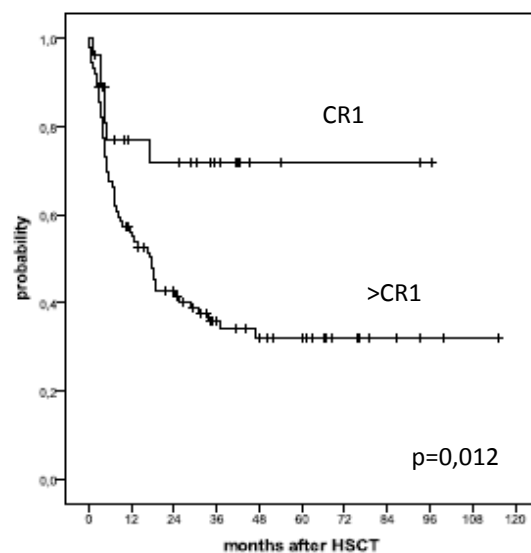


Abb. 5a+b. Gesamtüberleben im Vergleich zwischen Transplantation in erster kompletter Remission (CR1) und jenseits der ersten kompletten Remission (>CR1) bei Patienten mit (a) günstigen Genotyp und (b) mit ungünstigem Genotyp

4.2 Ergebnisse von Patienten mit Hochrisiko-Zytogenetik

Im Rahmen der zweiten Analyse wurden 173 Patienten mit AML und MDS und einer Hochrisiko Zytogenetik (s.o.) untersucht, die im Zeitraum zwischen 1999 und 2008 ebenfalls nach einheitlicher Konditionierung mit dem FLAMSA-RIC-Protokoll allogot transplantiert wurden.

Das mediane Alter zum Zeitpunkt der Diagnosestellung betrug 53 Jahre (18-71) bei nahezu ausgeglichenem Geschlechterverhältnis (88 männliche und 85 weibliche Patienten).

Die Diagnosen im Einzelnen verteilten sich wie folgt auf das Gesamtkollektiv:

De novo AML	n=85 (49%)
Progredientes MDS	n=23(13%)
Sekundäre AML aus MDS oder MPS	n=48(28%)
Therapie-assoziierte AML (t-AML)	n=17(10%)

Zum Zeitpunkt der Transplantation wurden folgende Krankheitsstadien im Einzelnen erfasst:

Unbehandelte Erkrankung	n=33(19%)
Primäres Induktionsversagen	n=59(34%)
Erste komplette Remission	n=33(19%)
Rezidierte Erkrankung	n=48(28%)

Das Spenderkollektiv setzte sich wie folgt zusammen:

HLA-identischer Familienspender	n=55(32%)
Partiell HLA-identer Familienspender	n=2(1%)
HLA-identer Fremdspender	n=88(51%)
Partiell HLA-identer Fremdspender	n=28(16%)

Folgende zytogenetische Aberrationen waren nachweisbar:

Komplex aberranter Karyotyp	n=98
-5 / 5q- außerhalb eines komplexen Karyotyps (nur AML)	n=12
-7 / 7q- außerhalb eines komplexen Karyotyps	n=43
Sonstige ungünstige Aberrationen	n=20

Die Dauer vom Zeitpunkt der Diagnosestellung bis zur Transplantation betrug im Median 4,6 Monate. Das Gesamtüberleben vom Zeitpunkt der Transplantation lag nach zwei und vier Jahren bei 41% und 32%, das entsprechende Leukämie-freie Überleben bei 36% und 28% (Abb. 6). Nach einer medianen Beobachtungszeit von 3,5 Jahren lebten noch 69 Patienten (40%). Die Todesursache war bei 61% der Verstorbenen krankheits-assoziiert im Sinne einer rezidierten oder refraktären Grunderkrankung. In dieser Gruppe verstarben die Patienten nach einem Median von acht Monaten nach Transplantation. Bei 39% der Verstorbenen fand sich dagegen eine therapie-assoziierte Todesursache. Dabei betrug die mediane Zeit vom Tag der Transplantation bis zum Sterbezeitpunkt nur drei Monate.

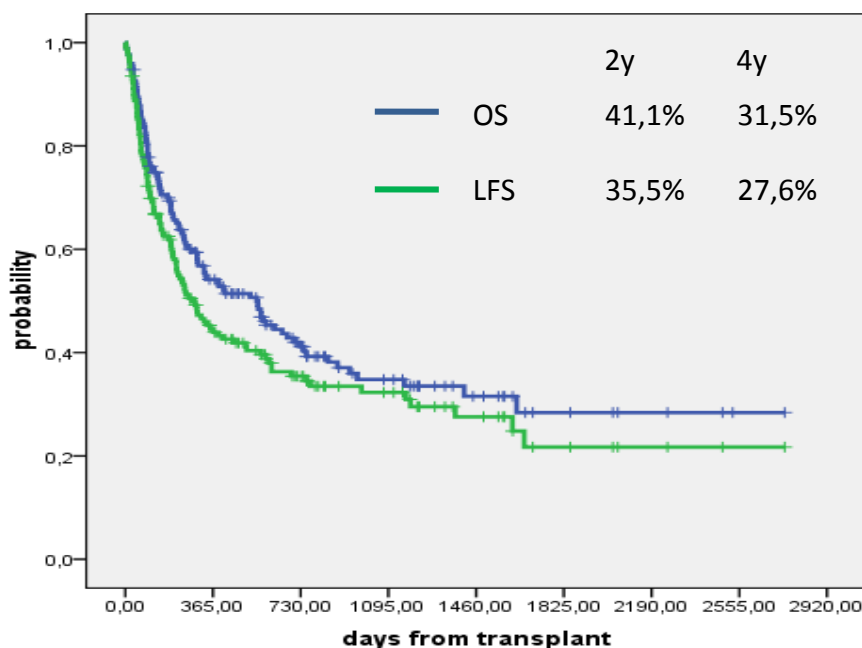


Abb. 6. Gesamtüberleben (OS) und Leukämie-freies Überleben (LFS) der gesamten Kohorte (n=173)

In der weiteren Detailanalyse wurden zunächst Patienten mit einem MDS (n=23) und einer sekundären AML aus einem MDS (n=44) bezüglich Gesamtüberleben (OS) verglichen. Dabei zeigte sich ein statistisch signifikanter Überlebensvorteil für Patienten mit einem MDS. Das Gesamtüberleben zwei Jahre nach Transplantation betrug knapp 57%, während Patienten mit einer sekundären AML aus MDS ein Zwei-Jahres-Überleben von nur 26% erreichten (p=0,016; Abb. 7).

