

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Klinik und Poliklinik für Pädiatrische Hämatologie und Onkologie
Sektion für pädiatrische Stammzelltransplantation und Immunologie

Direktor der Klinik
Prof. Dr. med. Stefan Rutkowski

Evaluation der Wertigkeit klinischer Warnzeichen für Immundefekte sowie Untersuchung des T-Zell-Rezeptor- Repertoires mittels V β -Spectratyping bei Kindern mit malignen und nicht malignen Erkrankungen vor und nach Stammzelltransplantation

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Sonia Stéphanie Mergy
aus Nizza, Frankreich

Hamburg 2021

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 11.02.2022**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Ina Kötter

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: PD Dr. Kai Lehmborg

An meine Familie und Johannes

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | Fragestellung | 8 |
| 1.1 | Teil 1 | 8 |
| 1.2 | Teil 2 | 8 |
| 2 | Einleitung Teil 1 | 10 |
| 2.1 | Definition von Immundefekten | 10 |
| 2.2 | Prävalenz von Immundefekten | 10 |
| 2.3 | Einteilung von Immundefekten | 10 |
| 2.4 | Humorale Immundefekte | 10 |
| 2.4.1 | X-chromosomal vererbte Agammaglobulinämie | 11 |
| 2.4.2 | CVID | 11 |
| 2.4.3 | Selektiver IgA-Mangel | 12 |
| 2.4.4 | Unklassifizierter Antikörpermangel | 13 |
| 2.4.5 | Transiente Hypogammaglobulinämie | 13 |
| 2.5 | T-Zelluläre Immundefekte | 13 |
| 2.5.1 | SCID | 14 |
| 2.5.2 | Mikrodeletionssyndrom 22q11 | 14 |
| 2.5.3 | MHC-Klasse-Defekte | 15 |
| 2.6 | Phagozytendefekte | 15 |
| 2.6.1 | Septische Granulomatose | 16 |
| 2.6.2 | Schwere kongenitale Neutropenie | 16 |
| 2.6.3 | Autoimmunneutropenie | 16 |
| 2.7 | Weiterer Defekt des angeborenen Immunsystems | 17 |
| 2.7.1 | TLR3-Defekt | 17 |
| 2.8 | Komplementdefekte | 17 |
| 2.9 | Autoinflammatorische Syndrome | 18 |
| 2.9.1 | Familiäres Mittelmeerfieber | 19 |
| 2.9.2 | PFAPA | 19 |
| 2.10 | Immundefekte mit Immundysregulation | 20 |
| 2.10.1 | Familiäre hämophagozytische Lymphohistiozytose | 20 |
| 2.10.2 | Hyper-IgE-Syndrom | 21 |
| 2.10.3 | IPEX | 22 |
| 2.10.4 | XIAP-Defizienz | 22 |
| 2.11 | Syndrome mit Knochenmarkversagen | 22 |
| 2.12 | Early-Onset-IBD | 23 |
| 2.13 | Klinische Diagnostik von Immundefekten | 24 |
| 2.14 | Immunologische Diagnostik | 28 |
| 2.15 | Diagnostischer Test | 29 |
| 3 | Einleitung Teil 2 | 31 |
| 3.1 | T-Zell-Rezeptor-Repertoire | 31 |
| 3.1.1 | T-Zell-Rezeptor | 31 |
| 3.1.2 | Somatische Rekombination des T-Zell-Rezeptors | 32 |
| 3.1.3 | CDR3- Spectratyping | 33 |
| 3.2 | T-Zell-Rezeptor Repertoire bei Immundefekten | 34 |
| 3.3 | Einführung zur allogenen Stammzelltransplantation | 34 |
| 3.3.1 | Konditionierung | 36 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 3.3.2 | Infektionen nach HSZT..... | 37 |
| 3.3.3 | GvHD..... | 38 |
| 3.4 | Immunrekonstitution nach Transplantation | 39 |
| 3.4.1 | T-Zell-Rekonstitution..... | 39 |
| 3.4.2 | Rekonstitution des TZR-Repertoires..... | 42 |
| 4 | <i>Material und Methoden Teil 1</i> | 44 |
| 4.1 | Probandenkollektiv..... | 44 |
| 4.2 | Klinische Diagnosestellung..... | 45 |
| 4.2.1 | Erhebung allgemeiner Parameter..... | 48 |
| 4.3 | Warnzeichen zur klinischen Diagnostik von Immundefekten..... | 48 |
| 4.4 | Laborwerte | 50 |
| 4.5 | Datenerhebung | 51 |
| 4.6 | Statistische Auswertung..... | 51 |
| 5 | <i>Material und Methoden Teil 2</i> | 53 |
| 5.1 | Patientenkollektiv | 53 |
| 5.2 | T-Zell-Zahl | 54 |
| 5.3 | Konditionierung..... | 55 |
| 5.4 | Infektionen/GvHD..... | 55 |
| 5.5 | Patientenproben | 55 |
| 5.6 | Untersuchung des TZR-Repertoires mittels Vβ-Spectratyping..... | 56 |
| 5.6.1 | Konzentrationsbestimmung von DNA..... | 56 |
| 5.6.2 | Agarose-Gelelektrophorese..... | 56 |
| 5.6.3 | V β -spezifische Polymerase-Kettenreaktion (PCR)..... | 56 |
| 5.6.4 | Fragmentanalyse der PCR-Produkte "Spectratyping" | 57 |
| 5.6.5 | Auswertung..... | 58 |
| 5.7 | Statistische Auswertung..... | 59 |
| 5.8 | Ethikvotum..... | 59 |
| 6 | <i>Ergebnisse Teil 1</i> | 60 |
| 6.1 | Beschreibung des Patientenkollektivs..... | 60 |
| 6.1.1 | Alter und Geschlecht..... | 60 |
| 6.1.2 | Diagnosedauer..... | 60 |
| 6.1.3 | Vorstellungsanlass | 60 |
| 6.1.4 | Einteilung der Immundefekte..... | 61 |
| 6.1.5 | Schwere Immundefekte..... | 63 |
| 6.1.6 | Konsanguinität | 63 |
| 6.2 | Warnzeichen zur klinischen Diagnostik von Immundefekten..... | 63 |
| 6.2.1 | Warnzeichen der DSAI..... | 63 |
| 6.2.1.1 | Wertigkeit der Warnzeichen..... | 64 |
| 6.2.1.2 | Vorkommen der Warnzeichen für Immundefekte..... | 65 |
| 6.2.1.3 | Vorkommen der Warnzeichen in den Immundefektgruppen | 66 |
| 6.2.2 | Warnzeichen der AWMF-Leitlinie | 67 |
| 6.2.2.1 | Wertigkeit der Warnzeichen..... | 68 |
| 6.2.2.2 | Vorkommen der Warnzeichen für Immundefekte..... | 69 |
| 6.2.2.3 | Vorkommen der Warnzeichen in den Immundefektgruppen | 70 |
| 6.2.3 | Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem NPV..... | 73 |
| 6.2.3.1 | Wertigkeit der Warnzeichen..... | 74 |
| 6.2.3.2 | Vorkommen der Warnzeichen für Immundefekte..... | 74 |
| 6.2.3.3 | Vorkommen der Warnzeichen in den Immundefektgruppen | 75 |
| 6.2.4 | Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem Youden-Index | 76 |

| | | |
|------------|---|------------|
| 6.2.4.1 | Wertigkeit der Warnzeichen..... | 77 |
| 6.2.4.2 | Vorkommen der Warnzeichen für Immundefekte..... | 78 |
| 6.2.4.3 | Vorkommen der Warnzeichen in den Immundefektgruppen | 79 |
| 6.3 | Labordiagnostik bei spezifischen Immundefekten..... | 81 |
| 6.3.1 | Autoinflammatorische Syndrome..... | 81 |
| 6.3.2 | Komplementdefekte | 81 |
| 6.3.3 | Zelluläre Immundefekte..... | 82 |
| 6.3.4 | Humorale Immundefekte | 83 |
| 6.3.5 | Immundefekte mit Immundysregulation | 84 |
| 6.3.6 | Syndrome mit Knochenmarkversagen | 85 |
| 7 | Ergebnisse Teil 2..... | 86 |
| 7.1 | Rekonstitution des TZR-Repertoires..... | 86 |
| 7.1.1 | TZR-Repertoire Immundefekte..... | 86 |
| 7.1.2 | TZR-Repertoire Stoffwechseldefekte..... | 88 |
| 7.1.3 | TZR-Repertoire Anämien/Hämoglobinopathien..... | 90 |
| 7.1.4 | TZR-Repertoire Leukämien | 92 |
| 7.2 | Rekonstitution der T-Zellen..... | 94 |
| 7.2.1 | T-Zell-Rekonstitution Immundefekte | 94 |
| 7.2.2 | T-Zell-Rekonstitution Stoffwechseldefekte | 95 |
| 7.2.3 | T-Zell-Rekonstitution Anämien/Hämoglobinopathien..... | 96 |
| 7.2.4 | T-Zell-Rekonstitution Leukämien | 97 |
| 7.3 | Rekonstitution des TZR Repertoires bei unterschiedlicher Konditionierung | 98 |
| 7.4 | Faktoren die die Immunrekonstitution beeinflussen..... | 100 |
| 7.4.1 | Infektionen | 100 |
| 7.4.2 | Einfluss viraler Infektionen auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires..... | 102 |
| 7.4.3 | GvHD..... | 104 |
| 7.4.4 | Einfluss einer GvHD auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires | 105 |
| 8 | Diskussion Teil 1 | 108 |
| 8.1 | Prävalenz definierter Immundefekte..... | 108 |
| 8.2 | Evaluation der vier Warnzeichen-Sets zur Diagnostik von Immundefekten... .. | 108 |
| 8.2.1 | Warnzeichen der DSAI..... | 108 |
| 8.2.2 | AWMF-Warnzeichen | 112 |
| 8.2.3 | Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem NPV..... | 115 |
| 8.2.4 | Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem Youden-Index | 117 |
| 8.3 | Vergleich der Warnzeichen..... | 118 |
| 8.4 | Labordiagnostik bei spezifischen Immundefekten..... | 119 |
| 8.5 | Schwächen der Studie..... | 120 |
| 9 | Diskussion Teil 2 | 121 |
| 9.1 | Methode CDR3-Spectratyping | 121 |
| 9.2 | TZR-Repertoire der Patienten mit PID vor HSZT | 121 |
| 9.3 | Rekonstitution des TZR-Repertoires nach HSZT bei unterschiedlicher Grunderkrankung | 122 |
| 9.4 | Rekonstitution der T-Zellen nach HSZT | 126 |
| 9.5 | Rekonstitution des TZR-Repertoires in Abhängigkeit der Konditionierung... .. | 128 |
| 9.6 | Einfluss viraler Infektionen auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires | 129 |

