

**Die Kinetik des peripheren Donorchimärismus
beeinflussende Faktoren und dessen Einfluss auf Rezidiv
und Überleben bei akuter myeloischer Leukämie und
myelodysplastischen Neoplasien**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Medizin (Dr. med.)
an der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Hans-Georg Laun
aus
Schwäbisch Hall

Betreuer:in / Gutachter:in der Dissertation: PD Dr. Maximilian Christopeit

Gutachter:in der Dissertation: Prof. Dr. Ingo Müller

Vorsitz der Prüfungskommission: Prof. Dr. Ingo Müller

Mitglied der Prüfungskommission: Prof. Dr. Francis Ayuk

Mitglied der Prüfungskommission: Prof. Dr. Martin Horstmann

Datum der mündlichen Prüfung: 13.02.2026

Inhaltsverzeichnis

1	Arbeitshypothese und Fragestellung	5
2	Einleitung	6
2.1	Akute myeloische Leukämie	6
2.1.1	Ätiologie und Pathophysiologie	6
2.1.2	Diagnostik	7
2.2	Myelodysplastische Neoplasien.....	7
2.2.1	Ätiologie und Pathophysiologie	7
2.2.2	Diagnostik	8
2.3	Allogene Stammzelltransplantation	9
2.3.1	Übersicht	9
2.3.2	Komplikationen	12
2.3.3	Bei akuter myeloischer Leukämie	13
2.3.4	Bei myelodysplastischen Neoplasien.....	17
2.4	Donorchimärismus	18
2.4.1	Definition	18
2.4.2	Messung des Chimärismus	20
2.4.3	Einflussfaktoren auf den Chimärismus	20
2.4.4	Bedeutung des Chimärismus	21
3	Material und Methoden	23
3.1	Patientenübersicht.....	23
3.2	Datenerhebung.....	25
3.3	Chimärismusanalyse	26
3.3.1	Y-Chromosom-spezifische quantitative real-time PCR (QYCS-PCR)	27
3.3.2	Quantitative real-time PCR von <i>short insertion/deletion polymorphisms</i>	27
3.4	Statistik	28
4	Ergebnisse	29
4.1	Chimärismuswerte.....	29
4.2	Einflussfaktoren auf den frühen peripheren Donorchimärismus	31
4.2.1	Deskriptive Statistik	31
4.2.2	Bei AML	32
4.2.3	Bei MDS	35
4.3	Überleben anhand des peripheren Donorchimärismus	37
4.3.1	Krankheitsfreies Überleben und Gesamtüberleben bei AML	37
4.3.2	Krankheitsfreies Überleben und Gesamtüberleben bei MDS	38
5	Diskussion.....	41
5.1	Einflussfaktoren auf den frühen peripheren Donorchimärismus	41
5.2	Überleben anhand des peripheren Donorchimärismus	44
5.3	Definition des vollen Donorchimärismus	45
6	Zusammenfassung.....	46
7	Summary	47
8	Abkürzungsverzeichnis	48

9	Abbildungsverzeichnis	50
10	Tabellenverzeichnis	51
11	Literaturverzeichnis	52
12	Danksagung	61
13	Erklärung des Eigenanteils	62
14	Eidesstattliche Versicherung.....	63

1 Arbeitshypothese und Fragestellung

Schon lange Zeit gehört die Messung des peripheren Donorchimärismus zum Standardprozedere nach allogener Stammzelltransplantation. Dies dient der Überwachung des Anwachsens der hämatopoetischen Stammzellen, dem Erkennen einer Transplantatabstoßung, sowie Detektion eines Frührezidivs (Bader *et al.*, 1998; Dubovsky *et al.*, 1999; Peters *et al.*, 1999; Thiede *et al.*, 2001).

Der prädiktive Stellenwert des frühen peripheren Donorchimärismus in Bezug auf das Auftreten eines Rezidivs respektive auf das Überleben bleibt jedoch, trotz Steigerung der Sensitivität in der Analytik oder Analyse von Subgruppen, kontrovers (Bornhäuser *et al.*, 2009; Reshef *et al.*, 2014; Devine *et al.*, 2015; Mountjoy *et al.*, 2021). Es konnte gezeigt werden, dass unter Verwendung eines kinetischen Ansatzes mittels exponentieller Funktion unter Einbezug von Zeit und zweier Chimärismuswerte, eine höhere Spezifität sowie ein höherer positiver prädiktiver Wert, in Bezug auf die Erkennung eines Rezidivs gegenüber einem statischen Ansatz, besteht (Sellmann *et al.*, 2018).

Eine bisher noch nicht durchgeführte Möglichkeit das Überleben in Abhängigkeit des peripheren Donorchimärismus zu untersuchen, ist die statistische Analyse nach Simon und Makuch. Hierbei wird im Gegensatz zum Kaplan-Meier-Schätzer berücksichtigt, dass sich bei den Patienten *under risk* der Status der Covariate im zeitlichen Verlauf verändern kann (Simon and Makuch, 1984).

Insofern bestand die Frage, welchen Stellenwert der periphere Donorchimärismus in Bezug auf krankheitsfreies Überleben und Gesamtüberleben nach allogener Stammzelltransplantation mittels der Überlebensanalyse nach Simon und Makuch bei AML und MDS hat.

Um dieser Frage nachzugehen, wurde die Entwicklung des peripheren Donorchimärismus an 539 Patienten mit AML (n=382) und MDS (n=157), welche zwischen 2001 und 2018 am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf allogene Stammzelltransplantiert wurden, untersucht. Hierfür wurden drei Messzeiträume des Donorchimärismus nach Transplantation definiert (erste Messung, um Tag 180, um Tag 365), welche für die Analyse nach Simon und Makuch verwendet wurden.

Zusätzlich sollte noch evaluiert werden, welche Faktoren Einfluss nehmen auf die frühe Kinetik (erste Messung nach Transplantation) des peripheren Donorchimärismus, wofür mittels der Verwendung des Akaike information criterion (AIC) ein lineares, multivariablen Regressionsmodell erstellt wurde.

2 Einleitung

2.1 Akute myeloische Leukämie

2.1.1 Ätiologie und Pathophysiologie

Bei der akuten myeloischen Leukämie (AML) handelt es sich um eine klonale, bösartige Erkrankung des blutbildenden Gewebes, bei der es zu einer Anhäufung von leukämischen Blasten im Knochenmark kommt, wodurch die Produktion normaler Blutzellen beeinträchtigt wird und es folglich zur Panzytopenie kommt (Liesveld Jane L. and Lichtman Marshall A., 2021). Dies resultiert als Folge von verschiedenen somatischen Mutationen, in der Regel auf Ebene einer multipotenten Vorläuferzelle und seltener in Vorläuferzellen, die hinsichtlich der Ausdifferenzierung schon beschränkter sind (Liesveld Jane L. and Lichtman Marshall A., 2021).

Durch die Mutationen kommt es zu einer Fehlsteuerung verschiedener Signaltransduktionswege, wodurch der normale Ablauf von Differenzierung und Reifung, Proliferation und Überlebenssignalen in den Zellen gestört ist (Liesveld Jane L. and Lichtman Marshall A., 2021). Dies kann unzählige Signaltransduktionswege beeinträchtigen, am häufigsten sind jedoch der PI3K-AKT-, der RAS-RAF-MEK-ERK- und der STAT3-Signalweg betroffen (Scholl, Gilliland and Fröhling, 2008).

Neben zytogenetischen Veränderungen, welche in ca. 50% der Patienten nachgewiesen werden können (Najfeld Vesna, 2022), finden sich mittels NGS in > 95% der Fällen auch Genmutationen (Duncavage *et al.*, 2022).

In den meisten Fällen einer akuten myeloischen Leukämie lässt sich keine eindeutige Erklärung für diese finden, jedoch gibt es auch prädisponierende Faktoren (Brunner Andrew M. and Graubert Timothy A., 2022). Dabei kann es sich beispielsweise um Umweltfaktoren wie Exposition gegenüber Benzolen (Rinsky, 1989) oder ionisierender Strahlung (Tsushima, Miyazaki and Iwanaga, 2012), sowie durchgeführte Chemotherapien (v.a. Topoisomerase-II-Inhibitoren wie Anthrazykline und Alkylanzien wie Melphalan) handeln (Brunner Andrew M. and Graubert Timothy A., 2022). Auch können andere Erkrankungen der hämatopoetischen Stammzelle, wie beispielsweise myelodysplastische oder myeloproliferative Neoplasien, in eine akute myeloische Leukämie fortschreiten (Liesveld Jane L. and Lichtman Marshall A., 2021). Ferner gibt es auch zahlreiche vererbte oder angeborene Erkrankungen, exemplarisch das Down-Syndrom (Puumala *et al.*, 2007) oder die Fanconi-Anämie, welche das Risiko für eine AML deutlich erhöhen (Rosenberg, Alter and Ebell, 2008).

2.1.2 Diagnostik

Zur Diagnose einer akuten myeloischen Leukämie gibt es zwei Klassifikationssysteme, die beide zur Diagnosestellung benutzt werden können. Dabei handelt es sich um die Klassifikation der Weltgesundheitsorganisation (WHO) (Khoury *et al.*, 2022) und um die internationale Konsensus-Klassifikation (ICC) (Arber *et al.*, 2022). Beide Klassifikationssysteme haben gemein, dass der Fokus auf den zytogenetischen und molekularen Veränderungen liegt. Dabei ist es gemäß WHO-Klassifikation möglich, eine AML anhand von genetischen Veränderungen zu definieren (z.B. *RUNX1::RUNX1T1* Fusion), ohne dass die Anzahl der Blasten herangezogen werden muss. Bis auf geringe Abweichungen decken sich die AML-definierenden genetischen Mutationen der WHO-Klassifikation mit denen der ICC, die dort als rekurrente genetische Veränderungen bezeichnet werden. Zusätzlich bedarf es gemäß ICC jedoch den Nachweis von $\geq 10\%$ Blasten im peripheren Blut oder Knochenmark. Ein weiterer Unterschied der beiden Klassifikation wird bei fehlendem Nachweis von definierenden genetischen Veränderungen offensichtlich: Im Rahmen der WHO-Klassifikation wird in diesem Fall anhand der morphologischen Merkmale klassifiziert, gemäß ICC würde es sich um eine AML nicht näher bezeichnet („not otherwise specified“) handeln. In beiden Fällen wäre eine Blastenanzahl von $\geq 20\%$ zur Diagnosestellung erforderlich.

Um überhaupt die für die Klassifikation notwendigen Informationen vorliegen zu haben, bedarf es speziellen Untersuchungen. Dabei zählt zum absoluten Standard die Durchführung einer Knochenmarkspunktion, zur Gewinnung von Aspirat und einer Biopsie. Anhand des gewonnenen Materials kann die Morphologie der Blasten beurteilt als auch die Blastenanzahl bestimmt werden, eine Immunphänotypisierung mittels Durchflusszytometrie durchgeführt werden (welcher Differenzierungsreihe zugehörig?) und zytogenetische (konventionelle Zytogenetik/FISH) und molekulargenetische Untersuchungen (PCR/NGS) durchgeführt werden. Neben der Diagnostik dient Letzteres auch der Risikoklassifikation.

2.2 Myelodysplastische Neoplasien

2.2.1 Ätiologie und Pathophysiologie

Bei den myelodysplastischen Neoplasien (MDS) handelt es sich um eine Gruppe von klonaler hämatopoetischer Störungen, die durch eine ineffektive Hämatopoese und Zytopenien, dysmorphen Blut- und Knochenmarkzellen, sowie dem Risiko des Fortschreitens in eine akute myeloische Leukämie gekennzeichnet sind (Cazzola, 2020).

Dabei ist der klinische Verlauf extrem variabel, von Zytopenien mit gelegentlichem Transfusionsbedarf bis hin zu aggressiven Formen mit raschem Übergang in eine AML reichend (Greenberg *et al.*, 2012).

80-85% der Erkrankungen treten idiopathisch auf als Folge einer kontinuierlichen Anhäufung somatischer Mutationen in einer hämatopoetischen Stammzelle. Als sekundäre Ursachen konnten Chemotherapien (v.a. Einsatz von Alkylanzien oder Topoisomerase-II-Inhibitoren), Exposition gegenüber ionisierender Strahlung oder Kontakt mit DNA-Toxine wie Benzol ausgemacht werden (Bejar and Steensma, 2021; Patel Bhumika J. and Smith Catherine, 2022).

In ca. 50% der Fällen kann mittels Zytogenetik ein veränderter Karyotyp, (Bejar and Steensma, 2021) und in ca. 90% der Fällen mindestens eine Genmutation nachgewiesen werden. Letztere betreffen am häufigsten Gene des Spleißapparates (z.B. SF3B1), der DNA-Methylierung (z.B. TET2), der Chromatinmodifikation (z.B. ASXL1) oder von Transkriptionsfaktoren (z.B. RUNX1) (Haferlach *et al.*, 2014).

2.2.2 Diagnostik

Wie auch bei der akuten myeloischen Leukämie gibt es auch zur Klassifikation der myelodysplastischen Neoplasien zwei Klassifikationssysteme, und zwar von der WHO sowie der ICC (Arber *et al.*, 2022; Khoury *et al.*, 2022).

Unabhängig davon, welches Klassifikationssystem verwendet wird, ist die Voraussetzung das Vorliegen von Zytopenien im peripheren Blut für mindestens vier Monate. Die Grenzwerte hierfür wurden wie folgt festgelegt:

Zellreihe	Grenzwert
Hämoglobin	Männer: <13 g/dl Frauen: <12 g/dl
Absolute Neutrophilenzahl	<1,8 G/l
Thrombozyten	<150 G/l

Tab. 1: Definition der Zytopenien im peripheren Blut bei MDS nach Greenberg *et al.*, 2016

Weiterhin muss die Blastenzahl im peripheren Blut oder Knochenmark $<20\%$ und der Anteil dysplastischer Zellen in der entsprechenden Linie bei $>10\%$ liegen. Das Vorhandensein von dysplastischen Veränderungen, sowohl im Knochenmark als auch im peripheren Blut, ist zur Diagnosestellung nicht bei allen Subtypen zwingend erforderlich.

Im Blutaussstrich können zum Beispiel hypolobulierte Granulozyten oder Riesenthrombozyten erste Hinweise auf eine myelodysplastische Neoplasie liefern. Die Durchführung einer Knochenmarkpunktion ist obligat. Dabei können im Aspirat häufig Erythrozytenvorläufer identifiziert werden, die eine Asynchronität der Kern-Zytoplasma-Reifung aufweisen. Die Biopsie ist meistens hyperzellulär, in Zusammenschau mit der peripheren Zytopenie, ein Zeichen der ineffektiven Hämatopoese. Zudem können im Biopsat auch die Architektur, die Megakaryozytenmorphologie sowie das Vorhandensein einer Fibrose beurteilt werden. Zur Beurteilung von Chromosomenaberrationen wird die konventionelle Zytogenetik eingesetzt, wobei es auch Aberrationen gibt, die damit nicht detektiert werden können (Patel Bhumika J. and Smith Catherine, 2022).

Gemäß WHO-Klassifikation erfolgt eine Unterteilung in genetisch und morphologisch definierte MDS. Auch die ICC berücksichtigt Blastenanteil, Dysplasien, Zytogenetik und molekulare Mutationen. Dabei unterscheidet sich diese beispielsweise durch die Einteilung in Einlinien- und Mehrliniendysplasien bei Patienten ohne Blastenvermehrung.

2.3 Allogene Stammzelltransplantation

2.3.1 Übersicht

Die Anfänge der Stammzelltransplantation beim Menschen fanden sich im Jahr 1957, als Thomas et al. unter anderem über einen 44-jährigen Patienten mit chronisch myeloischer Leukämie berichteten, welcher nach initialer Behandlung mit Röntgenstrahlung, Busulfan und 6-Mercaptopurin progredient war und nach Ganzkörperbestrahlung das Knochenmark eines 26-Wochen alten, verstorbenen Fetus transplantiert bekam. 24 Stunden später starb der Patient (Thomas *et al.*, 1957).

Mittlerweile wurde die allogene Stammzelltransplantation zu einer wichtigen Therapiemöglichkeit bei malignen als auch nichtmalignen Krankheiten. Seit der Verwendung von Konditionierungsschemata mit reduzierter Intensität (RIC), einer verbesserten Kompatibilitätsabklärung (HLA-Übereinstimmung) und Donorverfügbarkeit

(inklusive Nabelschnurblut) sowie besserer Betreuung nach Transplantation, wodurch die Sicherheit erhöht und die Therapie von älteren Patienten möglich wurde, hat sich die Anwendung der allogenen Stammzelltransplantation erhöht (Gratwohl *et al.*, 2013; Passweg *et al.*, 2014).

Der zunehmende Stellenwert der allogenen Stammzelltransplantation lässt sich gut anhand der zunehmenden Anzahl der Transplantationen am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf von 1999-2018 erkennen (siehe Abbildung 1). Zu beachten ist dabei, dass das Jahr 2018 nicht vollständig repräsentiert ist.

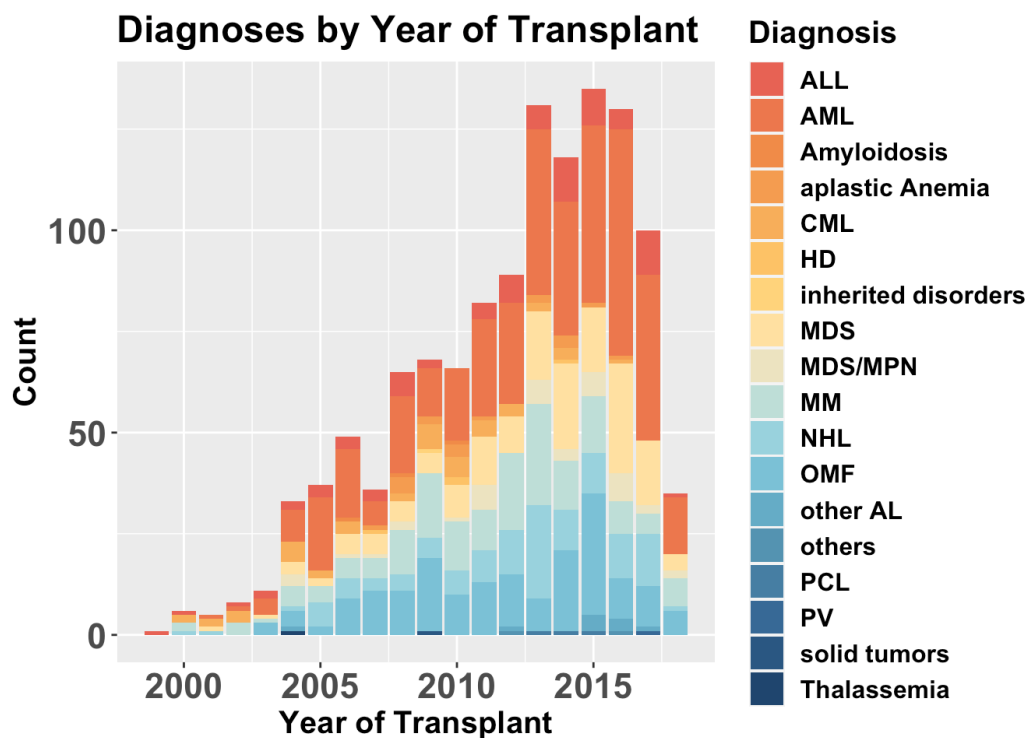


Abb. 1: Häufigkeit der Stammzelltransplantation pro Jahr und pro Krankheit von 1999 – 2018 am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf. Zu beachten: 2018 ist nicht vollständig repräsentiert.