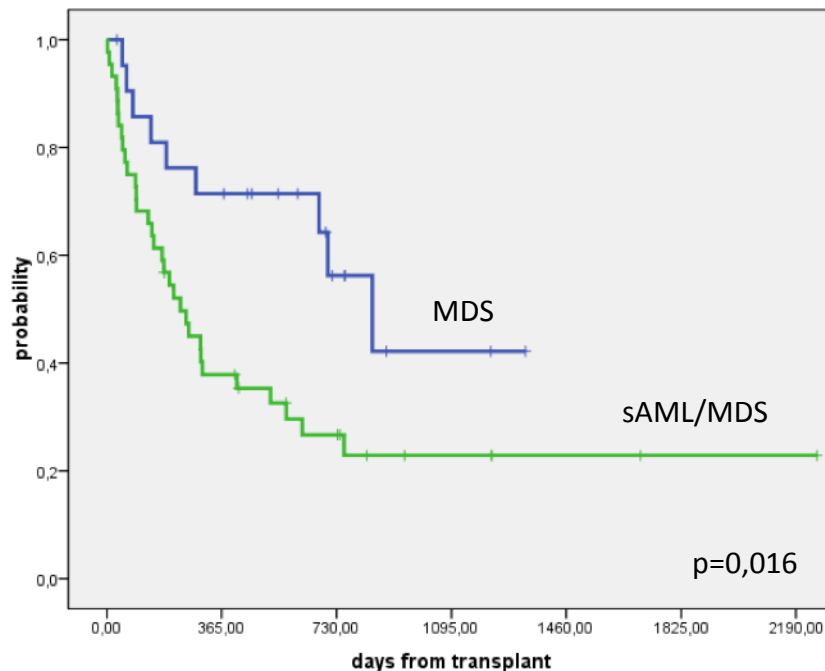


Abb. 7. Zwei-Jahres Gesamtüberleben von Patienten mit MDS vs. sAML/MDS nach Transplantation

Im Mittelpunkt der weiteren Auswertung standen die zytogenetischen Anomalien und ihr Einfluss auf das Gesamtüberleben nach Transplantation. Unter Berücksichtigung der am häufigsten vorkommenden Aberrationen wurden zunächst vier Gruppen gebildet. Die erste Gruppe umfasste 38 Patienten mit ungünstiger Zytogenetik einschließlich komplex aberrantem Karyotyp, jedoch ohne Veränderungen an Chromosom 5 und 7. Diese Patienten erreichten nach Transplantation ein Zwei-Jahres-Gesamtüberleben von 60%. In der zweiten Gruppe (n=43) wurden Patienten mit Aberrationen am Chromosom 7 (Monosomie 7 oder Deletion 7q) mit oder ohne einer zusätzlichen ungünstigen Anomalie zusammengefasst. Das Zwei-Jahres-Gesamtüberleben belief sich auf 65%. Die dritte Gruppe bestand aus 12 Patienten mit aberrantem Chromosom 5 (Monosomie 5, Deletion 5q) und ggf. einer zusätzlichen Aberration. Die Auswertung ergab ein Zwei-Jahres-Gesamtüberleben von nur 10%. In der vierten und größten Gruppe (n=48) wurden Patienten mit einem komplex-aberrantem Karyotyp einschließlich Veränderungen an Chromosom 5 und 7 eingeschlossen, die zusammengenommen ein Zwei-Jahres-Gesamtüberleben von 23% zeigten. Bei Betrachtung der Überlebensraten imponierten die beiden ersten Gruppen mit einem Überleben von 60 und 65% nach zwei Jahren, während die beiden übrigen Gruppen im Überleben deutlich

unterlegen waren (10 und 23%). Für die weitere Analyse wurden die beiden ersten zytogenetisch definierten Gruppen zu einer prognostisch günstigen Subgruppen zusammengefasst und in Bezug auf Gesamtüberleben und Leukämie-freiem Überleben mit dem prognostisch ungünstigen Kollektiv verglichen. Einen schematischen Überblick über die Subgruppen gibt Abbildung 8.

Ungünstiger Karyotyp einschließlich komplex ohne Aberrationen an Chromosom 5 und 7 (n=38)

Monosomie 7 / Deletion 7q +/- eine weitere Aberration (n=43)

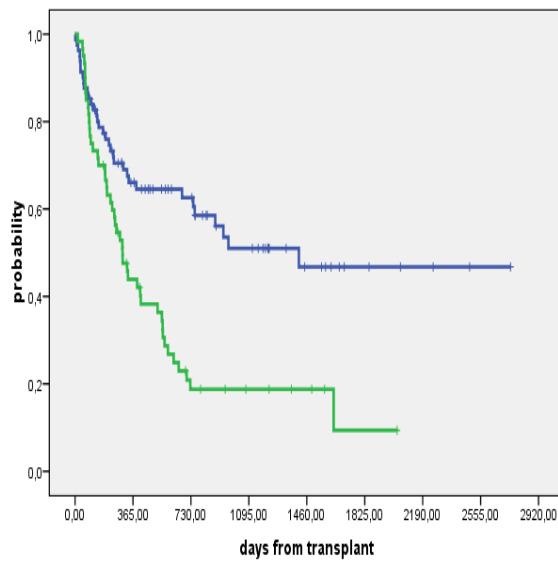
Monosomie 5 / Deletion 5q (nur AML) +/- eine weitere Aberration (n=12)

Komplexer Karyotyp einschließlich Aberrationen an Chromosom 5 und 7 (n=48)

Abb. 8. Zusammensetzung der zwei prognostischen Subgruppen. Oberer Kasten günstige Prognosegruppe (n=81). Unterer Kasten ungünstige Prognosegruppe (n=60).

Das Gesamtüberleben (*overall survival*, OS) und das Leukämie-freie Überleben (*leukemia free survival*, LFS) der beiden prognostischen Subgruppen wurde mit der Kaplan-Meier Methode abgeschätzt. Sowohl in Bezug auf das OS als auch auf das LFS zeigten sich dabei statistisch hoch-signifikante Unterschiede (OS prognostisch günstige Subgruppe 62,6%, OS prognostisch ungünstige Subgruppe 18,8%; $p < .001$, LFS prognostisch günstige Subgruppe 55,5%, LFS prognostisch ungünstige Subgruppe 13,4%; $p < .001$; Abb. 9a+b). Dieser Unterschied bestätigte sich auch in der multivariaten Analyse ($p = .001$, HR 2.216, 95%-Konfidenzintervall 1.39-3.51 für das Gesamtüberleben; $p = .001$, HR 2.264, 95%-Konfidenzintervall 1.397-3.340 für das Leukämie-freie Überleben).

9a



9b

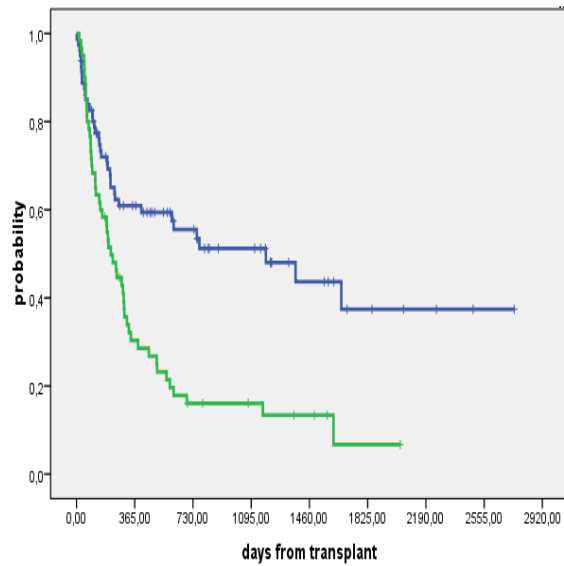


Abb. 9a+b. Vergleich der beiden prognostischen Subgruppen: a im Gesamtüberleben (OS) und b im Leukämie-freiem Überleben (LFS). Prognostisch günstige Gruppe (blaue Kurve). Prognostisch ungünstige Gruppe (grüne Kurve)

In der multivariaten Analyse zeigte sich außerdem das Stadium bei Transplantation als unabhängiger Faktor für das OS und LFS mit Vorteilen für Patienten, die in kompletter Remission (CR) transplantiert wurden (CR > unbehandelt > refraktäre/rezidierte Erkrankung - OS: $p=.006$, HR .619, 95%-Konfidenzintervall .44-.87; LFS: $p=.035$, HR .714, 95%-Konfidenzintervall .52-.97). Die Diagnose als Variable erlangte in der multivariaten Analyse nur grenzwertige Signifikanz (MDS > de novo AML > sekundäre AML – OS: $p=.070$, HR 1.370, 95%-Konfidenzintervall .974-1.929; LFS: $p=.070$, HR 1.354, 95%-Konfidenzintervall .972-1.863). Das Alter, das Geschlecht, der Spendertyp und die Zeit von Diagnose zur Transplantation hatten keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Gesamt- und Leukämie-freie Überleben nach Transplantation.