| | | |
|-----|---|-----|
| 9.7 | Einfluss einer GvHD auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires..... | 131 |
| 9.8 | Schwächen der Studie..... | 132 |
| 10 | <i>Zusammenfassung</i> | 133 |
| 11 | <i>Abkürzungsverzeichnis</i> | 137 |
| 12 | <i>Tabellenverzeichnis</i> | 140 |
| 13 | <i>Abbildungsverzeichnis</i> | 141 |
| 14 | <i>Literaturverzeichnis</i> | 143 |
| 15 | <i>Danksagung</i> | 158 |
| 16 | <i>Lebenslauf</i> | 159 |
| 17 | <i>Eidesstattliche Versicherung</i> | 160 |

1 Fragestellung

1.1 Teil 1

Die frühe Diagnosestellung ist bei Immundefekten entscheidend für die Prognose der Patienten. Aufgrund des variablen klinischen Erscheinungsbildes und Abgrenzung zur physiologischen Infektionsanfälligkeit können Immundefekte lange unerkant bleiben. Folglich wurden Warnzeichen-Sets etabliert (12 Warnzeichen der DSAI, Kriterien der AMWF-Leitlinie, Düsseldorfer Warnzeichen), die zur schnelleren Identifizierung von Patienten mit Immundefekten dienen sollen (Wahn, 2000a, Lankisch et al., 2015, Farmand et al., 2017). Diese Warnzeichen wurden bislang nicht ausreichend evaluiert.

Im ersten Teil dieser Arbeit sollen die etablierten Kriterien zur klinischen Diagnosestellung eines Immundefekts retrospektiv untersucht werden.

Daraus ergeben sich folgende Fragestellungen:

- Wie hoch ist die Prävalenz von definierten Immundefekten in einer spezialisierten Immundefektambulanz?
- Wie sensitiv und spezifisch sind die etablierten Warnzeichen-Sets für eine valide klinische Diagnosestellung eines Immundefekts?
- Welche Arten von Immundefekten werden dadurch erkannt, welche bleiben unentdeckt?
- Welche Warnzeichen sind auf das Vorliegen eines Immundefekts bzw. auf die Art des Immundefekts hinweisend?
- Welche veränderten Laborwerte weisen auf die Art des Immundefekts hin?

1.2 Teil 2

Bei einem schweren Immundefekt und bei weiteren malignen (akute Leukämien) sowie nicht malignen Erkrankungen (Stoffwechseldefekte, Anämien/Hämoglobinopathien) ist die hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSZT) eine etablierte Therapie. Nach der HSZT ist die Regeneration des Immunsystems entscheidend für den Erfolg der Transplantation. Die Immunrekonstitution kann anhand der Rekonstitution des T-Zell-Rezeptor (TZR)-Repertoires evaluiert werden. Bislang haben nur wenige Studien das TZR-Repertoire von Patienten vor und nach HSZT untersucht sowie mögliche Faktoren, die die Schnelligkeit der Rekonstitution beeinflussen können.

Daraus ergeben sich folgende Fragestellungen:

- Ist das TZR-Repertoire von Kindern mit malignen und nicht malignen Erkrankungen vor HSZT bereits verändert, insbesondere bei Immundefekten?

- Beeinflusst die Grunderkrankung (Immundefekt, Stoffwechseldefekt, Anämie/Hämoglobinopathie, Leukämie) die Rekonstitution des T-Zell-Rezeptor-Repertoires nach HSZT? Werden Unterschiede zwischen malignen und nicht malignen Erkrankungen beobachtet?
- Wie rekonstituieren die T-Zellen nach HSZT und korreliert das TZR-Repertoire mit der quantitativen Bestimmung der T-Zellen nach HSZT?
- Welchen Einfluss hat die Art der Konditionierungsbehandlung auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires? (myeloablative vs. toxizitätsreduzierte Konditionierung)
- Inwiefern beeinflussen das Auftreten von Infektionen und Graft-versus-Host Disease (GvHD) das TZR-Repertoire nach HSZT?

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde das TZR-Repertoire von Patienten mit verschiedener Grunderkrankung (Immundefekt, Stoffwechseldefekt, Anämie/Hämoglobinopathie, Leukämie) und unterschiedlichen Konditionierungsregime vor HSZT und an den Tagen 30, 60, 90, 180 nach HSZT mittels V β -Spectratyping analysiert.

2 Einleitung Teil 1

2.1 Definition von Immundefekten

Als primäre Immundefekte (PID) werden angeborene Störungen des Immunsystems beschrieben. Dabei ist die Funktion des Immunsystems häufig aufgrund eines Gendefektes gestört, die sowohl Komponenten des angeborenen als auch des erworbenen Immunsystems betreffen können. Das klinische Erscheinungsbild von Immundefekten ist sehr vielfältig. Sie können sich je nach betroffenem immunologischem System sowohl durch Infektionsneigung als auch durch Immundysregulation (z. B. Autoimmunität und Inflammation) äußern (De Vries and Driessen, 2011).

2.2 Prävalenz von Immundefekten

Primäre Immundefekte sind insgesamt selten. Aktuell sind ungefähr 350 meist molekulargenetisch definierte PID bekannt. Da die verschiedenen Immundefekte so vielfältig sind, ist eine exakte Prävalenz der Erkrankung unbekannt und schwankt zwischen unterschiedlichen Erhebungen in Abhängigkeit davon, welche Erkrankungen eingeschlossen wurden. In Deutschland beträgt die Prävalenz eines primären Immundefekts 2,72:100.000 (El-Helou et al., 2019). In Frankreich wird geschätzt, dass die Prävalenz 1:10.000 beträgt (Mahlaoui et al., 2017). In den USA wird die Prävalenz eines relevanten Immundefekts auf 1:1 200 für die gesamte Population und auf 1:2.000 für Kinder geschätzt mit Ausnahme der Immunglobulin-A (IgA)-Defizienz, die mit größerer Häufigkeit (1:300 bzw. 1:500) auftritt. Insgesamt leidet die Hälfte aller Betroffenen unter einem Antikörpermangelsyndrom (Boyle and Buckley, 2007). Eine höhere Häufigkeit wird bei elterlicher Konsanguinität beobachtet (El-Helou et al., 2019).

2.3 Einteilung von Immundefekten

Die Immundefekte werden je nach betroffenem immunologischem System in Gruppen eingeteilt. Dabei können folgende Bestandteile des Immunsystems betroffen sein: B-Zellen und Antikörper, T-Zellen, natürliche Killerzellen, das Komplementsystem und Phagozyten (De Vries and Driessen, 2011).

Im Folgenden werden insbesondere die Immundefekte, die in dieser Arbeit vorkommen, näher erläutert.

2.4 Humorale Immundefekte

Die humoralen Immundefekte umfassen Erkrankungen, die durch einen Mangel (Hypogammaglobulinämie) oder das Fehlen von Antikörpern (Agammaglobulinämie) gekennzeichnet sind. Sie zählen zu den häufigsten Formen der Immundefekte mit einem Anteil von ca. 57% aller diagnostizierten primären Immundefekte (El-Helou et al., 2019).