Grundsätzlich bedarf es zunächst, unter Berücksichtigung der Histokompatibilität anhand der HLA-Gene auf Chromosom 6, eines passenden Stammzellspenders. Bei Vorhandensein von Geschwistern besteht die fast 25%-Chance auf einen HLA-identischen Spender, ansonsten wird versucht HLA-identisch mit einem unverwandten Spender zu transplantieren. Alternativ kann bei fehlender Verfügbarkeit auch auf Nabelschnurblut, bei dem keine so große HLA-Übereinstimmung notwendig ist, oder auf haploidentische Familienmitglieder zurückgegriffen werden (Giralt and Bishop, 2009; Khan, Shah and Ulrickson, 2022). Als Stammzellquelle dient entweder Knochenmarkaspirat, peripher entnommene Stammzellen nach Mobilisierung, oder seltener das bereits erwähnte

Nabelschnurblut. In zahlreichen Studien konnte zwischen Stammzellen aus Knochenmarkaspirat und peripher entnommenen Stammzellen hinsichtlich Gesamtüberleben und krankheitsfreiem Überleben kein signifikanter Unterschied festgestellt werden (Al-Jurf *et al.*, 2005).

Die unmittelbar vor der allogenen Stammzelltransplantation durchgeführte (Radio-) Chemotherapie wird als Konditionierung bezeichnet. Hier kann, je nach Intensität der Therapie und damit Dauer der anschließenden Panzytopenie, zwischen myeloablativem, dosisreduziertem und nicht-ablativem Regime unterschieden werden (Bacigalupo *et al.*, 2009).

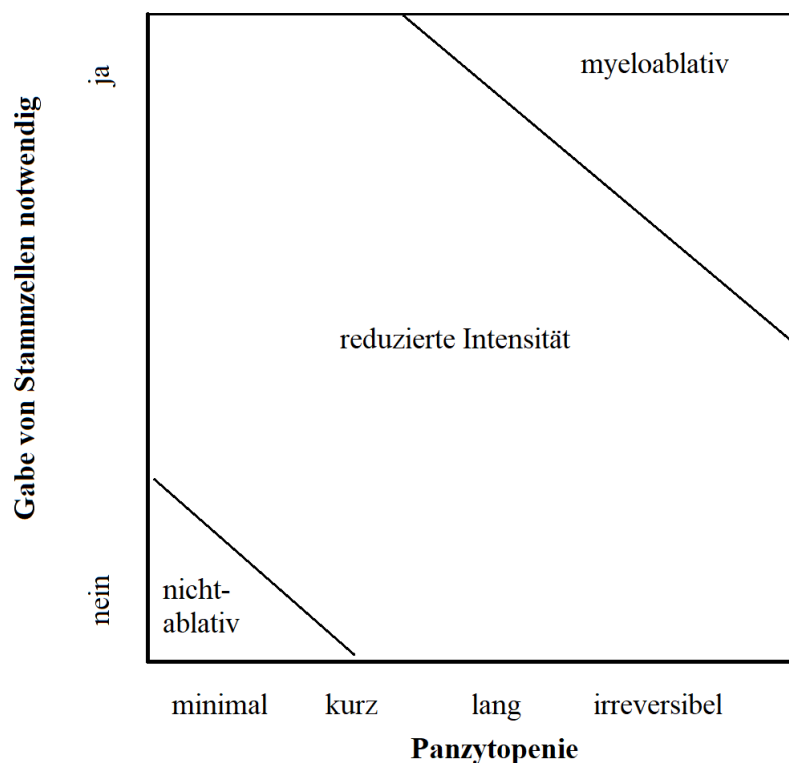


Abb. 2: Klassifikation der verschiedenen Konditionierungsschemata anhand der Dauer der Panzytopenie und Notwendigkeit der Gabe von Stammzellen nach Bacigalupo *et al.*, 2009

Der therapeutische Effekt der Transplantation beruht dabei zum einen auf der Dosisintensität der vor Transplantation durchgeführten Konditionierung (Bacigalupo *et al.*, 2009), sowie dem immunologisch vermittelten, antileukämischen Effekt durch das transplantierte Immunsystem (*Graft-vs-leukemia effect*) (Horowitz *et al.*, 1990). Durch das Aufkommen der Therapieregime mit reduzierter Intensität, wurde die allogene Stammzelltransplantation auch älteren und morbidere Patienten zugänglich.

Nach der Konditionierung und Transfusion der Stammzellen besteht eine Panzytopenie, bis es zum Anwachsen der Stammzellen im Knochenmark kommt. Das Anwachsen für neutrophile Granulozyten ist definiert als der erste von drei aufeinanderfolgenden Tagen, an denen die Anzahl bei $>500/\mu\text{l}$ liegt, für Thrombozyten bei einem Wert von $>20.000/\mu\text{l}$ ohne Transfusion innerhalb der vergangenen sieben Tage (Khan, Shah and Ulrickson, 2022)

Zur Prophylaxe einer Graft-versus-Host-Reaktion bedarf es der Etablierung einer Immunsuppression, für gewöhnlich unter Verwendung eines Calcineurininhibitors mit einem Antimetaboliten (Zeiser and Blazar, 2017a).

2.3.2 Komplikationen

Trotz der vielen Fortschritte in den vergangenen Jahren bleibt die allogene Stammzelltransplantation eine Therapie mit hohem Risiko, beispielsweise für Infektionen, Transplantatversagen und Graft-versus-Host-Reaktionen.

Bezüglich Infektionen ist das Risiko für sowohl bakterielle, virale als auch mykotische Infektionen erhöht. Während bakterielle Infektionen vor allem während der Neutropenie auftreten, steigt das Risiko für mykotische Infektionen in Abhängigkeit der Dauer der Neutropenie, Ausmaß der Immunsuppression, Einsatz von Glukokortikoiden und dem Auftreten einer Graft-versus-Host-Reaktion. Durch medikamentöse Prophylaxe, beispielsweise mit Sulfamethoxazol/Trimethoprim und Posaconazol wurden mykotische Infektionen zuletzt seltener. Virale Infektionen nach allogener Stammzelltransplantation sind häufig. Dabei kann es sich sowohl um Erstinfektionen als auch um endogene Reaktivierungen handeln (Khan, Shah and Ulrickson, 2022).

Auch kann es nach einer Stammzelltransplantation zum Transplantatversagen kommen. Hierbei wird zwischen primärem und sekundärem Transplantatversagen unterschieden. Beim Primären besteht auch an Tag +28 unter Verwendung von Knochenmarkaspirat/peripher gewonnenen Stammzellen respektive an Tag +42 unter Verwendung von Stammzellen aus Nabelschnurblut, eine Neutrophilenanzahl von $<500/\mu\text{l}$. Beim Sekundären kommt es nach vorherigem, erfolgreichem Anwachsen erneut zu einer Neutrophilenzahl von $<500/\mu\text{l}$ (Ozdemir and Civriz Bozdağ, 2018). Das Risiko für ein Transplantatversagen ist beispielsweise durch eine geringere HLA-Übereinstimmung

(Mattsson, Ringdén and Storb, 2008) oder in Abhängigkeit der Grunderkrankung erhöht (Olsson *et al.*, 2012).

Eine häufige Komplikation nach Transplantation stellt zudem die Graft-versus-Host-Reaktion dar. Diese tritt auf, wenn immunkompetente T-Zellen des Donors das Empfängergewebe des Patienten als fremd erkennen. Die dadurch in Gang gesetzte Immunkaskade sorgt schließlich dafür, dass antigentragende Zellen des Patienten angegriffen werden. Je nach zeitlicher Manifestation wurde lange Zeit zwischen einer akuten (bis Tag 100), und einer chronischen (ab Tag 100) Graft-versus-Host-Reaktion unterschieden, jedoch können sich beide Ausprägungen zeitlich unabhängig manifestieren (Filipovich *et al.*, 2005).

Bei der akuten GvHD kommt es für gewöhnlich zu Schädigungen der Haut, der Leber und/oder des Gastrointestinaltrakts. Bei der chronischen GvHD hingegen können daneben weitere Organsysteme betroffen sein, zum Beispiel Ösophagus, Gelenke, Auge oder Genitalien (Zeiser and Blazar, 2017c, 2017b).

Risikofaktoren für eine akute Graft-versus-Host-Reaktion stellen eine geringe HLA-Übereinstimmung, Stammzellen eines nicht verwandten Spenders, ein weiblicher Spender bei männlichem Empfänger, die Verwendung von peripher gewonnenen Stammzellen und die Intensität der Konditionierung dar (Loiseau *et al.*, 2007; Flowers *et al.*, 2011; Jagasia *et al.*, 2012).

2.3.3 Bei akuter myeloischer Leukämie

Vor über 60 Jahren wurde die allogene Stammzelltransplantation als neue und potenziell heilende Therapieform für Patienten mit chemotherapieresistenter akuter myeloischer Leukämie eingeführt (Thomas *et al.*, 1957; Appelbaum, 2007). In einer Metaanalyse von prospektiven, klinischen Studien über die allogene Stammzelltransplantation bei AML durch Koreth *et al.* wurde gezeigt, dass das 5-Jahres-Überleben nach allogener Stammzelltransplantation in erster Remission, bei Patienten mit einer Zytogenetik von intermediärem oder ungünstigem Risiko, signifikant verlängert ist. Bei günstigerem zytogenetischem Profil hingegen konnte kein Überlebensvorteil festgestellt werden. Dies liegt an dem mit der allogenen Stammzelltransplantation vergesellschaftetem höheren Risiko für eine therapieassoziierte Mortalität (Koreth *et al.*, 2009).

Insofern gilt es daher die Indikationsstellung, unter Berücksichtigung des Rezidivrisikos bei alleiniger Chemotherapie als auch der therapieassoziierten Mortalität, für allogene Stammzelltransplantation kritisch zu stellen (Cornelissen *et al.*, 2012).

Hierzu wurden Modelle entwickelt, wie zum Beispiel der HCT-Komorbiditätsindex („Hematopoietic Cell Transplantation-specific Comorbidity Index“ (Sorrer *et al.*, 2005, 2014), welche die Wahrscheinlichkeit einer nicht-rezidiv-assoziierten Mortalität nach allogener Stammzelltransplantation unter Einbezug von Komorbidität und Alter abschätzen.

Weiterhin bedarf es zur Risikostratifizierung vor allogener Stammzelltransplantation das Einbeziehen von sowohl klinischer Faktoren (Wheatley *et al.*, 1999), dem zytogenetischen Risiko anhand von Karyotypisierung (Grimwade *et al.*, 2010), als auch den Einbezug von Mutationen in bestimmten Genen (z.B. FLT3 (Kottaridis *et al.*, 2001), NPM1 (Falini *et al.*, 2005) oder ASXL1 (Metzeler *et al.*, 2011)). Eine Übersicht liefern die nachfolgende Tabellen:

Klinische Faktoren	Molekulare Faktoren	Dynamische Faktoren
Alter	Zytogenetik	Morphologisches Ansprechen nach 1. Induktionszyklus
Geschlecht	Genmutationen (z.B. FLT3, NPM1, RUNX1, ASXL1, TP53)	Therapieansprechen anhand von minimaler Resterkrankung („MRD“)
Leukozytenzahl		
De novo / sekundäre AML		
Performancestatus		

Tab. 2: Risikostratifizierung bei AML nach (Loke, Buka and Craddock, 2021)

Risikokategorie	Genetische Veränderung
Günstig	- t(8;21)(q22;q22.1)/RUNX1::RUNX1T1 - inv(16)(p13.1q22) oder t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB::MYH11 - mutiertes NPM1 ohne FLT3-ITD-Mutation - Mutation im Leseraster der bZIP-Domäne von CEBPA
Intermediär	- mutiertes NPM1 mit FLT3-ITD-Mutation - NPM1-Wildtyp mit FLT3-ITD-Mutation (ohne ungünstigen genetischen Veränderungen) - t(9;11)(p21.3;q23.3)/MLLT3::KMT2A - zytogenetische und/oder molekulare Veränderungen nicht klassifizierbar als günstig/ungünstig
Ungünstig	- t(6;9)(p23.3;q34.1)/DEK::NUP214 - t(v;11q23.3)/KMT2A-Neuordnung - t(9;22)(q34.1;q11.2)/BCR::ABL1 - t(8;16)(p11.2;p13.3)/KAT6A::CREBBP - inv(3)(q21.3q26.2) oder t(3;3)(q21.3;q26.2)/GATA2, MECOM(EVI1) - t(3q26.2;v)/MECOM(EVI1)-Neuordnung - -5 or del(5q); -7; -17/abn(17p) - komplexer Karyotyp, monosomaler Karyotyp - mutiertes ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, und/oder ZRSR2 - mutiertes TP53

Tab. 3: Risikostratifizierung bei AML anhand genetischer Veränderungen bei Diagnosestellung nach European LeukemiaNet (ELN) (Döhner et al., 2022)

Falls eine allogene Stammzelltransplantation angestrebt wird, ist es das Ziel in der ersten Remission zu transplantieren. Zur Remissions-Induktion wird in den meisten Fällen das 7+3 Schema mit Cytarabin (100-200mg/m²-Körperoberfläche/Tag i.v. Tag 1-7) und einem Anthrazyklin wie Idarubicin (12mg/m²-Körperoberfläche/Tag i.v. Tag 1-3) oder Daunorubicin (60-90 mg/m²-Körperoberfläche/Tag i.v. Tag 1-3) verwendet. Hierunter kann in Abhängigkeit des Alters eine komplette Remission in 40-80% erreicht werden (Shukla Neerav, Walter and Walsh Michael F., 2022). Mittlerweile gibt es verschiedene Wirkstoffe, die gezielt bei bestimmten genetischen Veränderungen als Addon-Therapie eingesetzt werden können, wie beispielsweise Midostaurin, ein Tyrosinkinase-Inhibitor bei FLT3-Mutation, für den ein verbessertes Gesamtüberleben gezeigt werden konnte (Stone *et al.*, 2017).

Um nach Erreichen der Remission die allogene Stammzelltransplantation durchführen zu können, wird mit der sogenannten Konditionierung begonnen. Die Auswahl der Intensität des entsprechenden Therapieregimes wird anhand von Patientencharakteristika (z.B. Alter, Komorbiditäten) festgelegt. Nachdem eine prospektiven Phase III-Studie, bei der myeloablative und dosisreduzierte Regime bei allogener Stammzelltransplantation bei AML oder MDS verglichen wurden, wegen einer deutlich erhöhten Rezidivrate in der Gruppe der dosisreduzierten Konditionierung abgebrochen werden musste, sollte bei fitten Patienten eine myeloablative Konditionierung durchgeführt werden (Scott *et al.*, 2015).

Beispiele für myeloablative sowie dosisreduzierte Regime zur Konditionierung können der nachfolgenden Tabelle entnommen werden:

Myeloablative Konditionierung	
Cy TBI	Cyclophosphamid 120 mg/kg + TBI 8-12 Gy
Bu Cy	Cyclophosphamid 120 mg/kg + Busulfan 9,6-12,8 mg/kg i.v. oder p.o. (Äquivalenzdosis)
Flu Bu	Fludarabin 120-150 mg/kg + Busulfan 9,6-12,8 mg/kg i.v. oder p.o. (Äquivalenzdosis)
Dosisreduzierte Konditionierung	
Flu Bu	Fludarabin 120-180 mg/m ² + Busulfan (≤ 8mg/kg p.o, oder i.v. (Äquivalenzdosis)
Flu Mel	Fludarabin 120-180 mg/m ² + Melphalan (≤ 150 mg/m ²

Tab. 4: Verbreitete Konditionierungsregimes bei AML nach (Scott *et al.*, 2015; Khan, Shah and Ulrickson, 2022)

2.3.4 Bei myelodysplastischen Neoplasien

Die allogene Stammzelltransplantation ist die einzige kurative Behandlungsmöglichkeit für Patienten mit MDS. Vor dem Hintergrund der unterschiedlichen Krankheitsverläufe, von fast normaler Lebenserwartung bis zum Übergang in eine AML, ist aufgrund des vergesellschafteten Risikos mit einer allogenen Stammzelltransplantation eine Risikostratifizierung unerlässlich. Die Entscheidungsfindung ist komplex und stützt sich auf patienten- und krankheitsbezogene Merkmale.

Zur Einschätzung der patientenbezogenen Merkmale eignen sich der HCT-Komorbiditätsindex und der Karnovsky-Index (Sorrer *et al.*, 2007; McClune *et al.*, 2010). Das Patientenalter ist per se kein Risikofaktor (Lim *et al.*, 2010).

Krankheitsbezogene Faktoren werden unter anderem vom IPSS-R erfasst, welcher sowohl zytogenetische Veränderungen, Zytopenien und die Anzahl der Blasten im Knochenmark berücksichtigt (Greenberg *et al.*, 2012). Weiterhin konnte für die Anzahl der Blasten im Knochenmark (Runde *et al.*, 1998), die Transfusionsbedürftigkeit (Alessandrino *et al.*, 2010), die Ausprägung einer Knochenmarkfibrose (Kröger *et al.*, 2011) und zahlreiche Genmutationen (Bejar *et al.*, 2011) ein prognostischer Einfluss gezeigt werden.