5 DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirksamkeit des FLAMSA-RIC-Protokolls als Konditionierungsregime bei allogener Stammzelltransplantation für Patienten mit fortgeschrittener AML untersucht. Darüber hinaus wurde der Einfluss zytogenetischer und molekularer Subgruppen auf das Ergebnis nach Transplantation analysiert.

Angesichts der immanenten Limitierungen von retrospektiven Studien wurden Schritte unternommen, um die Qualität und Zuverlässigkeit der erhobenen Daten zu erhöhen: Erstens konnten durch die unter Abschnitt 3.1 beschriebenen Anstrengungen mit gezielter und akribischer Aufarbeitung des Datensatzes ein hohes Maß an Qualität und Konsistenz erreicht werden, weshalb ein hohes Aussagepotential angenommen werden kann. Zweitens konnte durch die einheitliche Konditionierung aller Patienten mit dem FLAMSA-RIC-Protokoll eine hohe Homogenität der untersuchten Patienten erzielt werden. Im Gegensatz zu vielen anderen retrospektiven Studien (40) (41) konnte so der Einfluss der untersuchten klinischen und biologischen Eigenschaften der Erkrankungen in den einzelnen Subgruppen ohne Verzerrung durch unterschiedliche Konditionierungsprotokolle untersucht werden. Drittens wurde durch eine mediane Nachbeobachtungszeit von drei Jahren der Großteil der erwarteten Ereignisse abgedeckt, welche bei fortgeschrittenen AML-Erkrankungen normalerweise in den ersten zwei Jahren nach Transplantation auftreten. (42)

5.1 Einfluss des Mutationsstatus für NPM1 und FLT3 auf die Transplantationsergebnisse bei AML mit normalem Karyotyp

Patienten mit primärem Induktionsversagen

Das strikte Einhalten der Definitionskriterien für ein primäres Induktionsversagen entsprechend internationaler Leitlinien (15) (32) (43) garantierte die Homogenität der Kohorte, welche eine refraktäre Erkrankung nach Doppelinduktion und/oder Hochdosis AraC-basierter Chemotherapie zeigte. Entsprechend den Ergebnissen dieser Arbeit haben AML-Patienten mit einem normalen Karyotyp, die im primärem Induktionsversagen nach Konditionierung mit dem FLAMSA-RIC Protokoll allogene transplantiert wurden, eine relativ günstige Prognose. Das Vier-Jahres-Gesamtüberleben in dieser Gruppe betrug 68%. Dabei konnte die Rolle der NPM1-Mutation aufgrund einer zu kleinen Fallzahl nicht evaluiert

werden. Unter den Patienten mit ungünstigem Genotyp konnte durch die allogene SZT ein Großteil mit doppelt negativem Status (FLT3-ITD⁻/NPM1^{wt}) aus der ungünstigen Situation des primären Induktionsversagen herausgelöst werden und erreichten ein Zwei-Jahres Gesamtüberleben von 76%. Dagegen lag bei Patienten mit einer FLT3-ITD das Gesamtüberleben nach zwei Jahren bei 56%, was im Vergleich zu anderen Studien immer noch ein sehr gutes Resultat in dieser Subgruppe bedeutet. Wie bereits von anderen Studiengruppen propagiert, bestätigen diese Ergebnisse das Konzept der frühen allogenen Transplantation für Patienten im primären Induktionsversagen, sobald die Definition von PIF erfüllt ist. Dagegen sollte in dieser klinischen Situation der wiederholte Versuch auf konventionellem Wege eine Induktionsremission zu erreichen, vermieden werden. In dieser Studie wurden im Median zwei Zyklen Chemotherapie vor Beginn der Konditionierungstherapie mit FLAMSA-RIC appliziert. In diesem Zusammenhang wird allgemein diskutiert, dass die wiederholte Gabe von Chemotherapie über zwei Induktionszyklen hinaus das Auftreten von Rezidiven und die Aggressivität der Erkrankung bei Patienten mit FLT3-ITD-positiver AML und normalem Karyotyp fördert. (44) Abschließend bleibt zu sagen, dass für die praktische Umsetzung der frühen allogenen Stammzelltransplantation im primärem Induktionsversagen die frühzeitige und direkt bei Diagnosestellung einzuleitende Familien- und ggf. Fremdspendersuche eine dringende Voraussetzung ist.

Patienten jenseits der ersten kompletten Remission

Bei Patienten, die jenseits der ersten kompletten Remission transplantiert wurden, spiegelte sich die unterschiedliche Biologie der molekularen Subgruppen in den signifikant unterschiedlichen Patientencharakteristika im Rezidiv und zu Beginn der Konditionierungstherapie wider (Tabelle 4). So deuten innerhalb der günstigen molekularen Subgruppe (NPM1^{mut}/FLT3^{wt}) eine längere Dauer der ersten kompletten Remission sowie eine geringere Blastenzahl im Knochenmark und im peripheren Blut auf eine weniger aggressive Erkrankung hin. Des Weiteren gilt NPM1 als ein exzellenter und stabiler Marker für die Bestimmung der minimalen Resterkrankung, was ein sensibles Monitoring und die frühe Detektion eines Rezidivs ermöglicht. (45) (46) Sowohl die weniger aggressive Biologie als auch die zuverlässige MRD-Diagnostik könnten in dieser Subgruppe zum ausgezeichneten Überleben nach allogener Stammzelltransplantation jenseits der ersten kompletten

Remission beigetragen haben. Es zeigte sich kein Unterschied zu den Überlebensraten, die in erster kompletter Remission in der identischen molekularen Subgruppe erzielt wurden. Trotz der geringen Patientenzahl in dieser Subgruppe, stützen diese Ergebnisse die allgemein empfohlene Strategie, die allogene Transplantation bei Patienten mit günstigem Genotyp bis zum ersten Rezidiv aufzuschieben. (15) (47)

Die FLT3-ITD positive AML mit normalem Karyotyp ist durch ihre biologische Aggressivität gekennzeichnet und mit einem ungünstigen Krankheitsverlauf assoziiert. Dies reflektiert sich auch im Auftreten bestimmter Patientencharakteristika. So zeigte sich bei den betroffenen Patienten eine kürzere Dauer der ersten Remission, die bei 23 Patienten [64%] sogar nur unter sechs Monaten anhielt, was von einigen Studiengruppen als primäres Induktionsversagen betrachtet wird. (30) (47) (48) Des Weiteren wurde eine höhere Anzahl zirkulierender Blasten im peripheren Blut und eine höhere Leukämiebelastung im Knochenmark beobachtet. In der prognostisch günstigen Gruppe und bei Patienten mit doppelt negativem Genotyp traten diese negativen Eigenschaften nicht auf. Angesichts der ungünstigen Charakteristika der FLT3-ITD-positiven AML-Patienten repräsentiert ein Zwei-Jahres-Gesamtüberleben von 37% immer noch ein akzeptables Ergebnis, vor allem im Vergleich mit früheren Studien, die von Überlebensraten zwischen 0% und 25% bei Patienten mit rezidivierender FLT3-ITD-positiver CN-AML berichten. (28) (29) (42) (49) (50) Obwohl Patienten mit doppelt-negativem Genotyp, die jenseits der ersten kompletten Remission transplantiert wurden, eine geringere Leukämiebelastung zum Zeitpunkt des Beginns der Konditionierungstherapie vorwiesen, war das Gesamtüberleben im Vergleich zur Gruppe von Patienten mit FLT3-ITD identisch. Einen Erklärungsansatz für diese Beobachtung könnte die relativ kurze Dauer der ersten Remission in der Gruppe mit doppelt negativem Genotyp liefern. (42) Des Weiteren ist das Fehlen eines zuverlässigen MRD-Markers zur Detektion eines frühzeitigen Rezidivs auf molekularer Ebene ein Nachteil für das effektive Monitoring in erster kompletter Remission, da die Möglichkeit zur rechtzeitigen Einleitung einer Salvagetherapie verloren geht. Dies betrifft sowohl Patienten mit doppelt negativem Genotyp als auch Patienten mit FLT3-ITD positiver AML. Folglich war neben der Dauer der ersten kompletten Remission der Genotyp der wichtigste Faktor für das Gesamtüberleben nach allogener Stammzelltransplantation jenseits der ersten kompletten Remission.