Verursacht werden primäre B-Zell-Defekte durch Defekte der Entwicklung/Differenzierung im Knochenmark oder im peripheren lymphatischen Gewebe. Vornehmlich humorale Defekte können auch das T-Zell-System betreffen und gehören dann zu den kombinierten Immundefekten (Ballow, 2002, Wood et al., 2007, Mccusker et al., 2018). Charakterisiert sind diese vor allem durch rezidivierende bakterielle Infekte der Atemwege (Otitis media, Sinusitis, Pneumonie). Dabei kann es auch zu gastrointestinalen Infektionen, Fatigue und Autoimmunerkrankungen kommen. Typischerweise treten Infektionen mit bekapselten Erregern wie *Streptococcus pneumoniae* und *Haemophilus influenzae* Typ B auf (Ballow, 2002, Wood et al., 2007). Unbehandelt können rezidivierende Infektionen zu Organschäden führen. Diese betreffen vor allem die Lunge und vermögen Bronchiektasen hervorzurufen. Folglich sind eine frühe Diagnosestellung und Therapie bedeutsam, um die Prognose dieser Patienten zu verbessern. Bei schwerer Antikörperdefizienz erfolgt deshalb eine intravenöse oder subkutane Immunglobulinsubstitution (Wood et al., 2007, Jesenak et al., 2014, Schussler et al., 2016). Insgesamt wurden mehr als 20 humorale Immundefekte beschrieben (Mccusker et al., 2018). In vorliegender Arbeit werden folgende humorale Immundefekte erläutert: Agammaglobulinämie, CVID, IgA-Mangel, unklassifizierter Antikörpermangel.

2.4.1 X-chromosomal vererbte Agammaglobulinämie

Die X-chromosomal vererbte Agammaglobulinämie (XLA) wurde im Jahr 1952 als eins der ersten PID beschrieben. Die Erkrankung wird durch eine Mutation der Bruton-Tyrosinkinase (BTK) verursacht, die zu einem Reifungsstopp in B-Lymphozyten führt. Infolgedessen kommt es zum Fehlen reifer B-Lymphozyten und Immunglobulinen (Hypogamma- bzw. Agammaglobulinämie). Bei Patienten mit XLA treten Infektionen typischerweise erst um das erste Lebensjahr auf, wenn transplazentär übergetretene mütterliche Antikörper keinen ausreichenden Nestschutz mehr bieten. Männliche Patienten leiden an rezidivierenden bakteriell bedingten Pneumonien, Sinusitiden und Bronchitiden mit bekapselten Erregern, die im Verlauf zu Bronchiektasen führen können. Zusätzlich können Infektionen der Haut, des Magen-Darm-Trakts sowie Arthritis und seltener Meningoenzephalitis auftreten. In der Labordiagnostik kommt es zu einer Agammaglobulinämie und fehlen reifer B-Lymphozyten. Gesichert für die Diagnose anhand des Nachweises einer Mutation im BTK-Gen. Die Therapie besteht aus einer Immunglobulinsubstitution (El-Sayed et al., 2019, Lougaris et al., 2020).

2.4.2 CVID

Das variable Immundefektsyndrom (Common Variable Immunodeficiency, CVID) umfasst Immundefekte, die durch eine Störung der B-Zell-Differenzierung und Antikörpermangel (Hypogammaglobulinämie) gekennzeichnet sind. Es können auch T-Zell-Defekte vorliegen.

Die Patienten weisen heterogene molekulare und genetische Ursachen auf, sowie eine unterschiedliche Schwere der Erkrankung (Ballou, 2002, Notarangelo, 2010). Es ist der häufigste primäre Immundefekt mit einer Prävalenz zwischen 1:25.000-1:50.000. Dieser Defekt manifestiert sich meistens erst im jungen Erwachsenenalter, kann aber auch bei Jugendlichen und seltener im Kindesalter auftreten (Cunningham-Rundles, 2019). Dabei treten typischerweise wiederholte bakterielle Infektionen der Atemwege auf (Sinusitiden, chronische Bronchitiden, Pneumonien) (Cunningham-Rundles and Bodian, 1999, Jesenak et al., 2014, Schussler et al., 2016). Außerdem werden gastrointestinale Infektionen sowie Malabsorption und Diarrhöen festgestellt. Es kann häufig eine Lymphoproliferation in Form einer Lymphadenopathie und Splenomegalie nachgewiesen werden. Des Weiteren neigen Patienten mit CVID zu Autoimmunerkrankungen wie u. a. rheumatoide Arthritis, hämolytische Anämie und Autoimmunneutropenie. Es wurde eine erhöhte Inzidenz für Malignome beobachtet. Labordiagnostisch treten niedrige Serumkonzentrationen an Immunglobulin G (IgG) und IgA, zum Teil auch an Immunglobulin-M (IgM) auf sowie eine geringe Antikörper-Antwort auf Impfungen. Gelegentlich werden erniedrigte B-Zell-Zahlen sowie T-Zell-Zahlen festgestellt (Cunningham-Rundles and Bodian, 1999, Wahn et al., 2005c, Cunningham-Rundles, 2019). Die Diagnosestellung erfolgt erst ab dem vierten Lebensjahr, weil davor die Immunglobulinbildung physiologisch vermindert sein kann (Uffelman et al., 1970, European Society for Immunodeficiencies, 2016). Die Therapie besteht aus einer Immunglobulinsubstitution, die vor allem die Infektionsrate senkt (Cunningham-Rundles and Bodian, 1999, Wood et al., 2007)

2.4.3 Selektiver IgA-Mangel

Der selektive IgA-Mangel tritt im Kleinkindalter auf und ist einer der häufigsten primären Immundefekte mit einer Prävalenz von 1:300 bis 1:500 (Boyle and Buckley, 2007). Die Erkrankung verläuft in zwei Dritteln der Fälle asymptomatisch. Bei symptomatischen Patienten treten wiederkehrende bakterielle respiratorische Infektionen (Sinusitis, Pneumonie, Bronchitis) auf. Zudem wurden eine erhöhte Inzidenz für Autoimmunerkrankungen (juvenile idiopathische Arthritis, systemischer Lupus), Zöliakie, chronisch entzündliche Darmerkrankungen (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa) und Zeichen einer Atopie (Asthma, allergische Rhinokonjunktivitis, Ekzeme) beobachtet (Janzi et al., 2009, Yel, 2010, Yazdani et al., 2017). Diagnostiziert wird die IgA-Defizienz durch eine Serum-IgA-Konzentration geringer als 7mg/dl bei normalen Serum IgG- und IgM-Konzentrationen. Außerdem erfolgt die Diagnosestellung aufgrund der physiologischen erniedrigten IgA-Serum-Werte erst ab dem vierten Lebensjahr (European Society for Immunodeficiencies, 2016, Yazdani et al., 2017). Zu beachten ist, dass ein IgA-Mangel in manchen Fällen in einen CVID übergehen kann (Yel, 2010).

2.4.4 Unklassifizierter Antikörpermangel

Der unklassifizierte Antikörpermangel ist eine Form der Hypogammaglobulinämie, die die Diagnosekriterien der anderen humoralen Immundefekte, unter anderem des CVID nicht erfüllt. Diese Patienten werden oft aufgrund der unzureichenden immunologischen Klassifizierung des Immundefekts nicht richtig diagnostiziert und behandelt (Keles et al., 2010, Janssen et al., 2018). Die Diagnose eines CVID wird in den ESID-Kriterien klar definiert: erst ab dem vierten Lebensjahr, bei alleinigen erniedrigten IgG-, IgA-, IgM-Serumspiegeln oder in Kombinationen, bei einer geringen Immunantwort auf Impfungen oder einer niedrigen Anzahl an Gedächtnis-B-Zellen. Viele Patienten weisen jedoch eine Hypogammaglobulinämie auf, ohne diese Kriterien zu erfüllen. Patienten die eine verminderte Serumkonzentration von IgG, IgG-Subklassen, IgA, IgM alleine oder in Kombinationen aufweisen, werden somit unter den unklassifizierten Antikörpermangelsyndrome zusammengefasst. Dabei sollen T-Zell-Defekte und sekundäre Ursachen einer Hypogammaglobulinämie (Infektion, Malignome) ausgeschlossen werden (European Society for Immunodeficiencies, 2016). Klinisch äußert sich ein unklassifizierter Antikörpermangel meistens durch rezidivierende Infektionen der Atemwege. Außerdem weisen viele Patienten eine Immundysregulation auf, meistens eine atopische Diathese. Therapeutisch wird bei schweren rezidivierenden Infektionen eine Immunglobulinsubstitution in Erwägung gezogen (Keles et al., 2010, Janssen et al., 2018).

2.4.5 Transiente Hypogammaglobulinämie

Die transiente Hypogammaglobulinämie des Säuglings ist gekennzeichnet durch einen physiologischen vorübergehenden Mangel an meist Serum-IgG und -IgA unterhalb der altersentsprechenden Normwerte in den ersten drei Lebensjahren. Die Erkrankung verläuft in vielen Fällen asymptomatisch, kann aber auch zu rezidivierenden Infektionen der Atemwege führen. Zusätzlich können Zeichen einer Atopie, etwa eine Nahrungsmittelunverträglichkeit, auftreten. Die Ursache ist eine verzögerte Reifung des humoralen Immunsystems und sistiert in der Regel spontan bis zum vierten Lebensjahr. Die Kinder weisen eine regelrechte Anzahl an Lymphozyten sowie eine adäquate Impfreaktion auf. Eine sorgfältige Verlaufskontrolle wird angestrebt, um einen Übergang in einen CVID auszuschließen (Ballou, 2002, Ameratunga et al., 2019).