Der empfohlene Zeitpunkt zur allogenen Stammzelltransplantation variiert je nach Risikoprofil. So konnte für MDS mit niedrigem und mittlerem Risiko („intermediate-1“), gemäß des alten IPSS-Scores, mit verzögerter Transplantation nach Diagnosestellung eine Maximierung der Lebenserwartung erreicht werden, wohingegen bei mit mittlerem Risiko („intermediate-2“) und hohem Risiko eine sofortige Transplantation nach Diagnosestellung zu dieser führte (Cutler *et al.*, 2004). Diese Studie gibt jedoch lediglich Orientierung, und weitere Faktoren, wie die zuvor erwähnten, müssen berücksichtigt werden.

Ob eine Zytoreduktion vor Konditionierung gegenüber eines sofort durchgeführten konditionierenden Regimes überlegen ist, konnte bislang nicht vollständig geklärt werden, wobei es auch Daten gibt, die eine sofortige Konditionierung favorisieren (Wang *et al.*, 2021). Von einem Expertengremium wurde diesbezüglich empfohlen, bei einer Blastenanzahl von > 10% im Knochenmark bei MDS von höherem Risiko (IPSS-R > 3 Punkte) eine Zytoreduktion mittels Chemotherapie oder hypomethylierenden Substanzen in Betracht zu ziehen (De Witte *et al.*, 2017).

Ob eine intensive Chemotherapie oder der Einsatz von hypomethylierenden Substanzen zur Zytoreduktion besser geeignet ist, ist Gegenstand aktueller Forschung (NCT01812252).

Bisherige Studien konnten keine Unterschiede zwischen den beiden Behandlungsmöglichkeiten feststellen (Damaj *et al.*, 2012). Hinsichtlich der Art der Konditionierung konnte zwischen myeloablativer Konditionierung und Regimen mit reduzierter Intensität kein Unterschied in Bezug auf das Gesamtüberleben festgestellt werden (Kröger *et al.*, 2017). Wegen erhöhter Rezidivrate bei reduzierter Intensität (Scott *et al.*, 2015) sollte bei fitten Patienten mit hohem Risikoprofil eine myeloablative Konditionierung durchgeführt werden (De Witte *et al.*, 2017). Ein Beispiel für eine myeloablative als auch eine dosisreduzierte Konditionierung bei myelodysplastischen Neoplasien kann der nachfolgenden Tabelle entnommen werden:

Myeloablative Konditionierung	
Bu Cy	Busulfan (16 mg/kg p.o. oder 12,8 mg/kg i.v.) + Cyclophosphamid (120 mg/kg)
Dosisreduzierte Konditionierung	
Flu Bu	Fludarabin (150mg/m ²) + Busulfan (8 mg/kg p.o oder 6,4 mg/kg i.v.

Tab. 5: Beispiele für Konditionierungsregime bei MDS nach (Kröger *et al.*, 2017)

2.4 Donorchimärismus

2.4.1 Definition

Wenn es nach allogener Stammzelltransplantation zum Einsetzen der Hämatopoese kommt, stellt sich die Frage, ob die gebildeten Blutzellen von Empfänger- oder Spenderstammzellen abstammen. Hierfür bedarf es der sogenannten Chimärismusanalyse. Etymologisch lehnt sich der Chimärismus an der Chimäre aus der griechischen Mythologie an, einem von Homer beschriebenen, feuerspuckenden Monster mit dem Kopf eines Löwen, dem Körper einer Ziege und dem Schwanz einer Schlange (Bader *et al.*, 2005). Bezugnehmend auf die Koexistenz unterschiedlicher Abstammungslinien, wurde der Begriff Chimärismus innerhalb der Medizin 1951 (Anderson *et al.*, 1951) und innerhalb der Transplantationsmedizin 1956 (Ford *et al.*, 1956) erstmalig verwendet.

Dabei können unterschiedliche Chimärismen unterschieden werden (Bader *et al.*, 2005).

Art des Chimärismus	Definition
Kompletter Chimärismus	Nur Spender-DNA liegt vor
Gemischter Chimärismus	Spender- und Empfänger-DNA nachweisbar - Abfallend Abnahme der Empfänger-DNA - Stabil Verhältnis zwischen Spender- und Empfänger-DNA ohne signifikante Änderung - Ansteigend Zunahme der Empfänger-DNA
Gespaltener Chimärismus	Empfänger-DNA nicht in allen Zelllinien nachweisbar
Autologe Erholung	Nur Empfänger-DNA nachweisbar

Tab. 6: Definition des Chimärismus nach (Bader et al., 2005)

Die Einteilung in die verschiedenen Chimärismusarten impliziert bereits, dass es sich dabei um einen dynamischen Prozess handelt, also dass beispielsweise ein gemischter Chimärismus in einen kompletten übergehen kann, und umgekehrt (M Ramírez, 1996; P Bader, 1996; Bader *et al.*, 1997). Ab wann von einem kompletten Chimärismus gesprochen wird, ist in der Literatur nicht eindeutig festgelegt. Sicher ist, dass die Sensitivität der verwendeten Messmethode hierfür maßgebend ist (Bader *et al.*, 2005). Zur Erhöhung der Sensitivität kann die Analyse von Zelluntergruppen erfolgen (Ch Thiede, 2002; Bornhäuser *et al.*, 2009; Hoffmann *et al.*, 2014)

2.4.2 Messung des Chimärismus

Verschiedene Methoden können zur Bestimmung des Chimärismusstatus zum Einsatz kommen, unter anderem die semiquantitative fluoreszierende Polymerasekettenreaktion (QF-PCR) von short tandem repeats respektive Mikrosatelliten, die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) von X- und Y-Chromosomen, sowie die quantitative real-time PCR-Analyse (qPCR) von *single nucleotide polymorphisms* (SNP) und Insertionen/Deletionen (Indels) (Clark *et al.*, 2015). Zudem wird neuerdings auch *next generation sequencing* zur Chimärismusanalyse eingesetzt (Liacini *et al.*, 2023). Dabei geht es stets darum, genetische Marker zu identifizieren, wodurch die Herkunft der Zellen, also aus der Empfänger- oder Spenderhämatopoese, bestimmt werden kann.

Geeignetes Material zur Untersuchung sind sowohl peripheres Blut als auch Knochenmarkaspirat. Obwohl viele hämatologischen Erkrankungen in erster Linie das Knochenmark betreffen, besteht keine eindeutige Evidenz die Untersuchung aus Knochenmark als überlegen anzusehen (Liesveld and Rothberg, 2008; Stumph *et al.*, 2008; Rauwerdink *et al.*, 2012).

Die Messzeitpunkte des Chimärismus nach allogener Stammzelltransplantation variieren je nach Zentrum. In einer globalen Umfrage unter Mitgliedern des Zentrums für internationale Blut- und Knochenmarktransplantationsforschung (CIBMTR) wurden als Messzeitpunkte am häufigsten Tag 30, sowie, ca. 3, 6 und 12 Monate nach Transplantation angegeben (Blouin and Askar, 2022). In einem Workshop aus dem Jahr 2001 wurde die Empfehlung von 2-4 wöchentlichen Testungen bis zur Stabilisierung des Chimärismus, gefolgt von 1, 3, 6 und 12 Monaten nach Transplantation, ausgesprochen (Antin *et al.*, 2001).

2.4.3 Einflussfaktoren auf den Chimärismus

Wie sich der Donorchimärismus nach allogener Stammzelltransplantation entwickelt, ist von verschiedenen Faktoren abhängig.

So konnte in einem multivariaten Modell gezeigt werden, dass neben der Anzahl der CD34+-Zellen, dem Konditionierungsverfahren, der Verwendung von ATG auch eine zuvor stattgefundene Chemotherapie Einfluss auf die Kinetik des Chimärismus hat. Keinen unabhängigen Einfluss konnten für Alter, Herkunft der Stammzellen (peripheres Blut/Knochenmark), HLA-match, Anzahl der CD3+-Zellen im Transplantat, Selektionierung von CD34+-Zellen aus PBSC, Verwandtschaftsgrad zwischen Spender und Empfänger und

Schweregrad einer akuten Graft-versus-Host-Reaktion festgestellt werden (Mohr *et al.*, 2004).

In einer Studie von Michallet *et al.* (Michallet *et al.*, 2005) wurden Einflussfaktoren auf die Entwicklung eines vollen Donorchimärismus und gemischten Donorchimärismus, mit Unterteilung in weitere Subgruppen, untersucht. Hier zeigte sich die Standardkonditionierung (im Gegensatz zu RIC) als auch die Verwendung von Stammzellen aus dem Knochenmark (im Gegensatz zu PBSC) als vorteilhaft für die Entwicklung eines vollen Donorchimärismus. Keinen Einfluss bestand für das Geschlecht, sowie den Krankheitsstatus vor der Transplantation.

In einer weiteren Studie waren in der univariaten Analyse sowohl das Grundleiden (myeloiden vs. lymphoiden Ursprungs), zwei oder mehr durchgeführte Chemotherapielinien vor Stammzelltransplantation, eine bereits zuvor durchgeführte Stammzelltransplantation als auch die Verwendung von Melphalan gegenüber einer Konditionierung mit Busulfan hinsichtlich der positiven Beeinflussung des peripheren Donorchimärismus statistisch signifikant. In der multivariaten Analyse bestätigte sich dies jedoch nur noch für die Anzahl der zuvor durchgeführten Chemotherapielinien (Valcárcel *et al.*, 2003)

2.4.4 Bedeutung des Chimärismus

Die Überwachung des Chimärismus nach allogener Stammzelltransplantation wurde zum Standardprozedere. Hierdurch gelingt es, die Dynamik und Qualität des Anwachsens der Stammzellen zu überwachen, als auch ein frühes Transplantatabstoßen und ein Frührezidiv zu erkennen (Bader *et al.*, 1998; Dubovsky *et al.*, 1999; Peters *et al.*, 1999; Thiede *et al.*, 2001). Dadurch können Hochrisikopatienten identifiziert werden, welche von einer Reduktion respektive eines Rückzucks der Immunsuppression, als auch von der Gabe von Donorlymphozyten profitieren können (Abraham *et al.*, 1997; Kolb, 1998; Bader *et al.*, 1999).

Auch gibt es auch Studien, welche die Bedeutung des Donorchimärismus in Bezug auf das Überleben untersucht haben. So konnten Michallet *et al.* zeigen, dass in einer gemischten Patientenpopulation (lymphatische und myeloische Erkrankungen) hinsichtlich des Gesamtüberlebens und des ereignisfreien Überlebens ein signifikanter Unterschied zwischen vollem Donorchimärismus und gemischtem Donorchimärismus bestand. Weitere Veröffentlichungen kamen zum gleichen Ergebnis (Wäsch *et al.*, 2000; Reshef *et al.*, 2014; Jain *et al.*, 2020). Diesbezüglich ist die Studienlandschaft jedoch kontrovers, da es

zahlreiche Publikationen gibt, die kein erhöhtes Rezidivrisiko bei gemischtem Chimärismus feststellen konnten (Pichler *et al.*, 2016; Cousin *et al.*, 2020; Mountjoy *et al.*, 2021). Anstrengungen die Wertigkeit hinsichtlich der prognostischen Eigenschaft zu festigen, respektive zu verbessern, umfassten die Chimärismusanalyse aus Subgruppen, beispielsweise CD34+-Zellen (Bornhäuser *et al.*, 2009), womit eine verbesserte Sensitivität der Rezidiverkennung gezeigt werden konnte. Gegenläufige Ergebnisse fanden sich bei der Untersuchung der Subgruppe der CD3+-Zellen (Devine *et al.*, 2015).

Ein weiterer Ansatz war die Kinetik der Chimärismusentwicklung mittels Erstellung einer exponentiellen Funktion zu berücksichtigen, wodurch ein Rezidiv mit höherer Spezifität und höherem positiven prädiktiven Wert vorhergesagt werden konnte (Sellmann *et al.*, 2018).

3 Material und Methoden

3.1 Patientenübersicht

In dieser retrospektiven Studie wurden 539 Patienten identifiziert, welche zwischen 2001 und 2018 am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf mittels allogener Stammzelltransplantation behandelt wurden. Dabei wurde bei 382 Patienten zuvor eine akute myeloische Leukämie, bei 157 Patienten eine myelodysplastische Neoplasie diagnostiziert.

Die nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über die Patientenpopulation:

	N	Kollektiv, N=539	AML, N=382	MDS, N=157
Patientenalter , Median	539	58 Jahre	57 Jahre	61 Jahre
Donoralter , Median	536	36 Jahre	37 Jahre	35 Jahre
Patientengeschlecht , n (%)	539			
Weiblich		328 (61%)	225 (59%)	103 (66%)
Männlich		211 (39%)	157 (41%)	54 (34%)
Donorgeschlecht , n (%)	538			
Weiblich		384 (71%)	271 (71%)	113 (72%)
Männlich		154 (29%)	110 (29%)	44 (28%)
Blutgruppe Patient AB0 , n (%)	523			
A		227 (43%)	154 (42%)	73 (47%)
B		72 (14%)	57 (15%)	15 (9,7%)
AB		27 (5,2%)	20 (5,4%)	7 (4,5%)
0		197 (38%)	138 (37%)	59 (38%)

Blutgruppe Donor AB0, n (%)	538			
A		236 (44%)	172 (45%)	64 (41%)
B		64 (12%)	43 (11%)	21 (13%)
AB		36 (6,7%)	20 (5,2)	16 (10%)
0		202 (38%)	146 (38%)	56 (36%)
CMV-Status Patient, n(%)	538			
Positiv		317 (59%)	235 (62%)	82 (52%)
Negativ		221 (41%)	146 (38%)	75 (48%)
CMV-Status Donor, n(%)	539			
Positiv		301 (56%)	218 (57%)	83 (53%)
Negativ		238 (44%)	164 (43%)	74 (47%)
Zytogenetik vor SCT, n (%)	280			
Abnormal		129 (46%)	84 (42%)	45 (56%)
Normal		151 (54%)	116 (58%)	35 (44%)
Stammzellquelle, n (%)	539			
Knochenmark		24 (4.5%)	18 (4.7%)	6 (3.8%)
Aus peripherem Blut		515 (96%)	365 (95%)	151 (96%)
Stammzellanzahl, Median	539	7,1x10 ⁶ /kg	7,1x10 ⁶ /kg	7,0x10 ⁶ /kg
Vorthherapie erhalten, n (%)	537	460 (86%)	374 (98%)	86 (55%)
Konditionierungsart, n (%)	539			
MAC		295 (55%)	244 (64%)	51 (32%)
RIC		244 (45%)	138 (36%)	106 (68%)
ATG verabreicht, n (%)	539	443 (82%)	298 (78%)	145 (92%)
TBI durchgeführt, n (%)	539	85 (16%)	80 (21%)	5 (3.2%)

Akute GvHD, n (%)	538			
Grad I		149 (28%)	109 (29%)	40 (25%)
Grad II		115 (21%)	79 (21%)	36 (23%)
Grad III		45 (8,4%)	25 (6,6%)	20 (13%)
Grad IV		10 (1,9%)	8 (2,1%)	2 (1,3%)
Keine		219 (41%)	160 (42%)	59 (38%)
Chronische GvHD, n (%)	538			
Grad I		121 (22%)	89 (23%)	32 (21%)
Grad II		92 (17%)	67 (18%)	25 (16%)
Grad III		52 (9,7%)	33 (8,6%)	19 (12%)
keine		273 (51%)	193 (51%)	80 (51%)

Tab. 7: Übersicht über das Patientenkollektiv

3.2 Datenerhebung

Die retrospektiv erhobenen Daten wurden von der Klinik für Stammzelltransplantation des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf zur Verfügung gestellt.

Die routinemäßig durchgeführten Chimärismussmessungen nach allogener Stammzelltransplantation wurden in einzelnen Worddokumenten (pro Patient ein eigenes Dokument) dokumentiert. Basierend auf der Formation der Word-Dokumente wurde ein Skript in C# programmiert, welches unter Verwendung von regulären Ausdrücken (RegEx) die Patientendaten, die Diagnose, das Verwandtschaftsverhältnis zum Spender und Quelle der Stammzellgewinnung, Transplantationsdatum, sowie die Chimärismusswerte mit Datum der Messung in ein Exceldokument übertragen konnte. Dabei wurden ebenfalls Chimärismusswerte, welche aus dem Knochenmark gewonnen wurden, als auch linienspezifische (T-Zell-) Chimärismussmessungen übertragen, welche anschließend manuell aussortiert wurden. Weiterhin wurden Patienten ausgeschlossen, bei denen die Chimärismussmessungen unvollständig dokumentiert waren oder nicht-sensitive Methoden verwendet wurden.

Aufgrund der Bearbeitungszeit wurden ca. 50 Word-Dokumente gleichzeitig ausgelesen und schließlich in eine globale Excel-Tabelle übertragen, welche über 40.000 Zeilen umfasste.

Nun wurden drei Messzeitpunkte festgelegt: der erste gemessene periphere Donorchimärismus, sowie um Tag 180 und 360 nach Transplantation. Diese wurden nun mit Daten, welche die Klinik für Stammzelltransplantation routinemäßig erhob (z.B. HLA

match, Blutgruppe, CMV-Status, etc.) zusammengeführt und dienen als Grundlage für die weitere Datenauswertung.

Es wurden drei Arten des Donorchimärismus definiert: gemischter Chimärismus, einem gemessenen Chimärismuswert von $< 99,9\%$ entsprechend, ein minimal reduzierter Chimärismus, einem Wert von $99,9\%$ entsprechend, sowie ein voller Donorchimärismus, einem Wert von $> 99,9\%$ entsprechend.

3.3 Chimärismusanalyse

Am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf erfolgt die Messung über zwei verschiedene real-time PCR-Verfahren nach der TaqMan®-Technologie. Bei männlichen Patienten mit weiblichem Spender über die Y-Chromosom-spezifische quantitative real-time PCR (QYCS-PCR), für alle anderen Patienten/Spender-Konstellationen unter Verwendung von *short insertion/deletion polymorphisms* (SID).