Basierend auf den niedrigen Ansprechraten der Re-Induktionstherapie, (28) (29) einer möglichen Begünstigung der Entwicklung von Rezidiven durch sukzessive Fortsetzung der

Chemotherapie bei FLT3-ITD positiver AML (44) und insbesondere auf dem Boden von Ergebnissen, die einen vorteilhaften Effekt der allogenen SZT in erster kompletter Remission für Patienten mit ungünstigem Genotyp zeigen, (12) wird die Transplantation in erster kompletter Remission für Patienten mit FLT3-ITD (15) (44) bzw. für Patienten unter 60 Jahren, die keinen günstigen Genotyp vorweisen, (47) einheitlich empfohlen. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstützen diese Therapiestrategie durch das Aufzeigen einer signifikanten Unterlegenheit für Patienten mit ungünstigem Genotyp, die jenseits der ersten kompletten Remission allogenen transplantiert wurden.

Dennoch hat die Studie einige Limitationen, die bei der Interpretation der Daten berücksichtigt werden sollten. Zum einen erfolgte die Bestimmung des molekularen Status zum Zeitpunkt der Diagnose, während hingegen der Nachweis im Rezidiv nicht einheitlich untersucht wurde. NPM1-Mutationen erwiesen sich jedoch in mehreren Studien als stabile Mutation im gesamten Verlauf der AML-Erkrankung und eignen sich sehr zuverlässig als Verlaufsmarker zur Bestimmung der minimalen Resterkrankung und zur frühzeitigen Detektion eines Rezidivs auf molekularer Ebene. (51) (45) (46) Dagegen ist FLT3-ITD im Krankheitsverlauf weniger konstant nachweisbar und stellt aufgrund seiner klonalen Instabilität kein ideales Zielgen für die MRD-Bestimmung dar. (52) Ein weiteres Manko der Studie war die fehlende systematische Bestimmung des Verhältnisses von mutiertem Allel zum Wildtyp-Allel des FLT3 Gens, die sog. FLT3-ITD mutant-wildtype-ratio, welche vor allem Auskunft über die Mutationslast des FLT3-Klons gibt. Ebenso nicht einheitlich angegeben wurden Details über FLT3-ITD Insertionsstellen. Beide Parameter, die mutant/wildtype ratio und die Charakterisierung der FLT3-ITD Insertionsstellen, konnten in früheren Studien als relevante Einflussgrößen auf das Therapieansprechen nach konventioneller Chemotherapie und allogener Stammzelltransplantation in erster kompletter Remission identifiziert werden. (39) (53) Obwohl keine publizierten Daten über die Rolle dieser molekularen Marker in fortgeschrittener Erkrankung existieren, könnte durch Einbindung der Markerbestimmung in die regelmäßige Überwachung die prognostische Einschätzung verbessert werden. Eine weitere Limitation dieser Studie war die Beschränkung der Analyse auf zwei molekulare Marker. Dennoch sind die NPM1-Mutation und die FLT3-ITD die beiden häufigsten und intensivsten untersuchten Marker mit der besten etablierten prognostischen Signifikanz bei der AML mit normalem Karyotyp. Aus diesen Gründen wird die routinemäßige Bestimmung in der klinischen Praxis durchweg empfohlen. (15) Dagegen ist die klinische Relevanz und die

gegenseitigen Interaktionen von einer Reihe von Mutationen (NRAS, IDH1/2, TET2, DNMT3A) und veränderter Genexpressionslevel (BAALC, MN1, WT1, ERG, EVI1) nicht abschließend geklärt. (54) (55) In einer kürzlich publizierten Arbeit über einen multivariablen prognostischen Risiko-Score bei der AML mit normalem Karyotyp wurden 92 % der Patienten der Hochrisiko Gruppe über das Vorkommen einer Hochrisiko-Konstellation von NPM1/FLT3-ITD identifiziert (56). Deswegen schien es gerechtfertigt, diese beiden gut etablierten und weitgehend fassbaren Marker zur prognostischen Einschätzung zu verwenden.

Unabhängig vom prognostischen Einfluss der molekularen Subgruppen wird die klinische Relevanz des Graft versus Leukemia (GvL)-Effektes verdeutlicht, was an den längeren Überlebensraten bei Patienten, die eine chronische GvHD entwickelten, zu erkennen ist. Die prophylaktische Transfusion von Spenderlymphozyten (DLI) könnte dabei einen zusätzlichen GvL-Effekt induzieren. In dieser Arbeit war der Anteil an Patienten, die für eine DLI-Gabe in Frage kamen als auch das zeitliche Intervall zwischen Transplantation und erster Spenderlymphozytengabe mit Beobachtungen aus früheren Studien vergleichbar. (22) Das Toxizitätsprofil und die Ansprechraten nach DLI-Gabe waren vielversprechend und unterstreichen die wichtige Rolle dieser Form der adoptiven Immuntherapie im Gesamtkonzept der AML-Therapie.

5.2 Transplantationsergebnisse von Patienten mit AML und MDS und einer Hochrisiko-Zytogenetik

Bei Patienten mit MDS und einer Hochrisiko-Zytogenetik konnte ein Zwei-Jahres-Gesamtüberleben von knapp 57% erreicht werden, was im Vergleich zu anderen Studien mit identischem Patientenkollektiv ein ausgezeichnetes Ergebnis bedeutet. (57) (58) Im Kontrast zu diesen vielversprechenden Resultaten steht das Gesamtüberleben bei Patienten mit einer sekundären AML aus MDS und einem Überleben von 26% zwei Jahre nach Transplantation. Im Vergleich dieser beiden Gruppen zeigte sich ein statistisch signifikanter Überlebensvorteil für Patienten mit einem MDS. Diese Ergebnisse implementieren den frühen Einsatz der allogenen Stammzelltransplantation im Therapiekonzept für MDS-Patienten mit einer ungünstigen Zytogenetik. Das Hinauszögern der Transplantation bis zum Progress der Erkrankung oder die Transplantation zu einem festgelegten Zeitpunkt nach Diagnosestellung ist mit einem kürzeren krankheitsfreiem Überleben und Gesamtüberleben nach Transplantation assoziiert.

(59) In einer retrospektiven Analyse war eine allogene SZT zwischen 6 bis 12 Monaten nach Diagnose eines MDS mit einem signifikant besserem Gesamtüberleben und einer niedrigeren TRM assoziiert, als eine Transplantation zu einem späteren Zeitpunkt. (60) Die negativen Effekte der frequentierten Bluttransfusionen mit konsekutiver Eisenüberladung, eine längere Dauer von Panzytopenien und das erhöhte Risiko einer Krankheitsprogression konnten als Gründe für diese Beobachtung herangezogen werden.