2.5 T-Zelluläre Immundefekte

T-Zell-Defekte untergliedern sich in genetisch bedingte Defekte in der Reifung, der Differenzierung und Aktivierung der T-Zellen. Patienten mit zellulären Immundefekten zeigen vornehmlich eine Anfälligkeit für Infektionen verursacht durch Viren, Pilze, sowie opportunistische Erreger. Die meisten Patienten haben aufgrund der immunregulatorischen Funktion der T-Zellen, einen sekundären B-Zell-Defekt. Dies führt zu kombinierten

Immundefekten (zu B- und T-Zell-Defekten). Davon abgegrenzt werden syndromale Immundefekte (u. a. das Mikrodeletionssyndrom 22q11 bzw. DiGeorge-Syndrom), die zu einer Multisystemerkrankung führen (Hoffmann et al., 2014c).

Folgende in dieser Arbeit vorkommende T-Zell-Defekte werden erläutert: SCID, MHC-Klasse-II-Defekt und Mikrodeletionssyndrom 22q11.

2.5.1 SCID

Die schweren kombinierten Immundefekte (Severe Combined Immunodeficiency, SCID) kommen bei einer Prävalenz von 1:58.000 selten vor (Kwan et al., 2014). Dabei können sowohl die T- als auch die B-Zellen betroffen sein. Je nach zugrunde liegendem genetischem Defekt können B-Zellen und natürliche Killerzellen (NK)-Zellen fehlen. SCID lässt sich somit in unterschiedliche immunologische Phänotypen einteilen (T-B+; T-B-). Die Säuglinge sind nach der Geburt unauffällig und entwickeln innerhalb der ersten drei Lebensmonaten erste Symptome. Typische Zeichen sind eine erhöhte Infektionsanfälligkeit, eine Gedeihstörung aufgrund chronischer Diarrhö und eine ausgedehnte Candidiasis. Es kommt zu rezidivierenden schweren Infektionen aller Art (Sepsis, Meningitis, Pneumonie) mit unterschiedlichen viralen, bakteriellen Erregern sowie Pilzen u. a. opportunistischen Erreger wie *Pneumocystis-jiroveci*. Aufgrund transplazentarer Übertragung mütterlicher T-Zellen, kann eine Graft-versus-Host-Reaktion der Haut in Form eines Exanthems auftreten. Zudem fehlen bei bestimmten Defekten zervikale Lymphknoten, Tonsillen und der Thymus (Gennery and Cant, 2001, Van Der Burg and Gennery, 2011). Ein typischer Laborbefund bei SCID ist eine Lymphozytopenie. In der Lymphozyten-Phänotypisierung fallen erniedrigte oder fehlende CD3⁺-T-Zellen (< 300/μl) auf, die eine verminderte Proliferation auf Mitogene aufweisen (Shearer et al., 2014). Notwendig ist, die Diagnose schnell zu stellen sowie eine Stammzelltransplantation einzuleiten, um ein funktionierendes Immunsystem zu rekonstituieren. Andernfalls verläuft die Erkrankung innerhalb der ersten Lebensjahre letal. In einigen Ländern, seit August 2019 auch in Deutschland, wird im Rahmen des Neugeborenen-Screenings auf einen SCID untersucht. Es werden T-Zell-Rezeptor-Exzisionsringe (T-Cell-Receptor-Excision-Circles, TRECs), die bei der VDJ-Rekombination entstehen, quantifiziert. Diese sind ein Marker für neu gebildete T-Zellen und bei Kindern mit einem SCID erniedrigt (Van Der Burg et al., 2019).

2.5.2 Mikrodeletionssyndrom 22q11

Das 22q11 Mikrodeletionssyndrom tritt bei einer Prävalenz zwischen 1:3.000-6.000 relativ häufig auf (Botto et al., 2003). Es wird durch eine Mikrodeletion auf dem Chromosom 22q11 verursacht, die zu einem Entwicklungsdefekt in der Embryonalzeit führt. Das syndromale Erkrankungsbild ist gekennzeichnet durch Hypoparathyroidismus, kongenitale Herzfehler/

Gefäßmissbildungen und Gesichtsdysmorphien. Zudem liegt häufig eine T-Zell-Defizienz vor. In den meisten Fällen ist diese moderat ausgeprägt, kann jedoch bis hin zu einem schweren Defekt reichen. Letzterer wird auch DiGeorge-Syndrom genannt. Folglich tritt eine vermehrte Infektionsanfälligkeit auf (Gennery, 2012, Morsheimer et al., 2017). Zusätzlich wurde eine Neigung zu Autoimmunerkrankungen, wie Autoimmunzytopenien, darunter die idiopathische thrombozytopenische Purpura beschrieben (Lambert et al., 2018). Laut den European-Society-for-Immunodeficiency (ESID)-Diagnosekriterien wird die Diagnose dieses Immundefekts nach molekulargenetischem Nachweis der 22q11-Deletion, sowie einer vermehrten Infektanfälligkeit und/oder T-Zell-Zahl Verminderung gestellt (European Society for Immunodeficiencies, 2016). Bei einem schweren T-Zell-Defekt kann eine fetale Transplantation von Thymusgewebe oder eine Stammzelltransplantation zur Immunrekonstitution führen (Gennery, 2012, Morsheimer et al., 2017).

2.5.3 MHC-Klasse-Defekte

Die MHC-Klasse-Defekte (engl. major histocompatibility complex = Haupthistokompatibilitätskomplex) sind seltene kombinierte Immundefekte, die durch fehlende Expression von Humanen-Leukozyten-Antigen (HLA)-Klasse-I bzw. II-Molekülen auf antigenpräsentierenden Zellen (dendritische Zellen, B-Zellen und Monozyten) charakterisiert sind. Infolgedessen werden beim MHC-Klasse-I-Defekt die CD8⁺-T-Zellen und beim MHC-Klasse-II-Defekt die CD4⁺-T-Zellen vermindert aktiviert. Typische Laborbefunde sind eine CD8⁺- bzw. CD4⁺-T-Zell-Lymphopenie und eine Hypogammaglobulinämie. Patienten mit MHC-Klasse-I-Defekt fallen durch Infektionen der Atemwege und granulomatöse Hautläsionen auf. Das klinische Bild eines MHC-Klasse-II-Defekts ähnelt einem SCID, mit milderem Verlauf und späterer Manifestation. Die Patienten neigen zu rezidivierenden Infektionen der Atemwege und des Gastrointestinaltrakts, die im Verlauf zu einer Gedeihstörung führen können. Zudem wurden Autoimmunzytopenien beobachtet. Durch eine HSZT kann diese Erkrankung geheilt werden (Hanna and Etzioni, 2014).

2.6 Phagozytendefekte

Die Phagozytendefekte sind Defekte des angeborenen Immunsystems, die auf eine Störung der neutrophilen Granulozyten beruhen. Diese sind oft mit einer Störung der Makrophagen assoziiert. Dabei können die Bildung, Ausreifung und Funktion dieser Zellen betroffen sein und zu unterschiedlichen Erkrankungsbildern führen. Phagozyten (Neutrophile und Makrophagen) sind erforderlich, um Pathogene zu bekämpfen. Solche Defekte führen zu rezidivierenden bakteriellen und mykotischen Infektionen (Hoffmann et al., 2014b).

Im folgendem werden die septische Granulomatose, die schwere kongenitale Neutropenie und die Autoimmunneutropenie vorgestellt.

2.6.1 Septische Granulomatose

Die septische Granulomatose (Chronic Granulomatous Disease, CGD) ist ein erblicher seltener (ca. 1:250.000) Phagozytendefekt, mit dysfunktionalen neutrophilen Granulozyten (Van Den Berg et al., 2009). Ursächlich hierfür ist die fehlende Funktion der NADPH-Oxidase in phagozytierenden Zellen. Dadurch lassen sich phagozytierte Keime nicht abtöten. Folglich kommt es zu einer überschießenden Entzündungsreaktion mit Granulombildung. Es treten rezidivierende, abszedierende und granulomatöse bakterielle (u. a. *Staphylococcus aureus*) und mykotische Infektionen (u. a. *Aspergillus spp.*) auf. Dabei sind hauptsächlich die Lunge, Leber, Lymphknoten, Magen-Darm-Trakt sowie die Haut und Knochen betroffen. Am häufigsten treten Pneumonien auf, anderen Manifestationen sind Haut- und Leberabszesse sowie Oostomyelitiden (Van Den Berg et al., 2009, Hoffmann et al., 2014b, Chandesris et al., 2012). Laut Marciano et al. gehen vornehmlich invasive Pilzinfektionen mit erhöhter Morbidität und Mortalität einher (Marciano et al., 2015). Zudem kann es aufgrund einer Immundysregulation häufig zu chronisch entzündlichen Darmerkrankungen kommen. Um die Diagnose zu stellen, wird die Sauerstoffradikalbildung gemessen (Granulozytenfunktionstest) sowie ein molekulargenetischer Defekt nachgewiesen. Prophylaktisch werden Antibiotika und Antimykotika gegeben, aber auch Interferon-gamma zur Verminderung von Infektionen, wobei die einzige kurative Therapieoption die hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSZT) ist (Van Den Berg et al., 2009, Chiriaco et al., 2016).