Die TaqMan®-Technologie basiert auf der Detektion von freigewordener Fluoreszenz. Hierfür wird eine Hybridisierungssonde verwendet, die mit zwei verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen markiert ist. Ein Farbstoff dient als Signalfarbe (*reporter dye*, FAM[®]), der andere als Löschfarbe (*quenching dye*, TAMRA). Solange die Sonde intakt ist, wird die Fluoreszenzemission der Signalfarbe durch die Löschfarbe absorbiert. Während der Verlängerungsphase des PCR-Zyklus wird die Hybridisierungssonde durch die 5'-3'-nukleolytische Aktivität der DNA-Polymerase gespalten. Hierdurch wird die Emission der Signalfarbe nicht mehr effizient durch die Löschfarbe absorbiert, wodurch es zu einem Anstieg der Fluoreszenzemissionsspektren der Signalfarbe kommt, welche durch ein real-time PCR-Gerät (z.B. ABI Sequence Detection System 7700) gemessen werden können (Heid et al., 1996)

Bei männlichen Patienten mit weiblichem Spender wird in jedem Fall die Y-Chromosom-spezifische quantitative real-time PCR verwendet. Für alle anderen Patienten/Spender-Konstellationen gilt es einen geeigneten Polymorphismus zu identifizieren, welcher positiv für den Transplantatempfänger und negativ für den Spender ist. Hierfür bedarf es zunächst einer geeigneten Probe von Spender und Empfänger, in der Regel peripheres Blut oder Zellen der Mundschleimhaut. Nach DNA-Gewinnung durch Aufreinigung des Probenmaterials erfolgt die Amplifikation des zu untersuchenden Polymorphismus mittels real-time PCR und der anschließende Vergleich mit einer Kontrollgruppe in Form einer

Standard-Verdünnungsreihe. Dabei wird der sogenannte Schwellenwert, auch *threshold cycle* respektive C_T -Wert, herangezogen, der angibt, ab wann das im Rahmen der Real-time-PCR zur Quantifizierung verwendete Fluoreszenz die Hintergrundfluoreszenz überschreitet. Dieser Schwellenwert ist reziprok proportional zur Ausgangsmenge der zu untersuchenden DNA und lässt daher Rückschlüsse auf diese zu. Falls der C_T -Wert von Probe und Kontrollgruppe ungefähr gleich ist, so ist das getestete Material für den untersuchten Polymorphismus positiv. Negativ hingegen ist es, wenn die C_T -Werte von der zu untersuchenden Probe und der Kontrollgruppe um mindestens 10 Zyklen differieren. Falls mehrere geeignete Polymorphismen zur Analyse zur Verfügung stehen, wird derjenige verwendet, bei dem der C_T -Wert beim Spender am größten war. Nach initialer Bestimmung eines geeigneten Polymorphismus zur Chimärismusanalyse, wird dieser für alle zukünftigen Messungen nach allogener Stammzelltransplantation beibehalten.

3.3.1 Y-Chromosom-spezifische quantitative real-time PCR (QYCS-PCR)

Die Y-Chromosom-spezifische quantitative real-time PCR macht sich zu nutzen, dass Teile des menschlichen DFFRY-Gens hochspezifisch für das Y-Chromosom, und damit den männlichen Karyotyp, sind, wodurch die Identifikation von männlichen Zellen gelingt. Hierfür bedarf es der Verwendung von für das Gen spezifischen Primern (FP-Y, Sequenz aactcacctccaacacatactccac und RP-Y, Sequenz ttcatgatgaaatctgcttttggtt) (Brown *et al.*, 1998). Die erfolgreiche Amplifikation von genetischem Material männlichen Ursprungs kann schließlich, wie oben beschrieben, über die real-time PCR nach der Taqman®-Technologie objektiviert werden. Aufgrund der hohen Spezifität mancher Abschnitte des DFFRY-Gens für das Y-Chromosom, können schon geringe Mengen an männlichen Zellen identifiziert werden. So konnte ein Detektionslevel von unter 0.001% gezeigt werden, weswegen es vertretbar erscheint, den vollen Donorchimärismus als > 99.9% festzulegen (Fehse *et al.*, 2001). Sinnvoll eingesetzt werden kann diese Methode jedoch nur bei einem männlichen Patienten mit weiblichem Spender.

3.3.2 Quantitative real-time PCR von *short insertion/deletion polymorphisms*

Insertions-/Deletions-Polymorphismen (Indels) sind Längenpolymorphismen, die durch Einfügung oder Löschung von einem oder mehreren Nukleotiden im Genom entstehen (Pereira *et al.*, 2009), wodurch die genetische Identifizierung von Individuen möglich ist. Wichtig ist hierbei, wie bereits oben beschrieben, dass sich Spender und Empfänger

hinsichtlich des Polymorphismus unterscheiden. Hierbei konnte eine Messsensitivität von 0,01% bis 0,001% beschrieben werden (Jimenez-Velasco *et al.*, 2005).

3.4 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte in R (Shake and Throw, Version 4.05). Zur Erfassung von Patienten-Donor-Beziehungen wurden in Excel „Wenn-Funktionen“ verwendet. Zur Identifizierung der Einflussfaktoren auf die Kinetik des frühen peripheren Donorchimärismus bei AML und MDS wurde jeweils zunächst eine multiple lineare Regression für alle vorstellbaren Einflussfaktoren durchgeführt. Anschließend konnten mittels Rückwärts-Elimination anhand des AIC unabhängige Variablen ausgeschlossen werden, um das geeignetste Modell zu identifizieren.

Da es sich bei dem peripheren Donorchimärismus um eine zeitabhängige Variable handelt, wurden die Überlebenskurven nach Simon-Makuch erstellt und statistische Signifikanz anschließend mittels dem Mantel-Byar-Test überprüft.

Als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ festgelegt. Gesamtüberleben wurde als Zeitraum zwischen Transplantation und Tod, sowie krankheitsfreies Überleben als Zeitraum zwischen Transplantation und Progress definiert.

4 Ergebnisse

4.1 Chimärismuswerte

Von dem 539 Patienten umfassenden Kollektiv bestand zum ersten Messzeitpunkt (Median Tag 18) bei 258 Patienten ein gemischter Chimärismus von <99,9%, bei 186 Patienten ein minimal reduzierter von 99,9%, sowie bei 95 Patienten ein voller Donorchimärismus von >99,9%. Dies wird im nachfolgenden Diagramm, auch Entitäten-spezifisch, verdeutlicht.

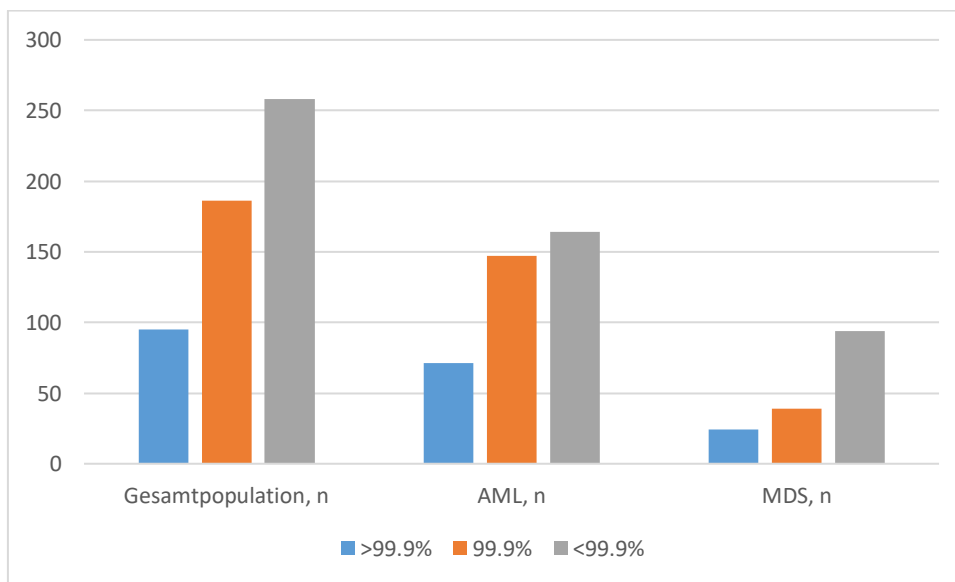


Abb. 3: Verteilung der peripheren Donorchimärismuswerte zum ersten Messzeitpunkt

Zum zweiten Messzeitpunkt (Median Tag 180) konnten von 449 Patienten die Chimärismuswerte aus dem peripheren Blut erfasst werden. Die genaue Verteilung wird in der nachfolgenden Abbildung dargestellt.

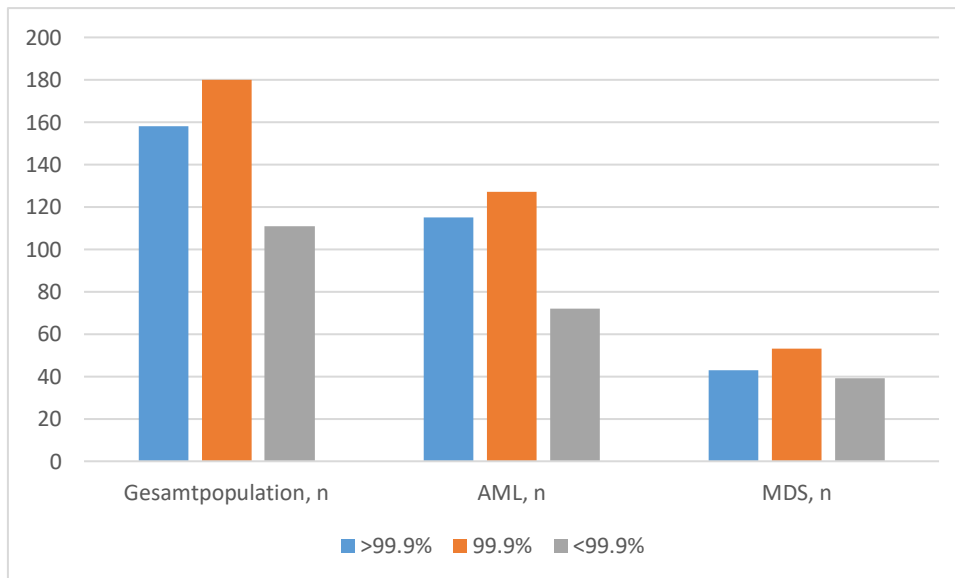


Abb. 4: Verteilung der peripheren Donorchimärismuswerte zum zweiten Messzeitpunkt

Der Median des dritten Messzeitpunktes lag bei 364 Tagen. Hier konnten die Chimärismuswerte aus dem peripheren Blut von 341 Patienten bestimmt werden, aufgeführt in der folgenden Abbildung.

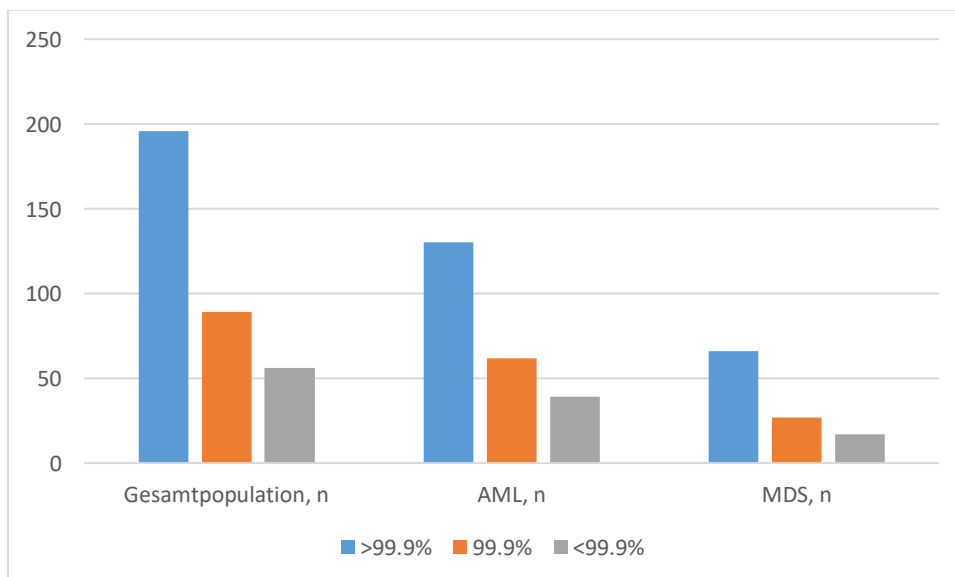


Abb. 5: Verteilung der peripheren Donorchimärismuswerte zum dritten Messzeitpunkt

Für die verschiedenen Messzeitpunkte lässt sich feststellen, dass es im zeitlichen Verlauf zunehmend zur Ausbildung eines vollständigen peripheren Donorchimärismus kommt.

4.2 Einflussfaktoren auf den frühen peripheren Donorchimärismus

4.2.1 Deskriptive Statistik

Um neben den potenziellen Einflussfaktoren aus der Patientenpopulation (siehe Tabelle 7) noch weitere relevante Faktoren zu identifizieren, wurden Patienten-Donor-Beziehungen hergestellt, der Donortyp spezifiziert und bei der Stammzellanzahl eine Aufteilung anhand der median transfundierten Stammzellen vorgenommen.

Die nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick darüber.

	N	Kollektiv, N=539	AML, N=382	MDS, N=157
Altersbeziehung Patient und Donor, n (%)	536			
≥ Median		170 (32%)	115 (30%)	55 (35%)
< Median		103 (19%)	75 (20%)	28 (18%)
Patient ≥ Median, Donor < Median		157 (29%)	101 (27%)	56 (36%)
Patient < Median, Donor ≥ Median		106 (20%)	89 (23%)	17 (11%)
Geschlechterbeziehung Patient und Donor, n (%)	538			
Beides Frauen		250 (46%)	170 (45%)	80 (51%)
Beides Männer		77 (14%)	56 (15%)	21 (13%)
Donor Frau, Patient Mann		134 (25%)	101 (27%)	33 (21%)
Donor Mann, Patient Frau		77 (14%)	54 (14%)	23 (15%)
AB0-Kompatibilität	523			
Identisch		232 (44%)	164 (44%)	68 (44%)
Major Inkompatibilität		125 (24%)	84 (23%)	41 (27%)
Minor Inkompatibilität		116 (22%)	84 (23%)	32 (21%)
Bidirektionale Inkompatibilität		50 (9,6%)	37 (10%)	13 (8,4%)

CMV-Beziehung Patient und Donor, n (%)	538			
Beide negativ		163 (30%)	110 (29%)	53 (34%)
Beide positiv		243 (45%)	182 (48%)	61 (39%)
Donor negativ, Patient positiv		74 (15%)	53 (14%)	21 (13%)
Donor positiv, Patient negativ		58 (11%)	36 (9,4%)	22 (14%)
Anzahl verabreichter Stammzellen, n (%)	539			
≥ Median		276 (51%)	195 (51%)	81 (52%)
< Median		263 (49%)	187 (49%)	76 (48%)
Donortyp, n (%)	539			
Passender Familienspender		112 (21%)	86 (23%)	26 (17%)
Unpassender Familienspender		12 (2.2%)	9 (2.4%)	3 (1.9%)
Passender Fremdspender		133 (25%)	91 (24%)	42 (27%)
Unpassender Fremdspender		282 (52%)	196 (51%)	86 (55%)

Tab. 8: Abgeleitete Beziehungen zwischen Patient/Donor, Spezifizierung des Donortyps und Patientenaufteilung anhand der median transfundierten Stammzellen

4.2.2 Bei AML

Als mögliche Einflussfaktoren wurden Geschlecht, Alter, CMV-Status und Blutgruppen nach AB0 jeweils von Patient und Spender betrachtet. Zusätzlich wurden auch die CMV-, die Blutgruppen- sowie die Alters- und Geschlechtsbeziehung zwischen Patient und Donor, Anzahl und Ursprung der transplantierten CD34+-Stammzellen, die Zytogenetik, die verwendete Konditionierung, das Einsetzen von ATG, die Anwendung einer Ganzkörperbestrahlung, der Donortyp als auch vor allogener Stammzelltransplantation durchgeführte Therapien einbezogen.

Für die multiple lineare Regression mit allen Einflussfaktoren bestand ein AIC von 2468. Die F-Statistik hatte einen p-Wert von 0,03, das adjustierte R^2 betrug 0,06. Mittels Rückwärts-Elimination unter Berücksichtigung des AIC wurden folgende Variablen eliminiert:

Variable	AIC
ATG	2466
CMV-Beziehung	2460
CMV-Status Donor	2458
Geschlechterbeziehung Patient/Donor	2452
Vorthherapie	2450
TBI	2448
Patientenalter	2447
Stammzellanzahl	2445
Patient Blutgruppe AB0	2441
Donortyp	2437
Stammzellursprung	2436

Tab. 9: Ausgeschlossene Variablen als Einflussfaktoren auf den früheren Donorchimärismus bei AML mittels Rückwärts-Elimination

Für das finale Regressionsmodell bestand ein AIC von 2436, das adjustierte R^2 betrug nun 0,09. Zur Optimierung der multiplen Regression wurden die Anwendung von ATG, die CMV- und Geschlechterbeziehung zwischen Patient und Donor, der CMV-Status des Donors, die Durchführung einer Vorthherapie als auch TBI, das Patientenalter, der Ursprung der Stammzellen als auch deren transplantierte Anzahl, die Blutgruppe des Patienten nach AB0, sowie auch der Donortyp ausgeschlossen.

Einen genauen Überblick über die verbleibenden Einflussfaktoren liefert die nachfolgende Tabelle.

Variable	Regressionskoeffizient β	Standardfehler	p-Wert
Patientengeschlecht männlich	1,79	1,63	0,27
Donorgeschlecht männlich	3,22	1,87	0,09
Donor Alter	-0,17	0,12	0,16
Altersbeziehung Patient/Donor			
- Beide Alter < Median	-7,96	3,65	0,03
- Patient $\geq$ Median, Donor < Median	-6,96	3,31	0,04
- Patient < Median, Donor $\geq$ Median	-4,84	2,36	0,04

Patient CMV positiv	-2,66	1,67	0,11
Donor Blutgruppe AB0			
- A	5,3	2,22	0,02
- B	4,8	3,11	0,13
- AB	2,54	4,39	0,57
AB0-Kompatibilität			
Patient/Donor	1,30	3,14	0,68
- Major Inkompatibilität	3,47	3,56	0,33
- Minor Inkompatibilität	-2,74	2,96	0,36
- identisch			
Zytogenetik abnormal	2,70	1,67	0,11
Konditionierungsverfahren RIC	-8,09	1,99	0,00

Tab. 10: Finales Regressionsmodell nach Rückwärts-Elimination hinsichtlich Einflussfaktoren auf den frühen peripheren Donorchimärismus bei AML

Als relevante Einflussfaktoren konnten das Patienten- und Donorgeschlecht, das Donoralter, die Altersbeziehung zwischen Patient und Donor, der CMV-Status des Patienten, die Blutgruppe nach AB0 des Donors, die AB0-Kompatibilität zwischen Patient und Donor, die Zytogenetik, sowie das Konditionierungsverfahren identifiziert werden.