Weiter unklar bleibt, ob eine Chemotherapie oder der Einsatz demethylierender Substanzen vor Konditionierungsbeginn den proliferativen Status bzw. die Vulnerabilität der MDS-Stammzelle ändern und somit die Ergebnisse nach Transplantation positiv beeinflussen kann. In diesem Zusammenhang konnte in mehreren retrospektiven Analysen die Bedeutung der Tumorlast zum Zeitpunkt der Transplantation gezeigt werden. (61) (62) Patienten mit einer kompletten zytologischen Remission oder einem Blastenanteil von $< 5\%$ zeigten ein überlegendes krankheitsfreies Überleben im Vergleich zu denen mit 5 bis 20% Blasten im Knochenmark. Darüber hinaus verdoppelte sich das Rezidivrisiko, wenn die Blastenzahl über 5% lag. Vor diesem Hintergrund wurden entsprechende Analysen über den Nutzen einer Prä-Transplantationstherapie zur Reduktion der Tumorlast bzw. zur Verbesserung des Remissionsstatus durchgeführt. Der Einsatz einer klassischen Cytarabin-basierten Induktionschemotherapie vor Konditionierungsbeginn zeigte in retrospektiven Analysen keine Verbesserung des Gesamtüberlebens nach Transplantation und war häufig mit einer prolongierten Knochenmarks-Hypoplasie und einer relevanten therapieinduzierten Toxizität assoziiert. (63) (64) An gleicher Stelle enttäuschte eine Therapie mit demethylierenden Substanzen. Sowohl für Azacytidine als auch für Decitabine konnte nach Applikation in der Prä-Transplantationsphase kein entscheidender Einfluss auf das Gesamtüberleben nach Transplantation nachgewiesen werden. (65) (66) Trotz geringerer Toxizität und dem Trend zu einer niedrigeren Rezidivrate liegt der Nachteil einer Therapie mit demethylierenden Substanzen im späten Therapieansprechen. Zusammenfassend sollte das kurative Potential der allogenen Stammzelltransplantation zum frühestmöglichen Zeitpunkt im Verlauf der MDS-Erkrankung mit ungünstiger Zytogenetik ausgenutzt werden. Der Rolle der Chemotherapie und der demethylierenden Substanzen im Kontext zur Transplantation muss in prospektiven Studien weiter untersucht werden. Bis dahin beschränkt sich der Einsatz auf die Überbrückungstherapie („Bridging“) bis zur Transplantation, wobei die Induktions-

Chemotherapie bei geeigneten Patienten mit hohem Progressionsrisiko gegenüber den demethylierenden Substanzen zur Krankheitskontrolle bevorzugt werden sollte.

Die Frage nach der optimalen Intensität der Konditionierungstherapie vor allogener SZT bei MDS-Patienten kann nicht einheitlich beantwortet werden. Derzeit gibt es keine klaren Daten, um eine rigorose Entscheidung darüber zu treffen, ob eine myeloablative oder dosisreduzierte Konditionierung das geeignetere Verfahren bei MDS-Patienten darstellt. Zwar konnten diverse retrospektive Studien die Gleichwertigkeit beider Methoden in Bezug auf das Gesamtüberleben bestätigen, (40) (67) dennoch bleibt es eine individuelle und patientenbezogene Entscheidung, welches Konditionierungsregime zur Anwendung kommt. Dabei steht dem Nachteil einer höheren Rezidivrate nach dosisreduzierter Behandlung im Vergleich zur konventionellen Konditionierung eine niedrigere therapie-assoziierte Mortalität gegenüber. Das Patientenkollektiv beim MDS ist charakterisiert durch ein medianes Erkrankungsalter zwischen 60 und 75 Jahren mit entsprechend gehäuften Auftreten von relevanten Co-Morbiditäten, was die dosisreduzierte Konditionierung als Verfahren der Wahl bei dem überwiegenden Teil der MDS-Patienten favorisiert.

Über die Gründe für das mangelhafte Ergebnis bei Transplantation von Patienten mit sekundärer AML aus MDS kann nur spekuliert werden. Zunächst ist die Diagnose einer sekundären AML per se ein unabhängiger negativ prognostischer Faktor für das Erreichen einer kompletten Remission, eines rezidivfreien Überlebens und für das Gesamtüberleben. (68) Einen Erklärungsansatz für diese Tatsache liefern Einblicke in das genetische Profil der sekundären AML. Ein MDS entsteht aus einer genetisch transformierten primitiven hämatopoetischen Stammzelle. Die Progression zu einer sekundären AML ist durch die schrittweise Anhäufung von zytogenetischen, molekulargenetischen und epigenetischen Ereignissen charakterisiert, was unter dem Begriff der klonalen Evolution zusammengefasst wird. (69) (70) Vor dem Hintergrund dieses pathogenetischen Modells wurden Vergleichsuntersuchungen zwischen sekundärer AML aus MDS und der de novo AML auf genetischer Ebene durchgeführt. (71) Dabei zeigte sich in verschiedenen Subgruppen der sekundären AML ein vergleichbares Spektrum an zytogenetischen Anomalien wie bei der de novo AML, jedoch war die Häufigkeit an zytogenetischen Aberrationen, die mit einem intermediären und ungünstigen Risiko assoziiert waren signifikant höher bei der sekundären Form der AML. Interessanterweise wirkte sich diese erhöhte Komplexität des Karyotyps nicht signifikant auf das Gesamtüberleben aus, was einen zusätzlichen Pathomechanismus

vermuten lässt, der für die schlechte Prognose der sekundären AML verantwortlich ist. Dabei scheint das epigenetische Profil der sekundären AML mit umfangreicheren aberranten DNA-Methylierungen im Vergleich zur de novo AML eine entscheidende Rolle zu spielen.

Für AML- und MDS-Patienten mit einer Hochrisikozytogenetik gilt die allogene Stammzelltransplantation als Therapie der Wahl. (10) (72) (59) Dennoch repräsentiert die zytogenetisch definierte Hochrisikogruppe ein heterogenes Kollektiv mit unterschiedlichem Ansprechen auf die allogene Transplantation. In der vorliegenden Arbeit konnten zwei prognostisch unterschiedliche Subgruppen innerhalb dieser klassischen Hochrisikogruppe identifiziert werden, die eine weitere differenzierte Abschätzung der Prognose ermöglichen. Die prognostisch günstigere Subgruppe (Zwei-Jahres-Gesamtüberleben 63%) umfasst dabei Patienten mit einem komplex aberrantem Karyotyp ohne Aberrationen an Chromosom 5 oder 7 und Patienten mit einer isolierten Anomalie an Chromosom 7. Die ungünstigere Prognosegruppe (Zwei-Jahres-Gesamtüberleben 19%) schließt dagegen Patienten mit einem komplexen Karyotyp einschließlich Chromosom 5- oder 7-Aberration, sowie Patienten mit einer isolierten Chromosom 5 Anomalie ein. Die Ergebnisse verdeutlichen die prognostische Relevanz der Chromosom 5- und 7-Alterationen bei allogenen transplantierten Patienten mit AML und MDS. Das Vorhandensein oder Fehlen von Chromosom 5- oder 7-Aberrationen innerhalb eines komplex aberranten Karyotyps wirkte sich entscheidend auf die Gesamtprognose der Patienten aus. Damit scheint es notwendig die klassische Definition des komplex aberranten Karyotyps zu erweitern bzw. zu verfeinern, um der Komplexität dieser zytogenetischen Risikogruppe gerecht zu werden. In diesem Zusammenhang muss die Arbeit von Breems und Mitarbeitern aus dem Jahr 2008 genannt werden, in der die prognostische Wertigkeit verschiedener zytogenetischer Aberrationen innerhalb eines komplexen Karyotyps analysiert wurde. (73) Dabei konnte erstmalig ein monosomaler Karyotyp beschrieben werden, der sich durch das Auftreten von mindestens zwei Monosomien oder mindestens einer autosomalen Monosomie in Kombination mit einer strukturellen Aberration definiert. Der Nachweis eines monosomalen Karyotyps innerhalb eines komplex aberranten Karyotyps war signifikant mit einem schlechteren Gesamtüberleben assoziiert und identifizierte eine Gruppe mit einer sehr ungünstigen Prognose.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass den Komponenten eines komplexen Karyotyps eine wichtige prognostische Bedeutung zukommt, die für die Entwicklung risikoadaptierter Therapiestrategien genutzt werden kann.