2.6.2 Schwere kongenitale Neutropenie

Die schwere kongenitale Neutropenie ist eine seltene genetisch bedingte Erkrankung, die zu einer Agranulozytose führt. Bereits in den ersten Lebensmonate neigen die Kinder zu Fieber, rezidivierenden Infekten der oberen Atemwege, Otitiden, Abszesse sowie Entzündungen der Schleimhäute (u. a. Gingivitis). Zudem haben die Betroffenen ein erhöhtes Risiko an einer akuten myeloischen Leukämie (AML) und an ein myelodysplastisches Syndrom (MDS) zu erkranken. Es wurden Mutationen in verschiedenen Genen gefunden, u. a. im ELANE-Gen, welches für die Neutrophilen-Elastase kodiert. Folglich kommt zu einem Reifungsstopp der Granulozyten auf der Stufe der Promyelozyten und somit zu einer verminderten Anzahl der neutrophilen Granulozyten. Die Behandlung erfolgt durch die Gabe von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren, insbesondere Granulozyten-Kolonie-stimulierende Faktor (Granulocyte-Colony Stimulating Factor, G-CSF). Alternativ kann eine HSZT erwogen werden (Dale, 2017, Skokowa et al., 2017).

2.6.3 Autoimmunneutropenie

Die primäre Autoimmunneutropenie wird durch granulozytäre Autoantikörper gegen neutrophile Granulozyten verursacht, die zu einer anhaltenden Neutropenie im Kindesalter

führt. Die Erkrankung kann im Rahmen eines Immundefekts auftreten. Die Kinder fallen in den ersten Lebensmonaten durch rezidivierende bakterielle Infektionen auf. Dabei treten vor allem Atemwegsinfektionen, Otitis media und Infektionen der Haut auf. Die Erkrankung verläuft meist ohne schwere Infektionen. In 90% der Fälle kommt es zu einer spontanen Remission der Erkrankung bis zum vierten/fünften Lebensjahr (Wahn et al., 2005b, Farruggia and Dufour, 2015, Dale, 2017). Davon lässt sich die sekundäre Autoimmunneutropenie abgrenzen, die meist später bei bestehender Grunderkrankung auftritt und mit einem vermehrten Auftreten von Autoimmunerkrankungen assoziiert ist. In der Regel heilt diese Erkrankung nicht spontan aus (Farruggia and Dufour, 2015).

2.7 Weiterer Defekt des angeborenen Immunsystems

2.7.1 TLR3-Defekt

Der Toll-like-Rezeptor-3 (TLR3)-Defekt betrifft das angeborene Immunsystem. Toll-like-Rezeptoren dienen als Pattern Recognition Receptors (PRRs) zur Erkennung fremder Mikroorganismen. Dabei nimmt der TLR3 virale Ribonukleinsäure (RNA) wahr, unter anderem von *Herpes simplex Typ 1* (HSV-1). Bei Kindern mit einer TLR3-Defizienz wurde ein vermehrtes Vorkommen von HSV-Typ 1 Enzephalitis beobachtet (Lim et al., 2014, Mortaz et al., 2017).

2.8 Komplementdefekte

Die Komplementdefekte umfassen ca. 1-6% aller primären Immundefekte und können alle Komponenten des klassischen, alternativen und Mannose-bindenden-Lektin (MBL)-Weges treffen (Grumach and Kirschfink, 2014). Dabei können Komplementdefekte hereditär oder erworben sein. Der bekannteste Komplementdefekt ist der C1-Mangel, der ein hereditäres Angioödem verursacht. Defekte des Komplementsystems können unterschiedliche klinische Manifestationen aufweisen, unter anderem eine erhöhte Infektionsanfälligkeit gegen bakterielle Erreger, ein Angioödem, rheumatische Erkrankungen, Leukozyten-Adhäsionsdefekte und vermögen ein hämolytisch-urämisches Syndrom auszulösen. Im Vordergrund stehen vor allem bakterielle Infektionen (Skattum et al., 2011, Schroder-Braunstein and Kirschfink, 2019). Patienten mit einem C5-C8 Defekt haben eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber Meningokokkeninfektionen. Dabei ist das Risiko einer Erkrankung um das 1 000 bis 10 000-Fache erhöht (Grumach and Kirschfink, 2014). Ein C3-Defekt, führt ebenfalls zu rezidivierenden bakteriellen Infektionen, mit bekapselten Bakterien (u. a. *Pneumokokken*, *Haemophilus influenzae*), aber auch zu autoimmunologischen Erkrankungsbildern wie Glomerulonephritiden. Im Gegensatz dazu verursacht das Fehlen von Komponenten des klassischen Aktivierungsweg (C1, C4, C2) vermehrt rheumatische Erkrankungen, unter anderem ein systemischer Lupus erythematodes (SLE) und lupusähnliche Krankheitsbilder. Andere rheumatische bzw. Autoimmunerkrankungen wie

Purpura Schönlein-Henoch, Dermatomyositis, membranoproliferative Glomerulonephritis und Vaskulitis wurden bei unterschiedlichen Komplementdefekten beobachtet (Skattum et al., 2011, Grumach and Kirschfink, 2014, Schroder-Braunstein and Kirschfink, 2019). Die für die vorliegende Arbeit untersuchten Kinder wiesen vermehrt einen MBL-Mangel auf. Generell wird dessen Vorkommen in der Gesamtbevölkerung auf 5-30% geschätzt (Heitzeneder et al., 2012), sodass die Relevanz umstritten ist. Bei einer geringen MBL-Konzentration wurde eine erhöhte Suszeptibilität für bakterielle Atemwegserkrankungen und Meningokokkeninfektionen im Kleinkindalter beschrieben. Dabei wurden homozygote und heterozygote Mutationen im MBL2-Gen genannt, die zu einer unterschiedlichen Ausprägung eines MBL-Mangels geführt hatten. Außerdem ist ein MBL-Mangel vermehrt mit Autoimmunerkrankungen assoziiert und spielt vor allem beim SLE eine Rolle (Heitzeneder et al., 2012, Schroder-Braunstein and Kirschfink, 2019).

Diagnostisch soll beim Verdacht auf einen Komplementdefekt die totale hämolytische Funktion des klassischen Weges durch CH50 und des alternativen durch AP50 erfasst werden. Zusätzlich können die Parameter C3 und C4 bestimmt werden, die im Vergleich jedoch weniger aussagekräftig sind. Beim Verdacht auf ein hereditäres Angioödem wird die Konzentration des C1-Esterase-Inhibitors gemessen (Schroder-Braunstein and Kirschfink, 2019).

2.9 Autoinflammatorische Syndrome

Autoinflammatorische Syndrome sind durch Entzündungsreaktionen des Körpers charakterisiert. Sie lassen sich von Autoimmunerkrankungen unterscheiden, indem meistens weder Autoantikörper noch autoreaktive T-Zellen vorhanden sind. Die Betroffenen leiden unter Fieberepisoden unklarer Genese, ohne erkennbare Ursache (z. B.: Infektion, maligne Erkrankung), begleitet von Zeichen einer Autoinflammation und erhöhter Akute-Phase-Proteinen (C-reaktives Protein, Serum Amyloid A) im Laborbefund (Kastner et al., 2010, Sag et al., 2017). Pepper et al. beschrieben ebenfalls eine Erhöhung des Serum-Calprotectins (S100A8/A9) als Marker einer Autoinflammation bei Patienten mit familiärem Mittelmeerfieber (FMF) (Pepper et al., 2015). Die Fieberepisoden werden zum Teil von Hautausschlägen, abdominellen Beschwerden, Muskel- und Gelenkschmerzen, Manifestationen an den Schleimhäuten und weiteren Beschwerden je nach Erkrankung begleitet. Die häufigsten autoinflammatorischen Erkrankungen machen die periodischen Fiebersyndrome aus. Folgende Erkrankungen werden darunter zusammengefasst: das familiäre Mittelmeerfieber (FMF), das Cryopyrin-assoziierte periodische Syndrom (CAPS), das Hyper-IgD-Syndrom, das Tumornekrosefaktor-Rezeptor assoziierte periodische Fiebersyndrom (TRAPS), das Blau-Syndrom und das periodische Fieber mit aphtöser Stomatitis, Pharyngitis und zervikaler Lymphadenitis (PFAPA) (Wahn et al., 2005a, Kastner et al., 2010, Sag et al., 2017). Für die meisten autoinflammatorischen Erkrankungen wurden

molekulargenetische Ursachen im Sinne von Mutationen auf den betreffenden Genen gefunden (FMF, TRAPS, CAPS, Hyper-IgD-Syndrom), wodurch die Diagnosestellung bei klinischer Symptomatik bestätigt wird. Die Diagnose wird somit in Zusammenschau von klinischer Symptomatik und Mutationsanalyse gestellt (Marcuzzi et al., 2013). Die genaue Ätiologie bleibt jedoch für viele Erkrankungen weitgehend unklar (Sag et al., 2017). In dieser Arbeit werden das familiäre Mittelmeerfieber sowie das PFAPA genauer erläutert.