Statistische Signifikanz bestand dabei für die Altersbeziehung zwischen Patient und Donor, der Donor-Blutgruppe A, sowie dem Konditionierungsverfahren.

Wenn sowohl Spender als auch Patient in Bezug auf das Alter unter dem Median waren, bestand eine negative Beeinflussung des frühen peripheren Donorchimärismus bei einem Regressionskoeffizient von -7,96 ($p=0,03$). Diese konnte auch für einen Patienten mit dem Alter $\geq$ Median bei einem Donoralter $<$ Median beobachtet werden (Regressionskoeffizient -6,96, $p=0,04$). Gleiches galt für einen Patient mit einem Alter $<$ Median und einem Donoralter $\geq$ Median ($\beta = -4,84$, $p=0,04$).

Weiterhin wurde eine negative Beeinflussung des frühen peripheren Donorchimärismus durch die Verwendung des Konditionierungsverfahren RIC bei einem Regressionskoeffizienten von -8,09 festgestellt ($p=0,000$).

Eine positive Auswirkung auf den frühen peripheren Donorchimärismus konnte hingegen bei der Donor-Blutgruppe A festgestellt werden ($\beta = 5,3$, $p=0,02$).

Zumindest eine Tendenz zur positiven Beeinflussung des frühen peripheren Donorchimärismus bestand beim männlichen Donorgeschlecht und einer abnormalen Zytogenetik (Regressionskoeffizient 3,22 mit $p=0,09$ respektive Regressionskoeffizient

2,70 mit $p=0,11$). Eine Tendenz zur negativen Beeinflussung bestand bei positivem CMV-Status des Patienten ($\beta = -2,66$, $p=0,11$).

4.2.3 Bei MDS

Als mögliche Einflussfaktoren wurden Geschlecht, Alter, CMV-Status und Blutgruppen nach AB0 jeweils von Patient und Spender betrachtet. Zusätzlich wurden auch die CMV-, die Blutgruppen- sowie die Alters- und Geschlechtsbeziehung zwischen Patient und Donor, Anzahl und Ursprung der transplantierten CD34+-Stammzellen, die Zytogenetik, die verwendete Konditionierung, das Einsetzen von ATG, die Anwendung einer Ganzkörperbestrahlung, der Donortyp als auch vor allogener Stammzelltransplantation durchgeführte Therapien einbezogen.

Für die multiple lineare Regression mit allen potenziellen Einflussfaktoren bestand ein AIC von 1288. Der p-Wert der F-Statistik betrug 0,90, das adjustierte R^2 war -0,08. Mittels Rückwärts-Elimination anhand des AIC wurden folgende Variablen ausgeschlossen:

Variable	AIC
Stammzellursprung	1286
CMV Beziehung	1280
Patientenalter	1278
CMV-Status Patient	1276
Donoralter	1274
Blutgruppenbeziehung AB0 Patient/Donor	1269
Geschlechterbeziehung Patient/Donor	1264
Patientengeschlecht	1262
Donorgeschlecht	1260
Donortyp	1255
Patient Blutgruppe AB0	1250
Durchführung TBI	1249
Zytogenetik	1247
Altersbeziehung Patient/Donor	1243
Donor Blutgruppe AB0	1240

Tab. 11: Ausgeschlossene Variablen als Einflussfaktoren auf den früheren Donorchimärismus bei MDS mittels Rückwärts-Elimination

Für das finale Regressionsmodell bestand ein AIC von 1240 bei einem adjustierten R^2 von 0,09. Zur Optimierung der multiplen Regression wurden der Stammzellursprung, die Alters-, Geschlechter-, Blutgruppen- und CMV-Beziehung zwischen Patient und Donor, das Patienten- und Donoralter, das Patienten- und Donorgeschlecht, die Blutgruppe nach AB0 von Patient und Donor, der CMV-Status des Patienten, der Donortyp, die Durchführung einer Ganzkörperbestrahlung als auch die vorliegende Zytogenetik ausgeschlossen.

In der nachfolgenden Tabelle findet sich eine Übersicht über die verbliebenen Einflussfaktoren:

Variable	Regressionskoeffizient β	Standardfehler	p-Wert
Donor CMV positiv	-6,67	3,93	0,09
Stammzellanzahl < Median	-5,51	3,91	0,16
Konditionierungsschema RIC	-9,17	4,23	0,03
Anwendung von ATG	8,89	7,25	0,22
Vorthherapie	4,82	3,94	0,22

Tab. 12: Finales Regressionsmodell nach Rückwärts-Elimination hinsichtlich Einflussfaktoren auf den frühen peripheren Donorchimärismus bei MDS

Als relevante Einflussfaktoren bestanden schließlich der CMV-Status des Donors, die Anzahl der transplantierten Stammzellen, das Konditionierungsverfahren, die Anwendung von ATG als auch eine durchgeführte Vorthherapie. Statistische Signifikanz lag jedoch lediglich für das Konditionierungsverfahren vor, wo bei einem Regressionskoeffizienten von -9,17 eine negative Beeinflussung des peripheren Donorchimärismus festgestellt werden konnte ($p=0,03$). Zumindest eine Tendenz zur negativen Beeinflussung, bei jedoch knapp verpasstem Signifikanzniveau, bestand für einen positiven CMV-Status des Donors (Regressionskoeffizient -6,67, $p=0,09$).

4.3 Überleben anhand des peripheren Donorchimärismus

4.3.1 Krankheitsfreies Überleben und Gesamtüberleben bei AML

Zunächst wurde untersucht, welchen prognostischen Wert, in Bezug auf das krankheitsfreie Überleben und das Gesamtüberleben, der periphere Donorchimärismus nach allogener Stammzelltransplantation bei AML hat. Da es sich beim peripheren Donorchimärismus um eine zeitabhängige Variable handelt, wurden die Überlebenskurven mittels Simon-Makuch-Plot erstellt.

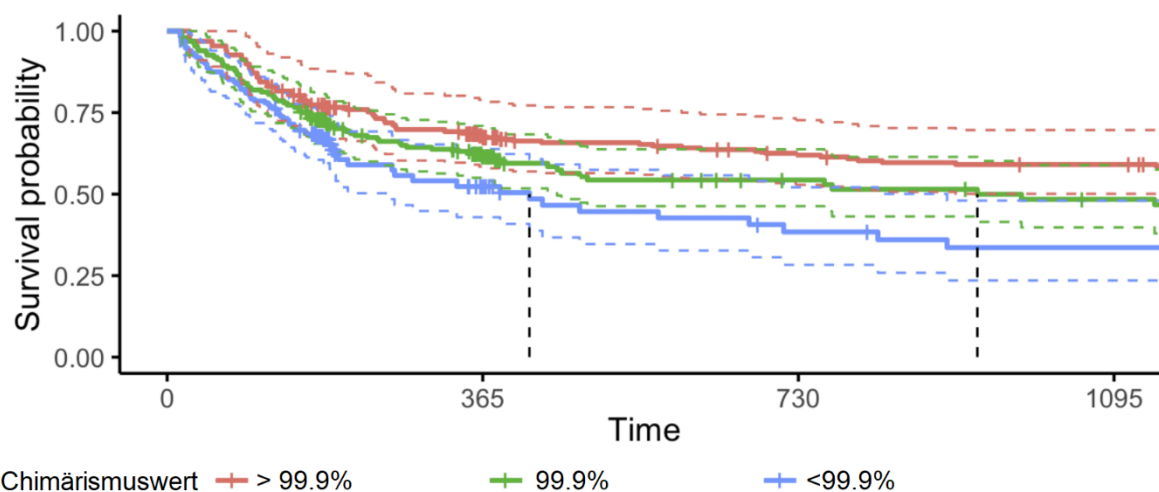


Abb. 6: Krankheitsfreies Überleben in Tagen anhand der Chimärismuswerte aus dem peripheren Blut mittels des ersten Donorchimärismus, sowie den Messzeitpunkten d180 und d365 nach allogener Stammzelltransplantation bei AML

In Bezug auf das krankheitsfreie Überleben zeigte sich für den vollen Donorchimärismus ein deutlich überlegener Median von 1669 Tagen, im Gegensatz zu einem Chimärismuswert von 99.9% (937 Tagen) und <99.9% (419 Tagen). Im Mantel-Byar-Test wurde die statistische Signifikanz ($p=0,06$) jedoch knapp verfehlt.

Die Hazard Ratio lag für einen Chimärismus von 99.9% bei 1,23 ($p=0,26$) und für einen Chimärismus <99.9% bei 1,58 ($p=0,017$).

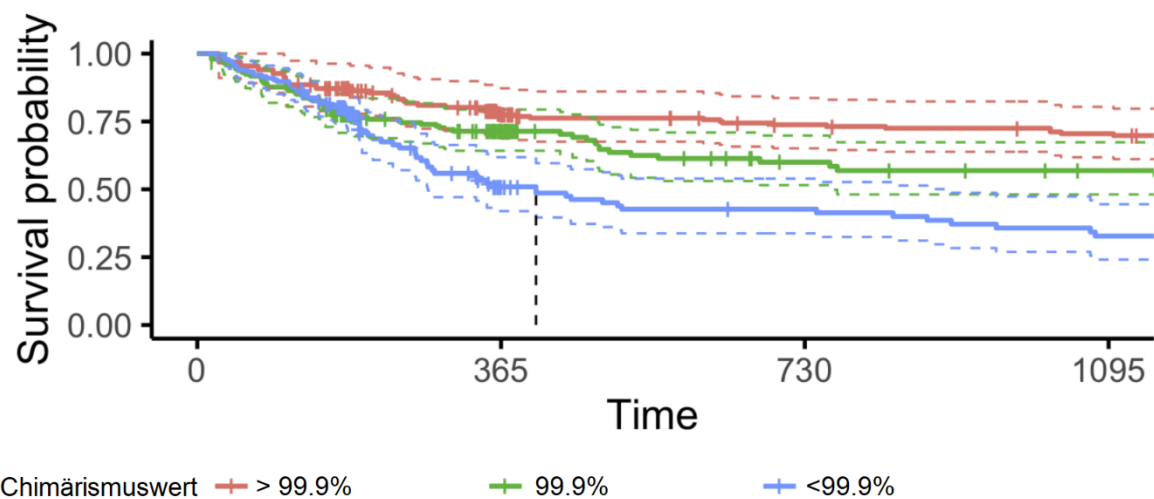


Abb. 7: Gesamtüberleben in Tagen anhand der Chimärismuswerte aus dem peripheren Blut mittels des ersten Donorchimärismus, sowie den Messzeitpunkten d180 und d365 nach allogener Stammzelltransplantation bei AML

Hinsichtlich des Gesamtüberlebens lag der Median des vollen Donorchimärismus bei 4828 Tagen, der von 99.9% wurde nicht erreicht und von <99.9% bei 407 Tagen. Im Mantel-Byar-Test fand sich eine deutliche Signifikanz ($p < 0,001$).

Die Hazard Ratio zeigte sich für die Chimärismuswerte von 99.9% bei 1.48 ($p = 0,05$) und für <99.9% bei 2,48 ($p < 0.001$).

4.3.2 Krankheitsfreies Überleben und Gesamtüberleben bei MDS

Zudem wurde der prognostische Wert des peripheren Donorchimärismus hinsichtlich des krankheitsfreien Überlebens und Gesamtüberlebens nach allogener Stammzelltransplantation bei myelodysplastischen Neoplasien betrachtet.

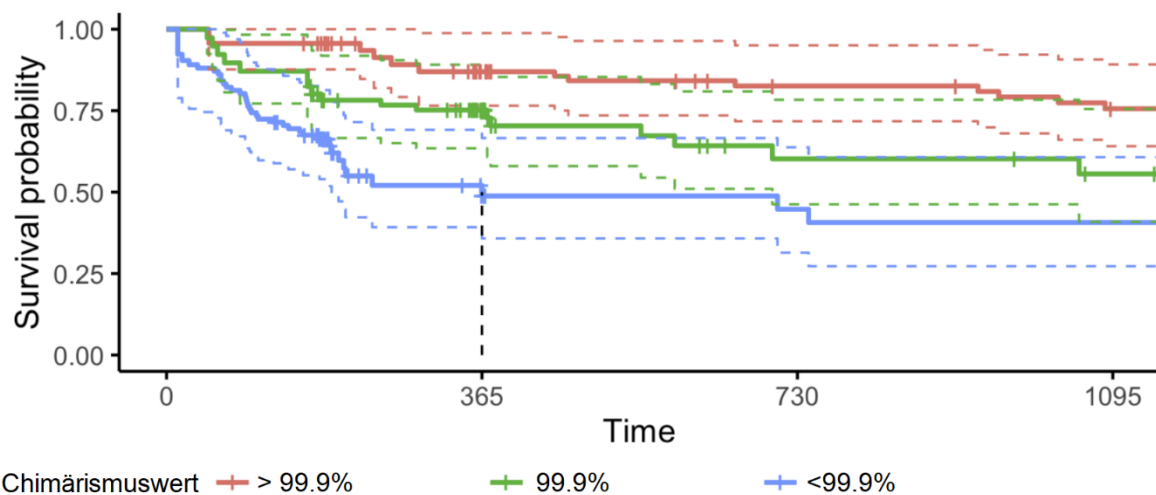


Abb. 8: Krankheitsfreies Überleben in Tagen anhand der Chimärismuswerte aus dem peripheren Blut mittels des ersten Donorchimärismus, sowie den Messzeitpunkten d180 und d365 nach allogener Stammzelltransplantation bei MDS

Für den vollen Donorchimärismus wurde für das krankheitsfreie Überleben der Median nicht erreicht. Für den minimal reduzierten Donorchimärismus betrug der Median 2418 Tage, sowie für den gemischten Donorchimärismus 365 Tage. Zwischen den Chimärismusgruppen bestand im Mantel-Byar-Test eine deutliche Signifikanz ($p=0,001$). Die Hazard Ratio lag für einen Chimärismus von 99.9% bei 2,00 ($p=<0,05$) sowie für einen Chimärismus von <99.9% bei 3,70 ($p=<0,001$)

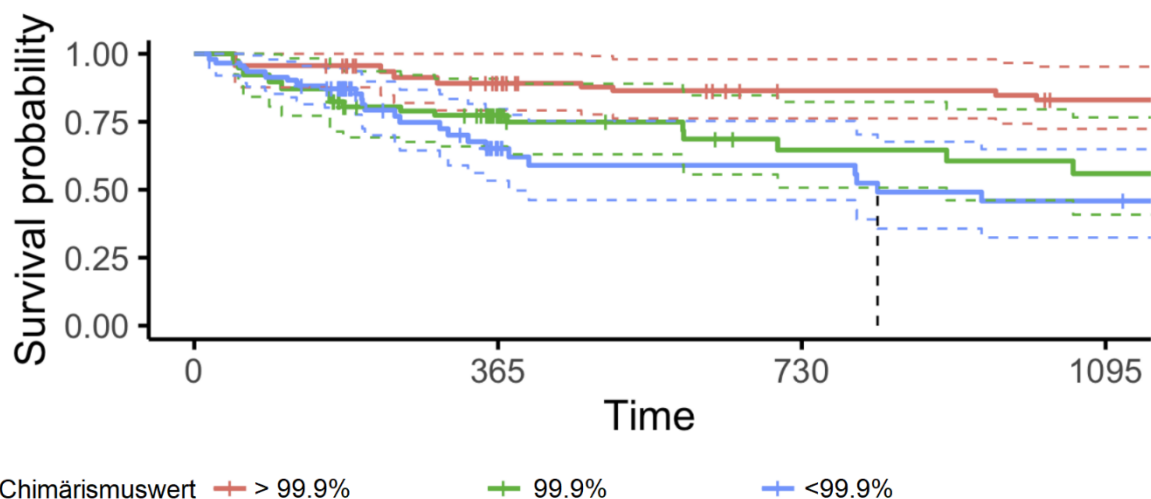


Abb. 9: Gesamtüberleben in Tagen anhand der Chimärismuswerte aus dem peripheren Blut mittels des ersten Donorchimärismus, sowie den Messzeitpunkten d180 und d365 nach allogener Stammzelltransplantation bei MDS

Bezüglich des Gesamtüberlebens fand sich für den vollen Donorchimärismus ein nicht erreichter Median, für den minimal reduzierten Chimärismus ein Median von 2418 Tagen, sowie für den gemischten Donorchimärismus von 821 Tagen. Im Mantel-Byar-Test zeigte sich zwischen den verschiedenen Chimärismusgruppen ein p-Wert von 0,005.

Die Hazard Ratio betrug für die Chimärismusgruppe 99.9% 1,96 ($p=0,06$), sowie für die Gruppe <99.9% 2,89 ($p=0,001$).

5 Diskussion

5.1 Einflussfaktoren auf den frühen peripheren Donorchimärismus

Mit Hilfe der multiplen Regression mit Rückwärts-Elimination anhand des AIC konnten relevante Einflussfaktoren auf die Kinetik des peripheren Donorchimärismus identifiziert werden.

Hierbei konnte in dieser Arbeit bei AML für die Blutgruppe A aufgrund des positiven Regressionskoeffizienten eine positive Beeinflussung des Chimärismus gezeigt werden, wohingegen für das Konditionierungsverfahren RIC und die Altersbeziehung zwischen Patient und Donor eine negative Beeinflussung bestand. Keine Signifikanz konnten in der multivariaten Regression für die Zytogenetik, die AB0-Kompatibilität, das Patienten- und Donorgeschlecht, den CMV-Status des Patienten, als auch das Donoralter festgestellt werden

Bei MDS fand sich in dieser Arbeit ebenfalls eine negative Beeinflussung durch das Konditionierungsverfahren RIC, wohingegen in der Regressionsanalyse keine Signifikanz für CMV-Status des Donors, die Stammzellanzahl, sowie die Durchführung einer Vortherapie oder die Anwendung von ATG bestand.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten also, dass beim Konditionierungsverfahren RIC im Vergleich zu MAC der frühe periphere Donorchimärismus sowohl bei AML und MDS eine langsamere Kinetik aufweist ($\beta = -8,09$ mit $p=0,00$ respektive $\beta = -9,17$ mit $p=0,03$). Dies deckt sich mit den Ergebnissen früherer Publikationen (Mohr *et al.*, 2004; Michallet *et al.*, 2005) und erklärt sich darüber, dass der therapeutische Effekt bei RIC vor allem über den Graft-versus-Tumor-Effekt vermittelt wird und weniger über die direkte zytoreduktive Wirkung der Konditionierungstherapie (Giralt *et al.*, 1997).