Außerhalb eines komplexen Karyotyps ist das Auftreten einer isolierten Chromosom 5- oder 7-Anomalie mit einer ungünstigen Prognose assoziiert. Die Zuordnung zur ungünstigen Prognosegruppe nach zytogenetischen Kriterien basiert dabei auf Analysen von großen Patientenkollektiven. (10) (74) In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass es dennoch eine Abstufung der Prognose innerhalb dieser vermeintlich ungünstigen Prognosegruppe gibt, mit einem signifikantem Überlebensvorteil für Patienten mit isolierter Aberration an Chromosom 7 gegenüber Patienten mit Anomalien an Chromosom 5 (2-Jahres-Gesamtüberleben 65% vs. 10%). Durch den Einsatz des FLAMSA-RIC-Protokolls konnte die ungünstige Prognose der Patienten mit Chromosom 7-Aberrationen überwunden werden, was zeigt, dass die prognostische Bedeutung zytogenetischer Aberrationen immer in Zusammenhang mit dem durchgeführten Therapieverfahren zu bewerten ist. Vor diesem Hintergrund sind prospektiv randomisierte Studien erforderlich, die durch Anwendung unterschiedlicher Therapieregimen am gleichen Risikokollektiv eine Vergleichbarkeit ermöglichen und den „wahren“ prognostischen Stellenwert einzelner zytogenetischen Aberrationen validieren. Trotz des retrospektiven Charakters dieser Studie kann aufgrund der homogenen Risikogruppe mit uniformer Konditionierung eine hohe Datenqualität und damit ein hohes Aussagepotential angenommen werden.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Bei Patienten mit AML und MDS hat die Identifikation von zytogenetischen und molekularen Aberrationen eine herausragende Bedeutung. Als wichtige unabhängige Prognoseparameter nehmen sie einen entscheidenden Einfluss auf die Planung der Therapiestrategie und sind darüber hinaus zum genetischen Monitoring der Krankheitsaktivität geeignet. In der vorliegenden Arbeit konnte die Effektivität des FLAMSA-RIC-Protokolls in zytogenetisch und molekulargenetisch definierten Subgruppen herausgearbeitet werden.

Im ersten Teil der Analyse wurden 141 Patienten mit normalem Karyotyp und bekanntem Mutationsstatus für NPM1 und FLT3 untersucht. Dabei konnten vielversprechende Resultate bei Transplantation im primären Induktionsversagen beobachtet werden. Bei Patienten, die jenseits der ersten kompletten Remission transplantiert wurden, konnte die prognostische Relevanz der molekularen Subgruppen bestätigt werden, was sich sowohl in den unterschiedlichen Eigenschaften der Patienten im Rezidiv und bei Transplantation als auch in den unterschiedlichen Ergebnissen der Patienten mit verschiedenen Genotypen zeigte. Bei Transplantation jenseits der ersten kompletten Remission, zeigten Patienten mit einem günstigen Genotyp (NPM1^{mut}/FLT3^{wt}) signifikant bessere Ergebnisse nach Transplantation als Patienten mit einem ungünstigen Genotyp (NPM1^{wt}/FLT3^{wt} und FLT3-ITD mit oder ohne NPM1-Mutation). Der prognostische Wert der günstigen molekularen Marker blieb auch bei Transplantation jenseits der ersten kompletten Remission erhalten. So waren die Ergebnisse in der Gruppe von Patienten mit günstigem Genotyp bei einer Transplantation in erster kompletter Remission und jenseits der ersten kompletten Remission vergleichbar. Dagegen zeigten Patienten mit einem ungünstigen Genotyp signifikant schlechtere Ergebnisse, wenn die Transplantation jenseits der ersten kompletten Remission erfolgte.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden die Ergebnisse von 173 Patienten mit AML und MDS und einer Hochrisiko-Zytogenetik analysiert. Die Resultate unterstreichen die Bedeutung des FLAMSA-RIC-Regimes als hocheffektives Konditionierungsprotokoll bei der allogenen Stammzelltransplantation von Patienten mit MDS und AML und einer ungünstigen Zytogenetik. Für MDS-Patienten konnte eindrucksvoll gezeigt werden, dass eine Transplantation vor dem Übergang in eine sekundäre AML signifikant bessere Überlebensraten erzielt als nach der Transformation in eine akute Leukämie. Des Weiteren wurden zytogenetisch definierte Subgruppen innerhalb der klassischen ungünstigen

Prognosegruppe identifiziert, die eine differenziertere Abschätzung der Prognose ermöglichen.

7 LITERATURVERZEICHNIS

1. **Hellenbrecht A, Messerer N, Gökbuget N.** Häufigkeit von Leukämien bei Erwachsenen in Deutschland. http://www.kompetenznetz-leukämie.de/kn_home/InfoAerzte/epidemiologie.htm (2003).
2. **Ries LAG, et al.** SEER Cancer Statistics Review 1975-2003. National Cancer Institute, Bethesda (2006).
3. **Bertz J, et al.** Krebs in Deutschland, 5. Auflage edn, Saarbrücken.
4. **Burnett A, et al.** Therapeutic Advances in Acute Myeloid Leukemia JCO Review Feb 10, 2011: 487-494.
5. **Hayes RB, et al.** Benzene and the dose-related incidence of hematologic neoplasms in China. Chinese Academy of Preventive Medicine - National Cancer Institute Benzene Study Group. *J Natl Cancer Inst* 1997;89,1065-71.
6. **Kelly LM, Liu Q, Kutok JL, et al.** FLT3 internal tandem mutations associated with human acute myeloid leukemias induce myeloproliferative disease in a murine bone marrow transplant model. *Blood* 2002; 99:310-318.
7. **Gilliland DG.** Hematologic malignancies. *Curr Opin Hematol*. 2001;8:189-191.
8. **Thiede, C.** Impact of mutational analysis in acute myeloid leukemia. *Educational Book for the annual Congress of the European Hematology Association 2012. Volume 6 issue 1, 31-40.*
9. **San Miguel JF, Vidriales MB, et al.** Early immunophenotypical evaluation of minimal residual disease in acute myeloid leukemia identifies different patient risk groups and may contribute to postinduction treatment stratification. *Blood* 2001; 98:1746-1751.
10. **Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA, et al.** Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study. *Blood* 2000; 96:4075-4083.
11. **Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, et al.** International Scoring System for Evaluating Prognosis in Myelodysplastic Syndromes. *Blood* 1997; 89: 2079-2088.