2.9.1 Familiäres Mittelmeerfieber

Das familiäre Mittelmeerfieber ist eine häufige monogene erbliche Erkrankung und kommt insbesondere bei Personen mediterraner Herkunft vor. Bei türkischer Herkunft liegt die Prävalenz zwischen 1:400 und 1:1.000 (Ben-Chetrit and Touitou, 2009). Die Erkrankung ist durch rezidivierendes Auftreten von Fieberattacken und Polyserositis (Peritonitis, Pleuritis, Synovitis) charakterisiert. Die Symptomatik setzt plötzlich ein und bildet sich innerhalb kurzer Zeit (in weniger als drei Tagen) selbstständig zurück. Die Attacken können durch Prodromi wie emotionalen Stress oder körperliche Aktivität ausgelöst werden. Zusätzlich zum Fieber treten Bauchschmerzen am häufigsten auf. Außerdem können Arthralgien, meist als Monoarthritis auftreten sowie Myalgien. Seltener sind Pleuritis, Perikarditis, Skrotalschwellung, sowie erysipelartige Erytheme (Sari et al., 2014, Berkun and Eisenstein, 2014, Alghamdi, 2017). Familiäres Mittelmeerfiebers wird anhand von Kriterienkatalogen, z. B. der Tel-Hashomer-Kriterien (siehe Methoden S. 48) klinisch diagnostiziert (Livneh et al., 1997). Es wird somit eine klinische Diagnose gestellt, welche durch den Mutationsnachweis des Mediterranean-Fever (MEFV)-Gens bestätigt wird. Das MEFV-Gen codiert das Protein Pyrin, dabei soll die Mutation unter anderem die antiinflammatorische Wirkung des Pyrins abschwächen. Die meisten Mutationen liegen homozygot vor, aber auch bei heterozygoten Formen, mit Mutationen auf einem Allel mit eindeutiger Klinik, kann ein FMF diagnostiziert werden. Letzteres ist bei 30% der Betroffenen der Fall (Booty et al., 2009, Berkun and Eisenstein, 2014). Unbehandelt kann diese Erkrankung zu schwerwiegender Komplikation, wie zu der Entwicklung einer Amyloidose führen. Das Serumamyloid-A wird dabei erfasst, um das Risiko abschätzen zu können. Die akuten Schübe werden mit einem nichtsteroidalen Antirheumatikum (NSAR) behandelt. Ansonsten wird mit täglicher Einnahme von Colchizin behandelt, um vor allem eine Amyloidose zu verhindern (Sari et al., 2014, Alghamdi, 2017).

2.9.2 PFAPA

Das PFAPA-Syndrom zählt zu den häufigsten periodischen Fiebersyndromen (Prävalenz: ca. 2,3:10.000 (Forsvoll et al., 2013)) und wurde erstmalig 1987 von Marshall et al. beschrieben (Gary S. Marshall, 1987). Die Erkrankung tritt typischerweise im Kleinkindalter vor dem fünften Lebensjahr auf und verläuft meistens selbstlimitierend. Eine genaue

Ätiologie ist nicht bekannt, eine genetische Ursache ist dabei jedoch unwahrscheinlich. Das PFAPA-Syndrom wird nach den modifizierten Marshall-Kriterien diagnostiziert. Die Erkrankung ist charakterisiert durch regelmäßig auftretende Fieberepisoden, jedoch ohne Infekte der oberen Atemwege und durch das Auftreten von Begleitsymptomen wie etwa eine aphtöse Stomatitis, Lymphadenitis oder Pharyngitis. Zwischen den Episoden tritt meist ein asymptomatisches Intervall auf. Zur Diagnosestellung sollen eine zyklische Neutropenie sowie andere genetische Fiebersyndrome ausgeschlossen werden (Gary S. Marshall, 1987, Manthiram et al., 2017, Batu, 2019). Die Symptome werden jedoch nicht strikt nach allen Kriterien zur Diagnosestellung eines PFAPA eingeteilt. In einer Studie von Manthiram et al. nach Expertenbefragungen, bestätigten mehr als 80% der Ärzte das Vorhandensein von Fieberattacken, eines asymptomatischen Intervalls zwischen den Episoden und normales Gedeihen für die Diagnose eines PFAPA. Dabei sollen 17% befürwortet haben, ein PFAPA zu diagnostizieren, wenn alle Kriterien erfüllt sind und 41% wenn das Kriterium der Altersbegrenzung weggelassen werde (Manthiram et al., 2017). Therapeutisch werden NSAR und Glukokortikoide bei akuten Schüben gegeben. Bei anhaltenden Schüben wird empfohlen, Colchizin zu verabreichen sowie eine Tonsillektomie durchzuführen. Bei rechtzeitiger Behandlung ist die Prognose meist gut und führt zur spontanen Ausheilung (Manthiram et al., 2017, Batu, 2019).

2.10 Immundefekte mit Immundysregulation

Immundefekte mit Immundysregulation umfassen ca. 6% aller Immundefekte (El-Helou et al., 2019) und sind u. a. mit dem Auftreten von Autoimmunität, Inflammation und Lymphoproliferation assoziiert. Verursacht werden diese durch eine Fehlregulation der Lymphozyten, wodurch sich eine Autoreaktivität entwickeln kann (Lehman, 2015). Generell treten häufig Autoimmunzytopenien, chronisch entzündliche Darmerkrankungen, Arthritis und Autoimmun-Endokrinopathien sowie Lymphoproliferation auf (Chandrakasan et al., 2019). Folgende Immundefekte mit Immundysregulation werden in dieser Arbeit erläutert: familiäre hämophagozytische Lymphohistiozytose (FHL), X-chromosomale Immundysregulation-Polyendocrinopathie- Enteropathie (IPEX), Hyper-IgE-Syndrom und X-linked-Inhibitor-of-Apoptosis-Protein (XIAP)-Defizienz.

2.10.1 Familiäre hämophagozytische Lymphohistiozytose

Die FHL ist eine erbliche hyperinflammatorische und lebensbedrohliche Erkrankung, die meist in den ersten Lebensjahren zu Symptomen führt. Die Prävalenz wird bei Kindern auf 1.07:100.000 geschätzt (Niece et al., 2010). Es kann zwischen einer primären bzw. familiären FHL mit zugrunde liegenden Gendefekten und einer sekundären Form (infektiöse, maligne, autoimmunologische und autoinflammatorische Trigger) unterschieden werden. Bislang wurden mehrere genetische Mutationen beschrieben in

Genen, die die zytotoxische Funktion der NK- und zytotoxischen-T-Zellen regulieren. Die Erkrankung wird durch eine unkontrollierte Proliferation von Lymphozyten verursacht, wodurch es zu einer starken Zytokinstimulation und somit zur Aktivierung von Makrophagen mit hoher phagozytischer Aktivität kommt. Initial ähnelt das klinische Erscheinungsbild an Infektionserkrankungen (u. a. Epstein-Barr-Virus (EBV)), malignen Erkrankungen oder autoinflammatorischen Erkrankungen. Die Kardinalsymptome umfassen protrahiertes Fieber, Hepatosplenomegalie und Zytopenien. Zusätzlich können neurologische Symptome auftreten. Labordiagnostisch fallen die Patienten durch eine Ferritinerhöhung, Hypertriglyceridämie, Hypofibrinogenämie, Transaminasenanstieg, Bilirubinerhöhung und erhöhten löslichen IL-2-Rezeptor auf. Um die Hyperinflammation zu kontrollieren, werden die Patienten initial mit Immunsuppressiva und Chemotherapeutika behandelt. Die einzige kurative Therapieoption ist eine HSZT (Janka and Lehmborg, 2014, Janka, 2012, Esteban et al., 2017).

2.10.2 Hyper-IgE-Syndrom

Das Hyper-IgE-Syndrom (HIES) ist eine seltene Multisystemerkrankung, charakterisiert durch eine Dermatitis mit hohem Serum-IgE, rezidivierende Staphylokokken-Abszesse der Haut und Pneumonien. Dabei lassen sich autosomal dominante und autosomal rezessive Formen des Hyper-IgE-Syndroms unterscheiden. Das autosomal dominante (AD) - HIES entsteht durch eine Mutation des STAT3-Gens, bei der autosomal rezessiven (AR) Form ist meist das DOCK8-Gen betroffen (Sowerwine et al., 2012, Al-Shaikhly and Ochs, 2019). Das AD-HIES wurde 1999 von Grimbacher et al. als Multisystemerkrankung beschrieben (Grimbacher et al., 1999). Dabei wurden Auffälligkeit in der Zahnentwicklung sowie eine Beteiligung des Skelettsystems beschrieben. Vermehrt war eine charakteristische Fazies ausgeprägt, es kam zu rezidivierenden pathologischen Frakturen und Skoliose. Es fielen ebenfalls Gefäßveränderungen auf, etwa eine Neigung zur Aneurysmabildung. Beim AD-HIES treten ebenfalls schwere rezidivierende Pneumonien die zu Pneumozelenbildung führen können und chronische mukokutane Candidiasis (CMC) auf (Grimbacher et al., 1999, Chandesris et al., 2012). Das AR-HIES wurde 2004 in einer Studie von Renner et al. aus sechs konsanguinen Familien beschrieben, die die Kriterien eines HIES erfüllten, aber sich vom vorherigen beschriebenen AD-HIES durch die erhöhte Anfälligkeit für virale Infektionen sowie das Fehlen einer skeletalen Beteiligung unterschieden (Renner et al., 2004). Das AR-HIES zeichnet sich durch rezidivierende Pilz- und virale Infektionen sowie einer neurologischen Beteiligung aus. Zusätzlich weisen diese Patienten Zeichen einer Atopie (Nahrungsmittelallergien, Asthma bronchiale) auf. Labordiagnostisch werden beim HIES eine erhöhte Konzentration des Immunglobulin-E und eine Eosinophilie nachgewiesen (Renner et al., 2004, Chandesris et al., 2012). Als Diagnosehilfe wurde ein Score-System

entwickelt, das die Diagnosestellung bei einer hohen Punktzahl erleichtern soll (Grimbacher et al., 1999). Die einzige kurative Therapie ist die HSZT (Aydin et al., 2019).