Ebenfalls als Einflussfaktor einer verzögerten Kinetik des frühen peripheren Donorchimärismus bei AML konnte in dieser Arbeit die Altersbeziehung zwischen Donor und Patient identifiziert werden. Dies war zutreffend sowohl auf die Konstellation Donor-/Patientenalter < Median, Donoralter $\geq$ Median bei Patientenalter < Median und Donoralter < Median bei Patientenalter $\geq$ Median. Die Altersbeziehung zwischen Patient und Donor in Bezug auf den frühen peripheren Donorchimärismus wurde zuvor in noch keiner Arbeit untersucht. Interessanterweise konnte in der Auswertung dieser Arbeit keine Relevanz für das Patientenalter und Donoralter für sich alleine genommen festgestellt werden, was so

auch von Mohr et al. und Michallet et al. beschrieben (Mohr *et al.*, 2004; Michallet *et al.*, 2005) und in einer neueren Arbeit in Bezug auf das Donoralter bestätigt wurde (Rezvani *et al.*, 2015).

Zumindest eine Tendenz hinsichtlich einer Verlangsamung der Entwicklung des peripheren Donorchimärismus zeigte sich hier für einen positiven CMV-Status des Patienten ($p=0,11$) bei AML. Dies konnte auch in der Studie von Sellar et al. beobachtet werden, in der der Empfängerchimärismus in Abhängigkeit des Patienten-/Donorserostatus hinsichtlich CMV untersucht wurde (Sellar *et al.*, 2015). Dies wiederum steht im Widerspruch zur Beobachtung bei MDS in dieser Arbeit, da hier eine Tendenz zur negativen Beeinflussung des frühen peripheren Donorchimärismus durch einen positiven CMV-Status des Donors besteht ($p=0,09$).

Ein weiteres interessantes Ergebnis dieser Arbeit ist, dass für die Donorblutgruppe A bei AML eine positive Beeinflussung des frühen peripheren Donorchimärismus festgestellt werden konnte, wobei AB0-Inkompatibilitäten keine Rolle spielen. Letzteres fand sich ebenfalls in der Arbeit von Faraci et al. (Faraci *et al.*, 2018). Eine Erklärung hierfür zu finden scheint schwierig, zumal auch die Bedeutung von AB0-Inkompatibilitäten bei allogener Stammzelltransplantation kontrovers ist (Yang *et al.*, 2019; Ataca Atilla *et al.*, 2020).

Ebenfalls eine Tendenz zur positiven Beeinflussung der Kinetik des frühen peripheren Donorchimärismus konnte für das männliche Donorgeschlecht ($p=0,09$) festgestellt werden. Faraci et al. untersuchten Einflussfaktoren auf die Kinetik des Donorchimärismus bei allogentransplantierten Kindern mit nichtmalignen Erkrankungen, und konnten diesbezüglich keine Signifikanz feststellen.

Während in der Arbeit von Mohr et al. die Anzahl der transfundierten CD34-positiven Stammzellen als auch die Anwendung von ATG signifikanten Einfluss auf die Kinetik des peripheren Donorchimärismus hatten, konnte sich dies in dieser Arbeit nicht bestätigen. Ein Grund für den Unterschied in Bezug auf die Anzahl der transfundierten Stammzellen könnte sein, dass in dieser Arbeit der Unterschied zwischen $\geq$ Median und $<$ Median verglichen wurde und der Median bei $7,1 \times 10^6/\text{kg}$ CD34+-Stammzellen relativ hochliegt, wohingegen es bei Mohr et al. 3 Gruppen gab, mit $<2 \times 10^6/\text{kg}$ als Referenzgruppe. Übereinstimmend mit den Resultaten von Mohr et al. war hingegen, dass die Stammzellquelle keinen Einfluss nimmt auf die Kinetik des peripheren Donorchimärismus (Mohr *et al.*, 2004), was jedoch von Michallet et al. gegensätzlich beschrieben wurde (Michallet *et al.*, 2005). Weiterhin

konnte in dieser Arbeit kein Einfluss einer Vortherapie festgestellt werden, wozu es gegenläufige Daten gibt (Valcárcel *et al.*, 2003; Mohr *et al.*, 2004).

Bei der Betrachtung der Resultate dieser Arbeit und der Literatur fällt auf, dass kontroverse Studienresultate hinsichtlich der relevanten Einflussfaktoren bestehen.

Umso bedeutungsvoller erscheint es, sich mit den Limitationen dieser Arbeit zu befassen.

Unklar bleibt in dieser Arbeit, dass nicht nachvollzogen werden kann, wie therapeutisch auf den peripheren Donorchimärismus reagiert wurde. Sei dies beispielsweise durch eine Verminderung der Immunsuppression oder die Gabe von Donorlymphozyten. Dem entgegenzuhalten gilt es jedoch, dass bei den Einflussfaktoren der erste periphere Donorchimärismus herangezogen wurde. Demnach erscheinen therapeutische Interventionen zu diesem Zeitpunkt noch nicht so wahrscheinlich.

Ein weiterer möglicher Grund für die Abweichung der Resultate dieser Arbeit von der bisherigen Literatur könnte sein, dass hier erstmalig Einflussfaktoren Entitäten-spezifisch untersucht wurden. In der bisherigen Literatur handelten es sich stets um eine Population mit verschiedensten Krankheitsbildern bei zudem einer geringen Patientenzahl, sodass die Vergleichbarkeit schwierig erscheint. Die Vergleichbarkeit wird zudem durch verschiedene Methoden in der Chimärismusbestimmung, der dadurch unterschiedlichen Sensitivität und der daraus zwangsweise resultierenden anderen Definition eines vollen Donorchimärismus, erschwert.

Letztlich bleibt jedoch festzuhalten, dass die entwickelten Modelle dieser Arbeit noch nicht ausreichend den peripheren Donorchimärismus wiedergeben, zu erkennen am hohen AIC als auch dem niedrigen adjustierten R^2 . Zudem bestand bei dem Regressionsmodell für MDS hinsichtlich des p-Wertes der F-Statistik keine Signifikanz. Neben den möglicherweise bestehenden und fehlenden therapeutischen Maßnahmen gilt es auch darauf hinzuweisen, dass die Daten retrospektiv erhoben wurde. Prospektive Studien könnten diesbezüglich für mehr Klarheit sorgen.

5.2 Überleben anhand des peripheren Donorchimärismus

Zu meinem besten Wissen wurden in dieser Arbeit erstmalig Überlebenskurven anhand des peripheren Donorchimärismus mittels Simon-Makuch-Plots erstellt, welche eine Veränderung der Gruppenzugehörigkeit über die Zeit berücksichtigen.

Hierbei zeigte sich, unter Verwendung von drei Chimärismusmessungen innerhalb des ersten Jahres, für die AML ein überlegenes Gesamtüberleben für den vollen Donorchimärismus ($p < 0,001$), sowie angedeutet auch ein verlängertes krankheitsfreies Überleben ($p = 0,06$). Gleiches konnte auch für MDS beobachtet werden ($p = 0,005$ respektive $p < 0,001$).

Der Stellenwert des peripheren Donorchimärismus hinsichtlich des prognostischen Wertes wird generell in der Literatur kontrovers diskutiert. Während Michallet *et al.* in einer gemischten Population ein besseres Gesamtüberleben und ereignisfreies Überleben für den vollen Donorchimärismus zeigten konnten (Michallet *et al.*, 2005), bestanden bei Pichler *et al.* keine Korrelation zwischen dem gemischten Donorchimärismus und einer erhöhten Rezidivwahrscheinlichkeit (Pichler *et al.*, 2016). Dabei scheint der Messzeitpunkt eine wichtige Rolle zu spielen: Während der periphere Donorchimärismus an Tag 30 nach Transplantation keinen signifikanten Unterschied zwischen gemischtem und vollen Donorchimärismus in Bezug auf Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben zeigte, konnte dies an Tag 90 nach Transplantation nachgewiesen werden (Lamba *et al.*, 2004). Klyuchnikov *et al.* konnten an Tag 100 nach der Transplantation zumindest hinsichtlich des krankheitsfreien Überlebens einen Vorteil des vollen Donorchimärismus gegenüber einem gemischten Chimärismus zeigen (Klyuchnikov *et al.*, 2022).

Die Wertigkeit des peripheren Donorchimärismus im klinischen Alltag wurde ebenfalls von Klyuchnikov *et al.* untersucht. In dieser spannenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass bei Nachweis von minimaler Resterkrankung (MRD) trotz Vorhandenseins eines vollen Donorchimärismus ein deutlich reduziertes Gesamtüberleben vorlag. Auch konnte dargestellt werden, dass bei MRD-Negativität trotz gemischtem Chimärismus an Tag 100 nach Transplantation ein überlegenes Überleben bestand (Klyuchnikov *et al.*, 2022).

Die in dieser Arbeit durchgeführten Überlebenskurven nach Simon und Makuch sind jedoch nicht sinnvoll mit Kaplan-Meier-Kurven, und damit den bisherigen Anschauungen in der Literatur, zu vergleichen. Dies liegt daran, dass Kaplan-Meier-Kurven das Überleben

ausgehend von einem festen Zeitpunkt sowie einer festen Gruppenzugehörigkeit betrachten. Insofern spiegeln die hier präsentierten Ergebnisse besser die Realität, wobei für eine präzisere Darstellung engmaschigere Messzeitpunkte zu wählen wären.

Wie auch bei der Untersuchung der Einflussfaktoren auf die Kinetik des frühen peripheren Donorchimärismus, ist auch bei den Chimärismuswerten, welche in die Erstellung der Simon-Makuch-Plots eingeflossen sind, nicht nachvollziehbar, wie therapeutisch eingegriffen wurde. Bei Verwendung von Chimärismuswerten bis ca. ein Jahr nach Transplantation, ist davon auszugehen, dass über die Gabe von Donorlymphozyteninfusionen oder die Anpassung der immunsuppressiven Therapie Einfluss auf die Entwicklung des Chimärismus genommen wurde. Insofern ist eine realitätsnahe Abbildung der Chimärismusentwicklung zu postulieren.

5.3 Definition des vollen Donorchimärismus

Wie in 4.2 beschrieben, konnte hinsichtlich des Gesamtüberlebens und krankheitsfreies Überleben (für AML bestand in Bezug auf letzteres die Tendenz) ein statistisch signifikanter Vorteil für einen peripheren Donorchimärismus von $> 99.9\%$ gegenüber 99.9% und $< 99.9\%$ gezeigt werden.

Dies verdeutlicht, welchen Benefit die sensitiven Chimärismusanalysen mit sich bringen, und unterstreicht aber auch deren Notwendigkeit. Die weit verbreitete Analysemethode über Mikrosatelliten (short tandem repeats) erscheint bei einer Sensitivität von 1% im Bereich eines Donorchimärismus von 95%-99% nicht akkurat genug (Horn *et al.*, 2009).

Insofern lässt sich postulieren, auch wenn beim krankheitsfreien Überleben bei AML das Signifikanzniveau knapp verfehlt wurde, dass der volle Donorchimärismus erst ab $>99.9\%$ erreicht wird. Dies gilt es bei der Interpretation von Studien hinsichtlich des prognostischen Wertes des peripheren Donorchimärismus zu berücksichtigen, da häufig der volle Donorchimärismus nicht als $> 99.9\%$ definiert ist (Pichler *et al.*, 2016; Cousin *et al.*, 2020; Klyuchnikov *et al.*, 2022)

6 Zusammenfassung

Die Messung des peripheren Donorchimärismus nach allogener Stammzelltransplantation gehört routinemäßig zum postinterventionellen Prozedere und dient der Überwachung des Anwachsens des Transplantates respektive der Erkennung einer Abstoßung. Inwiefern der frühere periphere Donorchimärismus Hinweise auf ein Rezidiv geben kann, ist kontrovers. Untersuchungen diesbezüglich wurden bisher mittels Kaplan-Meier-Schätzer vorgenommen.

Erstmalig wurde innerhalb dieser Arbeit das Gesamtüberleben sowie das krankheitsfreie Überleben nach allogener Stammzelltransplantation anhand des peripheren Donorchimärismus mittels Simon-Makuch-Plots untersucht. Unter Verwendung von drei peripheren Chimärismusmessungen innerhalb des ersten Jahres nach allogener Stammzelltransplantation konnte gezeigt werden, dass durch das Erreichen eines Chimärismuswertes von $>99.9\%$ ein Überlebensvorteil, sowohl hinsichtlich des Gesamtüberlebens als auch in Bezug auf das krankheitsfreie Überleben, bei AML und MDS, gegenüber Chimärismuswerten von 99.9% respektive $<99.9\%$, besteht. Einschränkend gilt zu erwähnen, dass bei AML für das krankheitsfreie Überleben die statistische Signifikanz knapp verpasst wurde. Hieraus lässt sich die Empfehlung für die Verwendung sensitiverer Messmethoden in der klinischen Routine ableiten.

Ebenfalls konnten in dieser Arbeit Entitäten-spezifisch Einflussfaktoren auf den frühen peripheren Donorchimärismus nach allogener Stammzelltransplantation untersucht werden, wo sich deckend mit der bisherigen Literatur die Intensität des Konditionierungsverfahren als relevanter Einflussfaktor, sowohl für AML als auch für MDS, objektivieren ließ. Aufgezeigte Abweichungen zu bisher beschriebenen Einflussfaktoren lassen Raum für zukünftige prospektive Studien.

7 Summary

The measurement of peripheral donor chimerism after allogeneic stem cell transplantation is a routine part of the post-interventional procedure and serves to monitor the growth of the transplant or to detect rejection. The extent to which earlier peripheral donor chimerism can indicate a relapse is controversial. Investigations in this regard have so far been carried out using the Kaplan-Meier estimator.

For the first time, this study analysed overall survival and disease-free survival after allogeneic stem cell transplantation on the basis of peripheral donor chimerism using Simon-Makuch plots. Using three peripheral chimerism measurements within the first year after allogeneic stem cell transplantation, it was shown that achieving a chimerism value of >99.9% results in a survival advantage, both in terms of overall survival and disease-free survival, in AML and MDS, compared to chimerism values of 99.9% and <99.9% respectively. It should be noted, however, that statistical significance was narrowly missed for disease-free survival in AML. This leads to a recommendation for the use of more sensitive measurement methods in routine clinical practice.

This study also analysed entity-specific factors influencing early peripheral donor chimerism after allogeneic stem cell transplantation, where the intensity of the conditioning procedure could be objectified as a relevant influencing factor for both AML and MDS, in line with previous literature. The deviations from previously described influencing factors leave room for future prospective studies.

8 Abkürzungsverzeichnis

ABL1	Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1
AIC	Akaike information criterion
AKT	Proteinkinase B
AML	Akute myeloische Leukämie
ASXL1	Additional Sex Combs-Like 1
ATG	Antithymozytenglobulin
BCOR	BCL6 Corepressor
BCR	Breakpoint Cluster Region
Bu	Busulfan
bZIP	Basic leucine zipper
CBFB	Core-binding factor subunit beta
CD	Cluster of Differentiation
CEBPA	CCAAT/enhancer-binding protein alpha
CIBMTR	Center for International Blood and Marrow Transplant Research
CMV	Zytomegalievirus
CREBBP	CREB-binding protein
Cy	Cyclophosphamid
DEK	DEK Protoonkogen
del	Deletion
DFFRY	Ubiquitin Specific Peptidase 9 Y-Linked
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ERK	extracellular-signal regulated kinases
EZH2	Histon-Lysin-N-Methyltransferase EZH2
FAM	Fluorescein amidites
FISH	Fluoreszenz-in-Situ-Hybridisierung
FLT3	fms like tyrosine kinase 3
Flu	Fludarabin
FP	Forward Primer
GATA2	GATA Binding Protein 2
GvHD	Graft-versus-Host-Reaktion
HLA	Humanes Leukozytenantigen
ICC	International Consensus Classification
Indels	Insertionen/Deletionen
IPSS-R	Revised International Prognostic Scoring System
ITD	internal tandem duplications
KAT6A	K(Lysine) Acetyltransferase 6A
KMT2A	Histon-Lysin-N-Methyltransferase 2A
MDS	Myelodysplastische Neoplasien/Myelodysplastische Syndrome
MECOM(EVI1)	MDS1 and EVI1 complex locus
MEK	Mitogen-activated protein kinase kinase
Mel	Melphalan
MLLT3	MLLT3 super elongation complex subunit
MRD	Minimale Resterkrankung
MYH11	Myosin Heavy Chain 11
NGS	Next generation sequencing
NPM1	nucleophosmin 1
NUP214	Nucleoporin 214
PBSC	Peripheral Blood Stem Cell
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PI3K	Phosphatidylinositol 3-Kinase
QF	quantitativ fluoreszierend
qPCR	quantitative real-time PCR
QYCS	Real-time quantitative Y chromosome-specific PCR
RAF	rapidly accelerated fibrosarcoma
RAS	rat sarcoma virus
RegEx	regular expression
RIC	Reduced intensity conditioning
RP	Reverse Primer

<i>RUNX1</i>	<i>Runt-related transcription factor 1</i>
<i>RUNX1T1</i>	<i>RUNX1 partner transcriptional co-repressor 1</i>
<i>SCT</i>	<i>Stammzelltransplantation</i>
<i>SF3B1</i>	<i>Splicing factor 3B subunit 1</i>
<i>SID</i>	<i>short insertion/deletion polymorphisms</i>
<i>SNP</i>	<i>single nucleotide polymorphisms</i>
<i>SRSF2</i>	<i>Serin/Arginin-reicher Splicing-Faktor 2</i>
<i>STAG2</i>	<i>STAG2 Cohesin Complex Component</i>
<i>STAT3</i>	<i>Signal transducer and activator of transcription 3</i>
<i>t</i>	<i>Translokation</i>
<i>TAMRA</i>	<i>carboxytetramethylrhodamine</i>
<i>TBI</i>	<i>Total body irradiation</i>
<i>TET2</i>	<i>Tet-Methylcytosin-Dioxygenase 2</i>
<i>TP53</i>	<i>tumor protein p53</i>
<i>U2AF1</i>	<i>U2 small nuclear RNA auxiliary factor 1</i>
<i>WHO</i>	<i>World Health Organization</i>
<i>ZRSR2</i>	<i>U2 small nuclear ribonucleoprotein auxiliary factor 35 kDa subunit-related protein 2</i>