12. **Schlenk R, Döhner K, Krauter J, et al.** Mutations and Treatment Outcome in Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2008; 358:1909-1918 йил.
13. **Mrozek K, Marcucci G, Paschka P, et al.** Clinical relevance of mutations and gene-expression changes in adult AML with normal cytogenetics: Are we ready for a prognostically prioritized molecular classification? *Blood* 2007; 109: 431-448.
14. **Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al, eds.** WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press; 2008.
15. **Döhner H, Estey EH, Amadori S, et al.** Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2010 115: 453-474.
16. **Appelbaum FR, Gundacker H, Head DR, et al.** Age and acute myeloid leukemia. *Blood* 2006 May 1; 107(9):3481-5.
17. **Estey E, Smith TL, Keating MJ, et al.** Prediction of survival during induction therapy in patients with newly diagnosed acute myeloblastic leukemia. *Leukemia*, 1989 Apr; 3(4):257-63.
18. **Goldstone A, Burnett A, Avivi I, et al.** Secondary acute myeloid leukemia has a worse outcome than de novo AML even taking into account cytogenetics and age. *ASH Education Book January 1, 2002 vol. 2002 no. 1, 73-110.*
19. **The EBMT Handbook 2012 Revised Edition.** Haematopoietic Stem Cell Transplantation - Chapter 13: Graft-versus-host disease, 216-245.
20. **Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, et al.** National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005;11:945-956.
21. **Storb R, Yu C, Wagner JL, et al.** Stable mixed hematopoietic chimerism in DLA-identical littermate dogs given sublethal total body irradiation before and pharmacological immunosuppression after bone marrow transplantation. *Blood* 1997; 89: 3048-3054.

22. **Schmid C, Schleuning M, Schwerdtfeger R, et al.** Long term survival in refractory acute myeloid leukemia after sequential treatment with chemotherapy and reduced intensity conditioning for allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2006 Mar 21;108(3):1092-9.
23. **Estey, EH.** Treatment of relapsed and refractory acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2000;14, 476-479.
24. **Yanada M, Matsuoka K, Emi N et al.** Efficacy of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation depends on cytogenetic risk for acute myeloid leukemia in first disease remission: a metaanalysis. *Cancer* 2005; 103:1652-8.
25. **Godley LA, Larson RA.** Therapy-related myeloid leukemia. *Semin Oncol.* 2008;35(4):418-429.
26. **Kern W, Haferlach T, Schoch C, et al.** Early blast clearance by remission induction chemotherapy is a major independent prognostic factor for both achievement of complete remission and long-term outcome in acute myeloid leukemia: data from the German AML cooperative group (AMLSG) 1992 trial. *Blood* 2003;101:64-70.
27. **Bornhäuser M, Illmer T, Schaich M, et al.** Improved outcome after stem-cell transplantation in FLT3/ITD-positive AML. *Blood* 2007; 109:2264-2265.
28. **Chevallier P, Prebet T, Pigneux A, et al.** Influence of NPM1 and FLT3-ITD status on outcome in relapsed/refractory AML patients receiving salvage therapy including gemtuzumab ozogamicin. *Leukemia* 2010; 24:467-469.
29. **Wagner K, Damm F, Thol F, et al.** FLT3-internal tandem duplication and age are the major prognostic factors in patients with relapsed acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Haematologica* 2011;96:681-686.
30. **Chevallier P, Labopin M, Turlure P, et al.** A new Leukemia Prognostic Scoring System for refractory/relapsed adult acute myelogenous leukemia patients: A GOELAMS study. *Leukemia* 2011;25:939-944.
31. **Schmid C, Schleuning M, Ledderhose G, et al.** Sequential regimen of chemotherapy, reduced-intensity conditioning for allogeneic stem-cell transplantation, and prophylactic

donor lymphocyte transfusion in high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol* 2005;23:5675-5687.

32. **Cheson B, Benet JM, Kopecky KJ, et al.** Revised Recommendations of the International Working Group for Diagnostics, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia. *Journal of Clinical Oncology* 2003 Dec 15;21(24):4642-9.

33. **Sullivan KM.** Graft-versus-host-disease. In "Hematopoietic Cell Transplantation". Thomas E, Blume K, Forman SJ, editors. 2nd, 515-536. 1999. Boston, Blackwell Science. Ref Type: Serial (Book, Monograph).

34. **Gratwohl A, Stern M, Brand R, et al.** Risk score for outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: A retrospective analysis. *Cancer* 2009 Oct 15; 115(20):4715-26.

35. **Schoch C, Schnittger S, Bursch S, et al.** Comparison of chromosome banding analysis, interphase- and hypermetaphase-FISH, qualitative and quantitative PCR for diagnosis and for follow-up in chronic myeloid leukemia: A study on 350 cases. *Leukemia* 2002;53-9.

36. **Shaffer L, Slovak M, Campelli Le. ISCN.** An international System for Human Cytogenetic Nomenclature. S. Klager, Basel, Switzerland, 2009.

37. **Schnittger S, Schoch C, Dugas M, et al.** Analysis of FLT3 length mutations in 1003 patients with acute myeloid leukemia: Correlation to cytogenetics, FAB subtype, and prognosis in the AMLCG study and usefulness as a marker for the detection of minimal residual disease. *Blood* 2002 Jul 1; 100(1):59-66.

38. **Schnittger S, Schoch C, Kern W, et al.** Nucleophosmin gene mutations are predictors of favorable prognosis in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *Blood* 2005 Dec 1;106(12):3733-9.

39. **Baldus CD, Thiede C, Soucek S, et al.** BAALC expression and FLT3 internal tandem duplication mutations in acute myeloid leukemia patients with normal cytogenetics: prognostic implications. *J Clin Oncol* 2006 Feb 10;24(5):790-7.

40. **Martino R, Iacobelli S, Brand R, et al.** Retrospective comparison of reduced-intensity conditioning and conventional high-dose conditioning for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation using HLA-identical sibling donors for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2006;108:836-846.
41. **Mohty M, de Lavallade H, Ladaïque P, et al.** The role of reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia: a donor vs no donor comparison. *Leukemia* 2005;19:916-920.
42. **Duval M, Klein JP, He W, et al.** Hematopoietic stem-cell transplantation for acute leukemia in relapse or primary induction failure. *J Clin Oncol* 2010 Aug 10;28(23):3370-8.
43. **Ravandi F, Cortes J, Faderl S, et al.** Characteristics and outcome of patients with acute myeloid leukemia refractory to 1 cycle of high-dose cytarabine-based induction chemotherapy. *Blood* 2010 Dec 23;116(26):5818-23.
44. **Levis M.** FLT3/ITD AML and the law of unintended consequences. *Blood* 2011 Jun 30;117(26):6987-90.
45. **Schnittger S, Kern W, Tschulik C, et al.** Minimal residual disease levels assessed by NPM1 mutation-specific RQ-PCR provide important prognostic information in AML. *Blood* 2009 Sep 10;114(11):2220-31.
46. **Kronke J, Schlenk RF, Jensen KO, et al.** Monitoring of minimal residual disease in NPM1-mutated acute myeloid leukemia: a study from the German-Austrian acute myeloid leukemia study group. *J Clin Oncol* 2011 Jul 1;29(19):2709-16.
47. **Gupta V, Tallman MS, Weisdorf DJ.** Allogeneic hematopoietic cell transplantation for adults with acute myeloid leukemia: myths, controversies, and unknowns. *Blood* 2011 Feb 24;117(8):2307-18.
48. **Chevallier P, Delaunay J, Turlure P, et al.** Long-term disease-free survival after gemtuzumab, intermediate-dose cytarabine, and mitoxantrone in patients with CD33(+) primary resistant or relapsed acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2008 Nov 10;26(32):5192-7.