2.10.3 IPEX

Das IPEX-Syndrom entwickelt sich bei männlichen Säuglingen in den ersten Wochen oder Monaten nach der Geburt. Es ist ein sehr seltener Immundefekt, verursacht durch Mutationen im Forkhead-Box-P3 (FOXP3)-Gen, das die Entwicklung und Funktion der regulatorischen CD4⁺CD25⁺-T-Zellen steuert. Dies führt vermehrt zu Autoimmunerkrankungen. Gekennzeichnet ist das IPEX-Syndrom unter anderem durch eine Autoimmun-Enteropathie, die zu Diarrhöen, Malabsorption und Gedeihstörung führt. Endokrinologisch kommt ein insulinabhängiger Diabetes mellitus häufig vor, seltener eine Thyreoiditis. Außerdem leiden die Patienten unter Hautmanifestationen ähnlich einer atopischen Dermatitis und Psoriasis, begleitet von einer IgE-Erhöhung und Eosinophilie. Seltener treten ebenfalls andere Autoimmunerkrankungen wie eine hämolytische Anämie, Thrombozytopenie, Arthritis, Glomerulonephritis und Hepatitis auf (Barzaghi et al., 2012, Lehman, 2015, Bacchetta et al., 2018). Therapeutisch werden zur Symptomkontrolle Immunsuppressiva gegeben. Die einzige kurative Therapie ist eine HSZT (Gambineri et al., 2008, Bacchetta et al., 2018).

2.10.4 XIAP-Defizienz

Die XIAP-Defizienz ist ein seltener Immundefekt, auch unter der Bezeichnung X-chromosomales lymphoproliferatives Syndrom 2 (XLP-2) bekannt. Verursacht wird diese Erkrankung durch eine Mutation des XIAP-Gens. Die Betroffenen haben eine Suszeptibilität gegenüber EBV-Infektionen, die zur Entwicklung einer hämaphagozytischen Lymphohistiozytose (HLH) führen können. Zusätzlich kommt eine Splenomegalie bei den meisten Patienten vor. Bei einem Drittel der Patienten manifestiert sich eine chronisch-entzündliche Darmerkrankung, ähnlich Morbus Crohn. Außerdem kann es zu einer transienten Hypogammaglobulinämie, sowie zu anderen autoinflammatorischen Phänomenen wie Arthritis, Abszessen, Nephritis und Uveitis kommen. Bei Patienten mit einer HLH oder IBD sollte somit eine XIAP-Defizienz in Betracht gezogen werden. Die einzige kurative Behandlung besteht aus einer HSZT (Aguilar and Latour, 2015).

2.11 Syndrome mit Knochenmarkversagen

Syndrome die zu einem Knochenmarkversagen (KM-Versagen) führen, können eine Immundefizienz verursachen. Drei in dieser Arbeit vorkommende Syndrome mit Knochenmarkversagen werden hier erläutert: MECOM-Mutation, Myelodysplastisches Syndrom mit GATA-binding Protein 2 (GATA2) -Defizienz und Fanconi Anämie. In der Studie von Germeshausen et al. hatten alle untersuchten Patienten mit MDS1- und EVI1-Complex-Locus-Protein EVI1 (MECOM)-Mutation (n=12) eine Thrombozytopenie und die

meisten entwickelten ein Knochenmarkversagen mit Panzytopenie und B-Zell-Defizienz. Folglich zeigten Patienten rezidivierende bakterielle Infektionen. Zusätzlich treten bei dieser Erkrankung radioulnare Synostosen, Herzfehler, Nierenfehlbildungen und Hörverlust auf (Germeshausen et al., 2018). Die GATA2-Defizienz führt ebenfalls zu Knochenmarkversagen und Immundefizienz. In einer Studie von Spinner et al. wiesen 80% der Patienten eine verringerte Anzahl an B-Zellen, NK Zellen und eine Monozytopenie auf, die zu rezidivierenden viralen Infektionen prädisponierten. Es wurde vor allem eine erhöhte Anfälligkeit für humane Papillomviren (HPV)-Infektionen und Infektionen mit atypischen Mykobakterien beobachtet. Außerdem litten viele Betroffene unter Lymphödemen, Warzen und Alveolarproteinose, wobei letzteres lebensbedrohlich sein kann (Spinner et al., 2014). Des Weiteren besteht eine Prädisposition für die Entwicklung eines myelodysplastischen Syndroms (MDS), Akute lymphatische Leukämie (ALL) und des Emberger-Syndroms (MDS mit Lymphödeme). Als Therapie erfolgt eine HSZT (Spinner et al., 2014, McCreynolds et al., 2018). Letztendlich geht die Fanconi-Anämie ebenfalls mit einem Knochenmarkversagen sowie einer Prädisposition für maligne Erkrankungen und Immundefizienz einher. In der Studie Myers et al. zeigte die Mehrzahl der Patienten eine geringere Anzahl an B-Zellen, NK Zellen und CD4⁺-T-Zellen, als gesunde Kontrollpersonen sowie eine erhöhte Anfälligkeit für HPV-Infektionen. Therapeutisch erfolgt ebenfalls eine Stammzelltransplantation (Myers et al., 2011).

2.12 Early-Onset-IBD

Die Diagnose einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung (CED, Inflammatory Bowel Disease, IBD) im Kleinkindalter kann mit einer Immundefizienz assoziiert sein. Zu den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen zählen Morbus Crohn, Colitis ulcerosa und unklare CED, wobei die Prävalenz von Morbus Crohn im pädiatrischen Alter höher ist. Die klassische CED manifestiert sich durch krampfartige Bauchschmerzen und blutige Diarrhöen. Bei einem schweren Verlauf der Erkrankung können Komplikationen wie eine Perforation bis hin zum toxischen Megakolon auftreten (Kelsen and Sullivan, 2017). Beim Auftreten einer CED im Kleinkindalter, einem atypischen Erkrankungsbild (Lokalisation, Histologie), einem schweren therapieresistenten Verlauf, Gedeihstörung, positive Familienanamnese, Auftreten weiterer Autoimmunerkrankungen, rezidivierenden Infektionen (u. a. perianalen Abszessen) und hohen Calprotectin Werten im Stuhl sollte an eine Assoziation mit einem Immundefekt gedacht werden (Uhlig et al., 2014). Viele monogenetische Erkrankungen, darunter 50 bekannte Gendefekte, die mit Immundefekten assoziiert sind, können zur Entwicklung einer CED führen, darunter IL-10-Defizienz, XIAP-Defizienz, IPEX-Syndrom und septische Granulomatose (Uhlig et al., 2014, Hartono et al., 2019).

2.13 Klinische Diagnostik von Immundefekten

Die verschiedenen Immundefekte zeigen eine Vielzahl möglicher Symptome. Dies führt zu einer großen Herausforderung, Immundefekte richtig zu diagnostizieren. Außerdem ist in vielen Fällen die klinische Symptomatik von Immundefekten nicht eindeutig auf einen Immundefekt zurückzuführen. Die Symptome sind relativ unspezifisch und treten bei einer Anzahl anderer häufiger vorkommender Erkrankungen auf (Infektionen, Autoimmunerkrankungen, chronische Erkrankungen) (Wahn, 2000b, Jyothi et al., 2013, Baumann, 2017). Bei Immundefekten ist die pathologische Infektionsanfälligkeit das Leitsymptom, wobei sich die Differenzierung gegenüber der physiologischen Infektionsanfälligkeit im Kleinkindalter als schwierig gestaltet (Wahn, 2000b). Kinder verlieren innerhalb des ersten Lebensjahres ihre mütterliche Leihimmunität, wodurch es aufgrund des unreifen Immunsystems zu einer gesteigerten physiologischen Infektionsneigung kommt (Jyothi et al., 2013).