9 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Häufigkeit der Stammzelltransplantation pro Jahr und pro Krankheit von 1999 – 2018 am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf. Zu beachten: 2018 ist nicht vollständig repräsentiert.	10
Abb. 2: Klassifikation der verschiedenen Konditionierungsschemata anhand der Dauer der Panzytopenie und Notwendigkeit der Gabe von Stammzellen nach Bacigalupo et al., 2009	11
Abb. 3: Verteilung der peripheren Donorchimärismuswerte zum ersten Messzeitpunkt	29
Abb. 4: Verteilung der peripheren Donorchimärismuswerte zum zweiten Messzeitpunkt	30
Abb. 5: Verteilung der peripheren Donorchimärismuswerte zum dritten Messzeitpunkt	30
Abb. 6: Krankheitsfreies Überleben in Tagen anhand der Chimärismuswerte aus dem peripheren Blut mittels des ersten Donorchimärismus, sowie den Messzeitpunkten d180 und d365 nach allogener Stammzelltransplantation bei AML.....	37
Abb. 7: Gesamtüberleben in Tagen anhand der Chimärismuswerte aus dem peripheren Blut mittels des ersten Donorchimärismus, sowie den Messzeitpunkten d180 und d365 nach allogener Stammzelltransplantation bei AML.....	38
Abb. 8: Krankheitsfreies Überleben in Tagen anhand der Chimärismuswerte aus dem peripheren Blut mittels des ersten Donorchimärismus, sowie den Messzeitpunkten d180 und d365 nach allogener Stammzelltransplantation bei MDS	39
Abb. 9: Gesamtüberleben in Tagen anhand der Chimärismuswerte aus dem peripheren Blut mittels des ersten Donorchimärismus, sowie den Messzeitpunkten d180 und d365 nach allogener Stammzelltransplantation bei MDS	39

10 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Definition der Zytopenien im peripheren Blut bei MDS nach Greenberg et al., 2016	8
Tab. 2: Risikostratifizierung bei AML nach (Loke, Buka and Craddock, 2021)	14
Tab. 3: Risikostratifizierung bei AML anhand genetischer Veränderungen bei Diagnosestellung nach European LeukemiaNet (ELN) (Döhner et al., 2022)	15
Tab. 4: Verbreitete Konditionierungsregimes bei AML nach (Scott et al., 2015; Khan, Shah and Ulrickson, 2022)	16
Tab. 5: Beispiele für Konditionierungsregime bei MDS nach (Kröger et al., 2017)	18
Tab. 6: Definition des Chimärismus nach (Bader et al., 2005)	19
Tab. 7: Übersicht über das Patientenkollektiv	25
Tab. 8: Abgeleitete Beziehungen zwischen Patient/Donor, Spezifizierung des Donortyps und Patientenaufteilung anhand der median transfundierten Stammzellen	32
Tab. 9: Ausgeschlossene Variablen als Einflussfaktoren auf den früheren Donorchimärismus bei AML mittels Rückwärts-Elimination	33
Tab. 10: Finales Regressionsmodell nach Rückwärts-Elimination hinsichtlich Einflussfaktoren auf den frühen peripheren Donorchimärismus bei AML	34
Tab. 11: Ausgeschlossene Variablen als Einflussfaktoren auf den früheren Donorchimärismus bei MDS mittels Rückwärts-Elimination	35
Tab. 12: Finales Regressionsmodell nach Rückwärts-Elimination hinsichtlich Einflussfaktoren auf den frühen peripheren Donorchimärismus bei MDS	36

11 Literaturverzeichnis

Abraham, R. *et al.* (1997) 'Early cyclosporine taper in high-risk sibling allogeneic bone marrow transplants', *Bone marrow transplantation*, 20(9), pp. 773–777. Available at: <https://doi.org/10.1038/SJ.BMT.1700961>.

Alessandrino, E.P. *et al.* (2010) 'Prognostic impact of pre-transplantation transfusion history and secondary iron overload in patients with myelodysplastic syndrome undergoing allogeneic stem cell transplantation: a GITMO study', *Haematologica*, 95(3), pp. 476–484. Available at: <https://doi.org/10.3324/HAEMATOL.2009.011429>.

Al-Jurf, M. *et al.* (2005) 'Allogeneic Peripheral Blood Stem-Cell Compared With Bone Marrow Transplantation in the Management of Hematologic Malignancies: An Individual Patient Data Meta-Analysis of Nine Randomized Trials', *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 23(22), p. 5074. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.09.020>.

Anderson, D. *et al.* (1951) 'The use of skin grafting to distinguish between monozygotic and dizygotic twins in cattle', *Heredity* 1951 5:3, 5(3), pp. 379–397. Available at: <https://doi.org/10.1038/hdy.1951.38>.

Antin, J.H. *et al.* (2001) 'Establishment of complete and mixed donor chimerism after allogeneic lymphohematopoietic transplantation: recommendations from a workshop at the 2001 Tandem Meetings of the International Bone Marrow Transplant Registry and the American Society of Blood and Marrow Transplantation', *Biology of blood and marrow transplantation: journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*, 7(9), pp. 473–485. Available at: <https://doi.org/10.1053/BBMT.2001.V7.PM11669214>.

Appelbaum, F.R. (2007) 'Hematopoietic-cell transplantation at 50', *The New England journal of medicine*, 357(15), pp. 1472–1475. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMP078166>.

Arber, D.A. *et al.* (2022) 'International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data', *Blood*, 140(11), pp. 1200–1228. Available at: <https://doi.org/10.1182/BLOOD.2022015850>.

Ataca Atila, P. *et al.* (2020) 'Effects of ABO incompatibility in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation', *Transfusion clinique et biologique: journal de la Societe francaise de transfusion sanguine*, 27(3), pp. 115–121. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.TRACLI.2020.06.008>.

Bacigalupo, A., Ballen, K., Rizzo, D., Giralto, S., Lazarus, H., Ho, V., Apperley, J., Slavin, S., Pasquini, M., Sandmaier, Brenda M., *et al.* (2009) 'Defining the Intensity of Conditioning Regimens: Working Definitions', *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 15, pp. 1628–1633. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2009.07.004>.

Bacigalupo, A., Ballen, K., Rizzo, D., Giralto, S., Lazarus, H., Ho, V., Apperley, J., Slavin, S., Pasquini, M., Sandmaier, Brenda M., *et al.* (2009) 'Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions', *Biology of blood and marrow transplantation: journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*, 15(12), pp. 1628–1633. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.BBMT.2009.07.004>.

Bader, P. *et al.* (1997) 'Mixed hematopoietic chimerism after allogeneic bone marrow transplantation: the impact of quantitative PCR analysis for prediction of relapse and graft rejection in children', *Bone marrow transplantation*, 19(7), pp. 697–702. Available at: <https://doi.org/10.1038/SJ.BMT.1700721>.

Bader, P. *et al.* (1998) *Serial and quantitative analysis of mixed hematopoietic chimerism by PCR in patients with acute leukemias allows the prediction of relapse after allogeneic BMT*, *Bone Marrow Transplantation*.

Bader, P. *et al.* (1999) *Prevention of relapse in pediatric patients with acute leukemias and MDS after allogeneic SCT by early immunotherapy initiated on the basis of increasing mixed chimerism: a single center experience of 12 children, Leukemia*. Available at: <http://www.stockton-press.co.uk/leu>.

Bader, P. *et al.* (2005) 'How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation?', *Bone Marrow Transplantation*, pp. 107–119. Available at: <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1704715>.

Bejar, R. *et al.* (2011) 'Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes', *The New England journal of medicine*, 364(26), pp. 2496–2506. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMOA1013343>.

Bejar, R. and Steensma, D.P. (2021) 'MYELODYSPLASTIC SYNDROMES', in Kaushansky Kenneth *et al.* (eds) *Williams Hematology*. 10th edn.

Blouin, A.G. and Askar, M. (2022) 'Chimerism analysis for clinicians: a review of the literature and worldwide practices', *Bone Marrow Transplantation*. Springer Nature, pp. 347–359. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41409-022-01579-9>.

Bornhäuser, M. *et al.* (2009) 'Monitoring of donor chimerism in sorted CD34+ peripheral blood cells allows the sensitive detection of imminent relapse after allogeneic stem cell transplantation', *Haematologica*, 94(11), pp. 1613–1617. Available at: <https://doi.org/10.3324/HAEMATOL.2009.007765>.

Brown, G.M. *et al.* (1998) 'Characterisation of the coding sequence and fine mapping of the human DFFRY gene and comparative expression analysis and mapping to the Sxrb interval of the mouse Y chromosome of the Dffry gene', *Human molecular genetics*, 7(1), pp. 97–107. Available at: <https://doi.org/10.1093/HMG/7.1.97>.

Brunner Andrew M. and Graubert Timothy A. (2022) 'Hematology Basic Principles and Practice', in Hoffman Ronald *et al.* (eds) *Hematology Basic Principles and Practice*. 8th edn. Elsevier, pp. 937–937.

Cazzola, M. (2020) 'Myelodysplastic Syndromes', *The New England journal of medicine*. Edited by D.L. Longo, 383(14), pp. 1358–1374. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMRA1904794>.

Ch Thiede, K.L.O.K.S.P.B.A.F.N.E.B. (2002) 'Detection of relapse by sequential monitoring of chimerism in circulating CD34+ cells - PubMed', *Ann Hematol* . 2002;81 Suppl 2:S27-8., pp. 27–28. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12611065/> (Accessed: 8 April 2024).

Clark, J.R. *et al.* (2015) 'Monitoring of chimerism following allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT): Technical recommendations for the use of Short Tandem Repeat (STR) based techniques, on behalf of the United Kingdom National External Quality Assessment Service for Leucocyte Immunophenotyping Chimerism Working Group', *British Journal of Haematology*. Blackwell Publishing Ltd, pp. 26–37. Available at: <https://doi.org/10.1111/bjh.13073>.

Cornelissen, J.J. *et al.* (2012) 'The European LeukemiaNet AML Working Party consensus statement on allogeneic HSCT for patients with AML in remission: an integrated-risk adapted approach', *Nature Reviews Clinical Oncology* 2012 9:10, 9(10), pp. 579–590. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2012.150>.

Cousin, E. *et al.* (2020) 'Assessment of chimerism and immunomodulation to prevent post-transplantation relapse in childhood acute myeloblastic leukemia: is it the right approach?', *Pediatric hematology and oncology*, 37(3), pp. 259–268. Available at: <https://doi.org/10.1080/08880018.2020.1717697>.

Cutler, C.S. *et al.* (2004) 'A decision analysis of allogeneic bone marrow transplantation for the myelodysplastic syndromes: delayed transplantation for low-risk myelodysplasia is associated with improved outcome', *Blood*, 104(2), pp. 579–585. Available at: <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2004-01-0338>.

Damaj, G. *et al.* (2012) 'Impact of azacitidine before allogeneic stem-cell transplantation for myelodysplastic syndromes: a study by the Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie-Cellulaire and the Groupe-Francophone des Myélodysplasies', *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 30(36), pp. 4533–4540. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.44.3499>.

Devine, S.M. *et al.* (2015) 'Phase II study of allogeneic transplantation for older patients with acute myeloid leukemia in first complete remission using a reduced-intensity conditioning regimen: Results from Cancer and Leukemia Group B 100103 (Alliance for Clinical Trials in Oncology)/Blood and Marrow Transplant Clinical Trial Network 0502', *Journal of Clinical Oncology*, 33(35), pp. 4167–4175. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.62.7273/ASSET/DF0A7659-C1E6-4FD8-A50A-209DBE946B74/ASSETS/IMAGES/ZLJ9991056910004.JPEG>.

Döhner, H. *et al.* (2022) 'Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN', *Blood*, 140(12), pp. 1345–1377. Available at: <https://doi.org/10.1182/BLOOD.2022016867>.

Dubovsky, J. *et al.* (1999) *Kinetics of chimerism during the early post-transplant period in pediatric patients with malignant and non-malignant hematologic disorders: implications for timely detection of engraftment, graft failure and rejection*, *Leukemia*. Available at: <http://www.stockton-press.co.uk/leu>.

Duncavage, E.J. *et al.* (2022) 'Genomic profiling for clinical decision making in myeloid neoplasms and acute leukemia', *Blood*, 140(21), pp. 2228–2247. Available at: <https://doi.org/10.1182/BLOOD.2022015853>.

Falini, B. *et al.* (2005) 'Cytoplasmic nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype', *The New England journal of medicine*, 352(3), pp. 254–266. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMOA041974>.

Faraci, M. *et al.* (2018) 'Evaluation of Chimerism Dynamics after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children with Nonmalignant Diseases', *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 24(5), pp. 1088–1093. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2017.12.801>.

Fehse, B. *et al.* (2001) 'Real-time quantitative Y chromosome-specific PCR (QYCS-PCR) for monitoring hematopoietic chimerism after sex-mismatched allogeneic stem cell transplantation', *Journal of hematotherapy & stem cell research*, 10(3), pp. 419–425. Available at: <https://doi.org/10.1089/152581601750289028>.

Filipovich, A.H. *et al.* (2005) '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', *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 11(12), pp. 945–956. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2005.09.004>.

Flowers, M.E.D. *et al.* (2011) 'Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria', *Blood*, 117(11), pp. 3214–3219. Available at: <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2010-08-302109>.

Ford, C.E. *et al.* (1956) 'Cytological Identification of Radiation-Chimæras', *Nature* 1956 177:4506, 177(4506), pp. 452–454. Available at: <https://doi.org/10.1038/177452a0>.

Giralt, S. *et al.* (1997) 'Engraftment of Allogeneic Hematopoietic Progenitor Cells With Purine Analog-Containing Chemotherapy: Harnessing Graft-Versus-Leukemia Without Myeloablative Therapy', *Blood*, 89(12), pp. 4531–4536. Available at: <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V89.12.4531>.

Giralt, S. and Bishop, M.R. (2009) 'Principles and Overview of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation', *Cancer treatment and research*, 144, p. 1. Available at: https://doi.org/10.1007/978-0-387-78580-6_1.

Gratwohl, A. *et al.* (2013) 'Quantitative and qualitative differences in use and trends of hematopoietic stem cell transplantation: A Global Observational Study', *Haematologica*, 98(8), pp. 1282–1290. Available at: <https://doi.org/10.3324/haematol.2012.076349>.

Greenberg, P.L. *et al.* (2012) 'Revised International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes', *Blood*, 120(12), pp. 2454–2465. Available at: <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2012-03-420489>.

Greenberg, P.L. *et al.* (2016) 'Cytopenia levels for aiding establishment of the diagnosis of myelodysplastic syndromes', *Blood*, 128(16), p. 2096. Available at: <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2016-07-728766>.

Grimwade, D. *et al.* (2010) 'Refinement 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*, 116(3), pp. 354–365. Available at: <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2009-11-254441>.

Haferlach, T. *et al.* (2014) 'Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes', *Leukemia*, 28(2), pp. 241–247. Available at: <https://doi.org/10.1038/LEU.2013.336>.

Heid, C.A. *et al.* (no date) *Real Time Quantitative PCR*.

Hoffmann, J.C. *et al.* (2014) 'Monitoring of acute myeloid leukemia patients after allogeneic stem cell transplantation employing semi-automated CD34+ donor cell chimerism analysis', *Annals of hematology*, 93(2), pp. 279–285. Available at: <https://doi.org/10.1007/S00277-013-1961-4>.

Horn, B. *et al.* (2009) 'Feasibility study of preemptive withdrawal of immunosuppression based on chimerism testing in children undergoing myeloablative allogeneic transplantation for hematologic malignancies', *Bone marrow transplantation*, 43(6), pp. 469–476. Available at: <https://doi.org/10.1038/BMT.2008.339>.

Horowitz, M. *et al.* (1990) 'Graft-Versus-Leukemia Reactions After Bone Marrow Transplantation', *Blood*, 75(3), pp. 555–562. Available at: <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V75.3.555.555>.

Jagasia, M. *et al.* (2012) 'Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation', *Blood*, 119(1), pp. 296–307. Available at: <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2011-06-364265>.

Jain, T. *et al.* (2020) 'Early post-transplantation factors predict survival outcomes in patients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation for myelofibrosis', *Blood cancer journal*, 10(3). Available at: <https://doi.org/10.1038/S41408-020-0302-9>.

Jimenez-Velasco, A. *et al.* (2005) 'Reliable quantification of hematopoietic chimerism after allogeneic transplantation for acute leukemia using amplification by real-time PCR of null alleles and insertion/deletion polymorphisms', *Leukemia*, 19(3), pp. 336–343. Available at: <https://doi.org/10.1038/SJ.LEU.2403622>.

Khan, I., Shah, N.N. and Ulrickson, M. (2022) 'Hematopoietic cell transplantation and cellular therapy', in J.K.M. Altman *et al.* (eds) *American Society of Hematology Self-Assessment Program*. 8th edn, pp. 384–395.

Khoury, J.D. *et al.* (2022) 'The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms', *Leukemia*, 36(7), pp. 1703–1719. Available at: <https://doi.org/10.1038/S41375-022-01613-1>.

Klyuchnikov, E. *et al.* (2022) 'Post-Transplantation Day +100 Minimal Residual Disease Detection Rather Than Mixed Chimerism Predicts Relapses after Allogeneic Stem Cell Transplantation for Intermediate-Risk Acute Myelogenous Leukemia Patients Undergoing Transplantation in Complete Remission', *Transplantation and Cellular Therapy*, 28(7), pp. 374.e1-374.e9. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.JTCT.2022.04.009>.

Kolb, H.J. (1998) 'Donor leukocyte transfusions for treatment of leukemic relapse after bone marrow transplantation. EBMT Immunology and Chronic Leukemia Working Parties', *Vox sanguinis*, 74 Suppl. 2(SUPPL. 2), pp. 321–329. Available at: <https://doi.org/10.1111/J.1423-0410.1998.TB05438.X>.

Koreth, J. *et al.* (2009) 'Allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission: systematic review and meta-analysis of prospective clinical trials', *JAMA*, 301(22), pp. 2349–2361. Available at: <https://doi.org/10.1001/JAMA.2009.813>.

Kottaridis, P.D. *et al.* (2001) 'The presence of a FLT3 internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials', *Blood*, 98(6), pp. 1752–1759. Available at: <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V98.6.1752>.

Kröger, N. *et al.* (2011) 'Allogeneic stem cell transplantation for myelodysplastic syndromes with bone marrow fibrosis', *Haematologica*, 96(2), pp. 291–297. Available at: <https://doi.org/10.3324/HAEMATOL.2010.031229>.