49. **Boissel N, Cayuela JM, Preudhomme C, et al.** Prognostic significance of FLT3 internal tandem repeat in patients with de novo acute myeloid leukemia treated with reinforced courses of chemotherapy. *Leukemia* 2002 Sep;16(9):1699-704.
50. **Levis M, Ravandi F, Wang ES, et al.** Results from a randomized trial of salvage chemotherapy followed by lestaurtinib for patients with FLT3 mutant AML in first relapse. *Blood* 2011 Mar 24;117(12):3294-301.
51. **Palmisano M, Grafone T, Ottaviani E, et al.** NPM1 mutations are more stable than FLT3 mutations during the course of disease in patients with acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2007 Sep;92(9):1268-9.
52. **Cloos J, Goemans BF, Hess CJ, et al.** Stability and prognostic influence of FLT3 mutations in paired initial and relapsed AML samples. *Leukemia* 2006 Jul;20(7):1217-20.
53. **Kayser S, Schlenk RF, Londono MC, et al.** Insertion of FLT3 internal tandem duplication in the tyrosine kinase domain-1 is associated with resistance to chemotherapy and inferior outcome. *Blood* 2009 Sep 17;114(12):2386-92.
54. **Marcucci G, Haferlach T, Dohner H.** Molecular genetics of adult acute myeloid leukemia: prognostic and therapeutic implications. *J Clin Oncol* 2011 Feb 10;29(5):475-86.
55. **Foran JM.** New prognostic markers in acute myeloid leukemia: perspective from the clinic. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2010;2010:47-55.
56. **Damm F, Heuser M, Morgan M, et al.** Integrative prognostic risk score in acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Blood* 2011 Apr 28;117(17):4561-8.
57. **Parker J.E., Shafi T., Pagliuca A. et al.** Allogeneic stem cell transplantation in myelodysplastic syndromes: interim results of outcome following reduced-intensity-conditioning compared with standard preparative regimens. *British Journal of Haematology* 2002; 119:144-154.
58. **Kröger N, Schetelig J, Zabelina T et al.** A fludarabine-based dose-reduced conditioning regimen followed by allogeneic stem cell transplantation from related or unrelated donors in patients with myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplantation* 2001; 28:643-647.

59. **Cutler CS, et al.** A decision analysis of allogeneic bone marrow transplantation for the myelodysplastic syndromes: delayed transplantation for low risk myelodysplasia is associated with improved outcome. *Blood* 2004; 104:579-585.
60. **Al Ali HK, Brand R, van Biezen, et al.** A retrospective comparison of autologous and unrelated donor hematopoietic cell transplantation in myelodysplastic syndrome and secondary acute myeloid leukemia: a report on behalf of the Chronic Leukemia Working Party of the EBMT. *Leukemia* 2007;21:1945-1951.
61. **Warlick ED, Cioc A, DeFor T, et al.** Allogeneic Stem Cell Transplantation for adults with myelodysplastic syndromes: importance of pretransplant disease burden. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15:30-38.
62. **Sierra J, Perez WS, Rozman C, et al.** Bone marrow transplantation from HLA-identical siblings as treatment for myelodysplasia. *Blood* 2002;100:1997-2004.
63. **Nakai K, Kanda Y, Fukuhara S, et al.** Value of chemotherapy before allogeneic stem cell transplantation from an HLA-identical sibling donor for myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 2005;19:396-401.
64. **Scott BL, Sandmaier BM, Storer B, et al.** Myeloablative vs nonmyeloablative allogeneic transplantation for patients with myelodysplastic syndrome or acute myelogenous leukemia with multilineage dysplasia: a retrospective analysis. *Leukemia* 2006; 20:128-135.
65. **Field T, Perkins J, Huang Y, et al.** 5-Azacitidine for myelodysplasia before allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 2010; 45:255-260.
66. **De Padua SL, de Lima M, Kantarjian H, et al.** Feasibility of allo-SCT after hypomethylating therapy with decitabine for myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplantation* 2009; 43:839-843.
67. **Alyea EP, Kim HT, Ho V, et al.** Impact of conditioning regimen intensity on outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation for advanced acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006;12:1047-1055.

68. **Kayser S, Doehner K, Krauter J, et al.** Secondary AML after history of MDS is an independent adverse prognostic factor for Achievement of complete remission, relapse-free and overall survival. An analysis of 2,819 adult patients with newly diagnosed AML enrolled on seven AMLSG treatment trials. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts) 2009;114:Abstract 2621.*
69. **Flach J, Dicker F, Schnittger S, et al.** An accumulation of cytogenetic and molecular genetic events characterizes the progression from MDS to secondary AML: an analysis of 38 paired samples analyzed by cytogenetics, molecular mutation analysis and SNP microarray profiling. *Leukemia 2011;25:713-718.*
70. **Tifferi A, Vardiman JW.** Myelodysplastic Syndromes. *New England Journal of Medicine 2009;361:1872-85.*
71. **Milosevic JD, Puda A, Malcovati L, et al.** Clinical significance of genetic aberrations in secondary acute myeloid leukemia. *American Journal of Hematology 2012;87:1010-1016.*
72. **Cornelissen JJ, van Putten WLJ, Verdonck LF, et al.** Results of a HOVON/SAKK donor versus no-donor analysis of myeloablative HLA-identical sibling stem cell transplantation in first remission acute myeloid leukemia in young and middle-aged adults:benefit for whom? *Blood 2007;109:3658-3666.*
73. **Breems DA, Van Putten WLJ, De Greef GE, et al.** Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype. *J Clin Oncol. 2008;26(29):4791-4797.*
74. **Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, et al.** Redefinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia:determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood (2010);116:354-365.*

8 DANKSAGUNGEN

Ich möchte mich bei Herrn Professor Dr. G. Schlimok, dem Chefarzt der II. Medizinischen Klinik am Klinikum Augsburg, für die kontinuierliche Förderung und Motivation zur wissenschaftlichen Arbeit herzlich bedanken.

Einen besonderen Dank schulde ich den Personen, die mir Zugang zu Patientendaten am jeweiligen Zentrum ermöglicht haben, insbesondere den Herren Professor Dr. J. Braess und Professor Dr. K. Spiekermann aus der Medizinischen Klinik III des Universitätsklinikums Großhadern, sowie Herrn PD Dr. R. Schwerdtfeger aus der Deutschen Klinik für Diagnostik in Wiesbaden. Mein großer Dank gilt auch den Sekretärinnen und Koordinatoren der beteiligten Zentren, die jede Anfrage umfassend und kompetent beantwortet haben. Hierzu zählen vor allem Elke Damann (Hannover), Angelika Cook (Wiesbaden), Margarete Rothmayer (München), Anne Franke (München) und Astrid Bader (Augsburg).

Bedanken möchte ich mich bei Herrn Dipl.-Ing. Daniel Schulze, der mir bei der graphischen Gestaltung meiner Arbeit und bei wiederkehrenden Programmproblemen mit Rat und Tat zur Seite stand.

Ein großer Dank gebührt Professor Dr. Hans-Jochem Kolb für den Zuspruch und die Unterstützung bei der Durchführung dieses Projektes.

Mein größter Dank gilt aber meinem Doktorvater und Mentor Herrn PD Dr. Christoph Schmid. Meine Begeisterung und Leidenschaft für das faszinierende Thema Leukämie und allogene Stammzelltransplantation wurden durch ihn fortwährend geprägt. Seine überragende fachliche Kompetenz, sein Ideenreichtum und seine Akribie machen ihn für mich zu einem großen Vorbild. Ich danke ihm herzlich für die hervorragende zielgerichtete Betreuung und die Bereitschaft zur Diskussion.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern ganz besonders herzlich bedanken. Ihre uneingeschränkte, liebevolle und vielseitige Unterstützung während meines Studiums und meiner beruflichen Ausbildung bedeuten mir unbeschreiblich viel. Ihnen ist diese Arbeit gewidmet.

9 LEBENSLAUF

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Eidesstattliche Versicherung

Pfeiffer, Tim

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

**Allogene periphere Blutstammzelltransplantation nach dosisreduzierter
Konditionierung bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie abhängig von
zytogenetischen und molekulargenetischen Aberrationen**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Augsburg, 04.11.2013

Ort, Datum

Tim Pfeiffer

Unterschrift Doktorandin/Doktorand