Kröger, N. *et al.* (2017) 'Dose-Reduced Versus Standard Conditioning Followed by Allogeneic Stem-Cell Transplantation for Patients With Myelodysplastic Syndrome: A Prospective Randomized Phase III Study of the EBMT (RICMAC Trial)', *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 35(19), pp. 2157–2164. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.70.7349>.

Lamba, R. *et al.* (2004) 'Mixed hematopoietic chimerism at day 90 following allogeneic myeloablative stem cell transplantation is a predictor of relapse and survival', *Leukemia* 2004 18:10, 18(10), pp. 1681–1686. Available at: <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2403468>.

Liacini, A. *et al.* (2023) 'Chimerism Testing by Next Generation Sequencing for Detection of Engraftment and Early Disease Relapse in Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation and an Overview of NGS Chimerism Studies', *International Journal of Molecular Sciences*, 24(14). Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms241411814>.

Liesveld Jane L. and Lichtman Marshall A. (2021) 'ACUTE MYELOGENOUS LEUKEMIA', in Kaushansky Kenneth *et al.* (eds) *Williams Hematology*. 10th edn.

Liesveld, J.L. and Rothberg, P.G. (2008) 'Mixed chimerism in SCT: conflict or peaceful coexistence?', *Bone marrow transplantation*, 42(5), pp. 297–310. Available at: <https://doi.org/10.1038/BMT.2008.212>.

Lim, Z. *et al.* (2010) 'Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation for patients 50 years or older with myelodysplastic syndromes or secondary acute myeloid leukemia', *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 28(3), pp. 405–411. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.21.8073>.

Loiseau, P. *et al.* (2007) 'HLA Association with hematopoietic stem cell transplantation outcome: the number of mismatches at HLA-A, -B, -C, -DRB1, or -DQB1 is strongly associated with overall survival', *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*, 13(8), pp. 965–974. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.BBMT.2007.04.010>.

Loke, J., Buka, R. and Craddock, C. (2021) 'Allogeneic Stem Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia: Who, When, and How?', *Frontiers in immunology*, 12. Available at: <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.659595>.

M Ramírez, M.A.D. ,F G.-S. ,M B. ,F C. ,M V. ,J L.V. ,L M. (1996) 'Chimerism after allogeneic hematopoietic cell transplantation in childhood acute lymphoblastic leukemia - PubMed', *Bone Marrow Transplant*, 18(6), pp. 1161–5. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8971389/> (Accessed: 10 April 2024).

- Mattsson, J., Ringdén, O. and Storb, R. (2008) 'Graft Failure after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation', *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 14(1), pp. 165–170. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.BBMT.2007.10.025>.
- McClune, B.L. *et al.* (2010) 'Effect of Age on Outcome of Reduced-Intensity Hematopoietic Cell Transplantation for Older Patients With Acute Myeloid Leukemia in First Complete Remission or With Myelodysplastic Syndrome', *Journal of Clinical Oncology*, 28(11), p. 1878. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.25.4821>.
- Metzeler, K.H. *et al.* (2011) 'ASXL1 mutations identify a high-risk subgroup of older patients with primary cytogenetically normal AML within the ELN Favorable genetic category', *Blood*, 118(26), pp. 6920–6929. Available at: <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2011-08-368225>.
- Michallet, A.S. *et al.* (2005) 'Impact of chimaerism analysis and kinetics on allogeneic haematopoietic stem cell transplantation outcome after conventional and reduced-intensity conditioning regimens', *British Journal of Haematology*, 128(5), pp. 676–689. Available at: <https://doi.org/10.1111/J.1365-2141.2005.05372.X>.
- Mohr, B. *et al.* (2004) 'CD34+ cell dose, conditioning regimen and prior chemotherapy: factors with significant impact on the early kinetics of donor chimerism after allogeneic hematopoietic cell transplantation', *Bone marrow transplantation*, 34(11), pp. 949–954. Available at: <https://doi.org/10.1038/SJ.BMT.1704710>.
- Mountjoy, L. *et al.* (2021) 'Does early chimerism testing predict outcomes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation?', *Leukemia & lymphoma*, 62(1), pp. 252–254. Available at: <https://doi.org/10.1080/10428194.2020.1827249>.
- Najfeld Vesna (2022) 'CONVENTIONAL AND MOLECULAR CYTOGENOMIC BASIS OF HEMATOLOGIC MALIGNANCIES', in Hoffman Ronald *et al.* (eds) *Hematology Basic Principles and Practice*. 8th edn. Elsevier, pp. 843–843.
- Olsson, R. *et al.* (2012) 'Graft failure in the modern era of allogeneic hematopoietic SCT', *Bone Marrow Transplantation* 2013 48:4, 48(4), pp. 537–543. Available at: <https://doi.org/10.1038/bmt.2012.239>.
- Ozdemir, Z.N. and Civriz Bozdağ, S. (2018) 'Graft failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation', *Transfusion and apheresis science: official journal of the World Apheresis Association: official journal of the European Society for Haemapheresis*, 57(2), pp. 163–167. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.TRANSCI.2018.04.014>.
- P Bader, W.H. ,T K. ,R H. ,D N. ,J B. (1996) 'Quantitative assessment of mixed hematopoietic chimerism by polymerase chain reaction after allogeneic BMT - PubMed', *Anticancer Research*, 16(4A), pp. 1759–63. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8712697/> (Accessed: 10 April 2024).
- Passweg, J.R. *et al.* (2014) 'Hematopoietic SCT in Europe: Data and trends in 2012 with special consideration of pediatric transplantation', *Bone Marrow Transplantation*, 49(6), pp. 744–750. Available at: <https://doi.org/10.1038/bmt.2014.55>.
- Patel Bhumika J. and Smith Catherine (2022) 'Acquired marrow failure syndromes: aplastic anemia, paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, and myelodysplastic syndromes', in Altman Jessica K. MD *et al.* (eds) *American Society of Hematology Self-Assessment Program*. 8th edn, pp. 531–536.
- Pereira, R. *et al.* (2009) 'A new multiplex for human identification using insertion/deletion polymorphisms', *ELECTROPHORESIS*, 30(21), pp. 3682–3690. Available at: <https://doi.org/10.1002/ELPS.200900274>.
- Peters, C. *et al.* (1999) 'Transplantation of highly purified peripheral blood CD34+ cells from HLA-mismatched parental donors in 14 children: evaluation of early monitoring of engraftment', *Leukemia*, 13(12), pp. 2070–2078. Available at: <https://doi.org/10.1038/SJ.LEU.2401577>.

- Pichler, H. *et al.* (2016) 'Peripheral blood late mixed chimerism in leucocyte subpopulations following allogeneic stem cell transplantation for childhood malignancies: does it matter?', *British Journal of Haematology*, 173(6), pp. 905–917. Available at: <https://doi.org/10.1111/bjh.14008>.
- Puumala, S.E. *et al.* (2007) 'Reproductive history, infertility treatment, and the risk of acute leukemia in children with down syndrome: a report from the Children's Oncology Group', *Cancer*, 110(9), pp. 2067–2074. Available at: <https://doi.org/10.1002/CNCR.23025>.
- Rauwerdink, C.A. *et al.* (2012) 'The practical application of chimerism analyses in allogeneic stem cell transplant recipients: blood chimerism is equivalent to marrow chimerism', *Experimental and molecular pathology*, 93(3), pp. 339–344. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.YEXMP.2012.07.003>.
- Reshef, R. *et al.* (2014) 'Early donor chimerism levels predict relapse and survival after allogeneic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning', *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*, 20(11), pp. 1758–1766. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.BBMT.2014.07.003>.
- Rezvani, A.R. *et al.* (2015) 'Impact of Donor Age on Outcome after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation', *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 21(1), pp. 105–112. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2014.09.021>.
- Rinsky, R.A. (1989) 'Benzene and leukemia: an epidemiologic risk assessment.', *Environmental Health Perspectives*, 82, p. 189. Available at: <https://doi.org/10.1289/EHP.8982189>.
- Rosenberg, P.S., Alter, B.P. and Ebell, W. (2008) 'Cancer risks in Fanconi anemia: findings from the German Fanconi Anemia Registry', *Haematologica*, 93(4), pp. 511–517. Available at: <https://doi.org/10.3324/HAEMATOL.12234>.
- Runde, V. *et al.* (1998) 'Bone marrow transplantation from HLA-identical siblings as first-line treatment in patients with myelodysplastic syndromes: early transplantation is associated with improved outcome. Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation', *Bone marrow transplantation*, 21(3), pp. 255–261. Available at: <https://doi.org/10.1038/SJ.BMT.1701084>.
- Scholl, C., Gilliland, D.G. and Fröhling, S. (2008) 'Deregulation of signaling pathways in acute myeloid leukemia', *Seminars in oncology*, 35(4), pp. 336–345. Available at: <https://doi.org/10.1053/J.SEMINONCOL.2008.04.004>.
- Scott, B.L. *et al.* (2015) 'Results of a Phase III Randomized, Multi-Center Study of Allogeneic Stem Cell Transplantation after High Versus Reduced Intensity Conditioning in Patients with Myelodysplastic Syndrome (MDS) or Acute Myeloid Leukemia (AML): Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network (BMT CTN) 0901', *Blood*, 126(23), p. LBA-8. Available at: <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V126.23.LBA-8.LBA-8>.
- Sellar, R.S. *et al.* (2015) 'CMV promotes recipient T-cell immunity following reduced-intensity T-cell-depleted HSCT, significantly modulating chimerism status', *Blood*, 125(4), pp. 731–739. Available at: <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2014-07-589150>.
- Sellmann, L. *et al.* (2018) 'Diagnostic value of highly-sensitive chimerism analysis after allogeneic stem cell transplantation', *Bone Marrow Transplantation*, 53(11), pp. 1457–1465. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41409-018-0176-7>.
- Shukla Neerav, Walter, R.B. and Walsh Michael F. (2022) 'Acute myeloid leukemia', in M. Jessica K. Altman *et al.* (eds) *American Society of Hematology Self-Assessment Program*. 8th edn, pp. 554–554.
- Simon, R. and Makuch, R.W. (1984) 'A non-parametric graphical representation of the relationship between survival and the occurrence of an event: application to responder versus non-responder bias', *Statistics in medicine*, 3(1), pp. 35–44. Available at: <https://doi.org/10.1002/SIM.4780030106>.

- Sorrer, M.L. *et al.* (2005) 'Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT', *Blood*, 106(8), pp. 2912–2919. Available at: <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2005-05-2004>.
- Sorrer, M.L. *et al.* (2007) 'Comorbidity and disease status based risk stratification of outcomes among patients with acute myeloid leukemia or myelodysplasia receiving allogeneic hematopoietic cell transplantation', *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 25(27), pp. 4246–4254. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.09.7865>.
- Sorrer, M.L. *et al.* (2014) 'Comorbidity-age index: a clinical measure of biologic age before allogeneic hematopoietic cell transplantation', *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 32(29), pp. 3249–3256. Available at: <https://doi.org/10.1200/JCO.2013.53.8157>.
- Stone, R.M. *et al.* (2017) 'Midostaurin plus Chemotherapy for Acute Myeloid Leukemia with a FLT3 Mutation', *The New England journal of medicine*, 377(5), pp. 454–464. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMOA1614359>.
- Stumph, J. *et al.* (2008) 'Comparison of peripheral blood and bone marrow samples for detection of post transplant mixed chimerism', *Bone marrow transplantation*, 41(6), pp. 589–590. Available at: <https://doi.org/10.1038/SJ.BMT.1705938>.
- Thiede, C. *et al.* (2001) *Sequential monitoring of chimerism and detection of minimal residual disease after allogeneic blood stem cell transplantation (BSCT) using multiplex PCR amplification of short tandem repeat-markers*, *Leukemia*. Available at: www.nature.com/leu.
- Thomas, E.D. *et al.* (1957) 'Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy', *The New England journal of medicine*, 257(11), pp. 491–496. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJM195709122571102>.
- Tsushima, H., Miyazaki, Y. and Iwanaga, M. (2012) 'Late effect of atomic bomb radiation on myeloid disorders: leukemia and myelodysplastic syndromes', *International journal of hematology*, 95(3), pp. 232–238. Available at: <https://doi.org/10.1007/S12185-012-1002-4>.
- Valcárcel, D. *et al.* (2003) 'Chimerism analysis following allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning', *Bone Marrow Transplantation*, 31(5), pp. 387–392. Available at: <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1703846>.
- Wang, H. *et al.* (2021) 'Comparison of Upfront Transplantation and Pretransplant Cytoreductive Therapy for Advanced Myelodysplastic Syndrome', *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*, 21(9), pp. 631–640. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.clml.2021.04.015>.
- Wäsch, R. *et al.* (2000) 'Incidence of mixed chimaerism and clinical outcome in 101 patients after myeloablative conditioning regimens and allogeneic stem cell transplantation', *British journal of haematology*, 109(4), pp. 743–750. Available at: <https://doi.org/10.1046/J.1365-2141.2000.02110.X>.
- Wheatley, K. *et al.* (1999) 'A simple, robust, validated and highly predictive index for the determination of risk-directed therapy in acute myeloid leukaemia derived from the MRC AML 10 trial. United Kingdom Medical Research Council's Adult and Childhood Leukaemia Working Parties', *British journal of haematology*, 107(1), pp. 69–79. Available at: <https://doi.org/10.1046/J.1365-2141.1999.01684.X>.
- De Witte, T. *et al.* (2017) 'Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for MDS and CMML: Recommendations from an international expert panel', *Blood*, 129(13), pp. 1753–1762. Available at: <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2016-06-724500>.
- Yang, N. *et al.* (2019) 'ABO Blood Type Incompatibility Is Not a Risk Factor of Outcomes for Acute Myeloid Leukemia (AML) Patients After Unmanipulated Haplo-identical Peripheral Blood Hematopoietic Stem Cell Transplantation', *Annals of transplantation*, 24, pp. 350–358. Available at: <https://doi.org/10.12659/AOT.916004>.

Zeiser, R. and Blazar, B.R. (2017a) 'Acute Graft-versus-Host Disease - Biologic Process, Prevention, and Therapy', *The New England journal of medicine*, 377(22), pp. 2167–2179. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMRA1609337>.

Zeiser, R. and Blazar, B.R. (2017b) 'Acute Graft-versus-Host Disease - Biologic Process, Prevention, and Therapy', *The New England journal of medicine*, 377(22), pp. 2167–2179. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMRA1609337>.

Zeiser, R. and Blazar, B.R. (2017c) 'Pathophysiology of Chronic Graft-versus-Host Disease and Therapeutic Targets', *The New England journal of medicine*, 377(26), pp. 2565–2579. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMRA1703472>.

12 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich all jenen danken, die zum Gelingen der Dissertation beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater PD Dr. med. Maximilian Christopeit für das Überlassen des spannenden Themas, die jahrelange Ausdauer, sowie die wertvolle fachliche Betreuung während des gesamten Promotionvorhabens.

Herzlich möchte ich mich auch bei Dr. med. Jan Weller bedanken für das stets offene Ohr und die große Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten.

Ebenso danke ich dem ehemaligen Klinikdirektor der Klinik für Stammzelltransplantation, Prof. Dr. med. Nicolaus Kröger, dass ich an seiner Klinik die Promotion beginnen durfte, sowie den neuen Klinikdirektoren, Prof. Dr. med. Francis Ayuketang Ayuk und Prof. Dr. rer. nat. Dipl. – Med. Boris Fehse, dass ich an deren Klinik die Promotion abschließen darf.

Ein herzliches Dankeschön gilt meiner Familie und Freunden, die mir stets den Rücken gestärkt, mich ermutigt und begleitet haben, sowohl während des Studiums, als auch während Arbeiten im Rahmen der Promotion. Besonders Danken möchte ich an dieser Stelle meinem Vater für die bedingungslose finanzielle Unterstützung, meinem Bruder Tobias für die Anfertigung des Skriptes zur Vereinfachung der Datenerhebung, als auch meiner Alina, die neben wertvollem wissenschaftlichen Input stets emotional in allen Lebenslagen unterstützt hat.

Abschließend möchte ich allen Patientinnen und Patienten danken, durch deren Daten die Arbeit erst ermöglicht wurde.

13 Erklärung des Eigenanteils

Die Fragestellungen, die zu den durchgeführten Analysen der vorgelegten Arbeit führten, wurden von Herrn PD Dr. med. Maximilian Christopeit gemeinsam mit mir in der Diskussion entwickelt und festgelegt. Grundlage waren in der Routinediagnostik erhobene Chimärismussmessungen, welche klinikintern für jeden Patienten abgelegt wurden. Wir haben in den Vorbesprechungen zu der Durchführung der Arbeit gemeinsam, neben der Festlegung auf die Nutzung der Methoden der deskriptiven Statistik für die Beschreibung der untersuchten Kohorte und auf die Methoden der Überlebensschätzung, herausgearbeitet, dass nach dem Tag der Transplantation eingetretene Ereignisse zeitabhängig modelliert werden müssen und dafür die Analyse nach Mantel und Byar mit Plots nach Simon und Makuch genutzt werden müsste. Ich habe auf der Basis der verfügbaren Literatur zur multivariaten Risikofaktoranalyse herausgearbeitet, dass mögliche Einflussfaktoren auf die Kinetik des peripheren Donorchimärismus mittels Rückwärtselimination anhand des Akaike information criterion durchgeführt werden müsse. Den Eigenanteil zur Strukturierung der nötigen Analysen beziffere ich dank der didaktischen Führung durch Herrn Christopeit auf 70%.

Die Datenerhebung habe ich zu 100% selbst durchgeführt.

In den statistischen Analysen in R wurde ich durch Dr. med. Jan Weller unterstützt. Mein Eigenanteil beträgt hier 70%.

Die Interpretation der Daten erfolgte zu 100% durch mich.

Der Aufbau sowie die Verfassung der Monographie mit der dafür notwendigen Literaturrecherche erfolgt zu 100% durch mich.

14 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe, insbesondere ohne entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten, verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe. Das gilt insbesondere auch für alle Informationen aus Internetquellen.

Soweit beim Verfassen der Dissertation KI-basierte Tools („Chatbots“) verwendet wurden, versichere ich ausdrücklich, den daraus generierten Anteil deutlich kenntlich gemacht zu haben. Die „Stellungnahme des Präsidiums der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) zum Einfluss generativer Modelle für die Text- und Bilderstellung auf die Wissenschaften und das Förderhandeln der DFG“ aus September 2023 wurde dabei beachtet.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich damit einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Datum

Unterschrift