Wahn erstellte Kriterien welche zwischen einer physiologischen und pathologischen Infektionsanfälligkeit differenzieren sollen. Als pathologische Infektionsneigung gelten Infektionen mit schwerem Verlauf, Folgeschäden, opportunistischen Erregern, sowie rezidivierende Infektionen (Wahn, 2000b). Aufgrund der niedrigen Prävalenz der Immundefekte liegt bei Kindern mit einer Infektionsneigung, in den meisten Fällen ein normales Immunsystem vor. Dennoch ist es bedeutsam, Kindern mit vorhandenem Immundefekt zu erkennen und frühzeitig zu therapieren. Oftmals werden Immundefekte zu spät diagnostiziert (Gathmann et al., 2013, Jyothi et al., 2013). Die frühzeitige Diagnostik angeborener Immundefekte ist jedoch ausschlaggebend für die Prognose der Patienten, da zahlreiche schwere Immundefekte ohne rechtzeitige Therapie zu lebensbedrohlichen Komplikationen führen können (De Vries and Driessen, 2011). Bei anderen Immundefekten u. a. bei einem CVID, können bei verspäteter Diagnosestellung bereits Organschäden wie Bronchiektasen vorliegen (Jesenak et al., 2014). Indem die Therapie (Immunglobulinsubstitution, HSZT) rechtzeitig eingeleitet wird, sollen die Morbidität und Mortalität der betroffenen Patienten reduziert werden (Mccusker et al., 2018, Castagnoli et al., 2019). Bei schweren Immundefekten ist eine HSZT die einzige kurative Therapie, welche eine hohe Überlebensrate von über 90% aufweist (Slatter and Gennery, 2018).

Um die Diagnoserate eines primären Immundefekts zu erhöhen, wurden in den 90er Jahren von der US-amerikanischen Jeffrey Modell Foundation (JMF) Warnzeichen erstellt, die dazu verhelfen sollen, einen Immundefekt rasch zu diagnostizieren. Die weltweit verbreiteten zehn Warnzeichen sollen zudem auf die Erkrankung aufmerksam machen. Die JMF-Warnzeichen konzentrieren sich auf die Infektionsanfälligkeit bei Kindern mit Immundefekten (Jeffrey Modell Foundation, 2016). Von Wahn et al. wurden im Jahr 2000 die deutschen Warnzeichen für Immundefekte überarbeitet und auf zwölf Warnzeichen

erweitert. Es wurden „chronische Graft-versus-Host-Reaktion“ und „rezidivierende Infektionen mit atypischen Mykobakterien“ hinzugefügt (Wahn, 2000a).

Die deutschen zwölf Warnzeichen für Immundefekte (von der JMF erstellt und durch Wahn ergänzt) sind folgende: (Wahn, 2000a)

1. „Auftreten von Immundefekten in der Familie
2. Acht oder mehr eitrige Mittelohrentzündungen pro Jahr
3. Zwei oder mehr schwere Nasennebenhöhlenentzündungen pro Jahr
4. Zwei oder mehr Lungenentzündungen innerhalb eines Jahres
5. Antibiotikatherapie über zwei oder mehr Monate ohne Effekt
6. Impfkomplicationen bei Schluckimpfung gegen Kinderlähmung oder Neugeborenenimpfung gegen Tuberkulose
7. Gedeihstörung im Säuglingsalter, mit oder ohne chronische Durchfälle
8. Eiteransammlung tief unter der Haut oder in inneren Organen
9. Zwei oder mehr Infektionen der inneren Organe pro Jahr (u. a. Hirnhautentzündung, Knochenmarkentzündung, Blutvergiftung)
10. Hartnäckige Pilzinfektionen (Candida) an Haut und Schleimhaut (besonders auf der Mundschleimhaut) nach dem ersten Lebensjahr
11. Bei Säuglingen: unklare chronische Rötung am ganzen Körper, insbesondere an Handflächen und Fußsohlen (Graft-versus-Host-Reaktion)
12. Wiederkehrende, ausgedehnte Infektionen des Organismus mit sog. „atypischen Mykobakterien“

Durch die JMF-Warnzeichen werden vor allem Immundefekte mit rezidivierenden Infektionen erfasst (vornehmlich Antikörperdefekte). Immundefekte, die durch Autoimmunität auffallen, etwa das IPEX-Syndrom, oder durch Autoinflammation wie die periodischen Fiebersyndrome (familiäres Mittelmeerfieber, PFAPA) und eine Reihe weiterer Immundefekte, bleiben durch die Jeffrey-Modell Kriterien weitgehend unerkannt (Arkwright and Gennery, 2011, O'sullivan and Cant, 2012). Mehrere Studien wiesen somit eine unzureichende Sensitivität der Jeffrey-Modell Warnzeichen nach (Macginnitie et al., 2011, Lankisch et al., 2015, Bjelac et al., 2019). Eine amerikanische Studie untersuchte 141 Kinder mit Verdacht auf einen Immundefekt, auf das Vorhandensein eines PID, wodurch bei 23% der Patienten ein PID diagnostiziert wurde. Es ergaben sich für die Jeffrey Modell Warnzeichen eine Sensitivität von 63% und eine Spezifität von 23%, wodurch ein Drittel der Kinder nicht richtig diagnostiziert wurden (Macginnitie et al., 2011). Eine weitere amerikanische Studie evaluierte in einem Kollektiv von 137 Kindern und 400 Erwachsenen die Jeffrey Modell Warnzeichen. Diese zeigten eine Sensitivität von 64% bei Kindern und 45% bei Erwachsenen. Dabei wurde wiederum ungefähr ein Drittel der Kinder mit einem

Immundefekt nicht erkannt. Jedoch stieg die Diagnose eines Immundefekts bei Kindern an, wenn zusätzlich Autoimmunität erhoben wurde, sodass empfohlen wurde die Warnzeichen zu erweitern (Bjelac et al., 2019). Für bestimmte Immundefekte schienen die JMF-Warnzeichen eine bessere Sensitivität aufzuzeigen (Subbarayan et al., 2011). In einer britischen Studie von Subbarayan et al. wurden 430 Kinder mit PID untersucht. Dabei wurden mindestens 89% der Kinder mit neutrophilem Defekt, Komplementdefekt und T-Zell-Defekt anhand folgender drei Warnzeichen identifiziert: positive Familienanamnese für Immundefekte, i. v. (intravenöse) Antibiotika und Gedeihstörung. Das Auftreten einer positiven Familienanamnese soll aufgrund der hohen Rate an Konsanguinität bei Familien aus dem Nahen Osten, Nordafrika und Asien häufig zu einem Immundefekt führen (Subbarayan et al., 2011).

In den letzten Jahren wurde deutlich, dass die Jeffrey Modell Warnzeichen zur Immundefekt-Diagnostik nicht ausreichend sind. Das klinische Erscheinungsbild von Immundefekten ist wesentlich umfangreicher als das Vorhandensein von alleiniger Infektionsanfälligkeit. Die heutzutage über 300 bekannten Immundefekte weisen außer Infektionsanfälligkeit auch Autoimmunität, Autoinflammation, syndromale sowie maligne Erkrankungen auf. Somit wurden die Warnzeichen erweitert, um die Diversität und Komplexität der Immundefekte besser zu diagnostizieren (Arkwright and Gennery, 2011, O'sullivan and Cant, 2012, Farmand et al., 2017). Im Jahr 2011 wurde eine konsensbasierte S2k-Leitlinie zur Diagnostik von Immundefekten durch die Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF) erstellt und im Jahr 2017 aktualisiert. Diese beinhaltet eine erweiterte Erfassung einer pathologischen Infektionsanfälligkeit, da allein die Erfassung der Häufigkeit von Infektionen nicht ausreichend ist. Unter dem Akronym „ELVIS“ wurden pathologische Infektionen anhand ihres Erregers, der Lokalisation, ihres Verlaufs, der Intensität und ihrer Summe zusammengefasst: nach (Farmand et al., 2017)

- **Erreger:** Infektionen mit opportunistischen Erregern (u. a. *Pneumocystis jirovecii*), die bei normalen Personen keine Infektion verursachen würden oder rezidivierende schwere Infektionen mit normalen Erregern
- **Lokalisation:** polytope Infektionen (systemische Auswirkung) oder atypische Lokalisation von Infektionen
- **Verlauf:** chronische oder rezidivierende Infektionen, sowie ein nicht ausreichendes Ansprechen auf eine antibiotische Therapie

- **Intensität:** bezeichnet den Schweregrad der Infektionen, Unterscheidung zwischen Majorinfektionen (u. a. Pneumonie, Osteomyelitis) und Minorinfektionen (u. a. Otitis media, oberflächliche Hautabszesse)
- **Summe:** Anzahl der Infektionen/Jahr, eine exakte Grenze zur Definition einer pathologischen Anzahl ist nicht möglich. Es gilt: ≥ 8 Minorinfektionen/Jahr, ≥ 2 Majorinfektionen/Jahr

Des Weiteren wurden vor allem Aspekte, die eine Immundysregulation erfassen hinzugefügt, da Störungen der Immunabwehr, auch Mechanismen der Toleranz beeinträchtigen können. Eine französische Studie wies bei 26% der Patienten mit Immundefekten eine Autoimmun- oder inflammatorische Erkrankung nach (Fischer et al., 2017). Die Autoimmunität und Autoinflammation wurden unter dem Akronym „GARFIELD“ erfasst. Darunter aufgeführt werden „Granulome, Autoimmunität, Rezidivierendes Fieber, ungewöhnliche Ekzeme, Lymphoproliferation, chronische Darmentzündung“ (Farmand et al., 2017, S.17). Oftmals können die genannten Kriterien der einzige Hinweis auf einen Immundefekt sein, ohne mit einer Infektionsanfälligkeit einherzugehen (Arkwright et al., 2002, Farmand et al., 2017). Außerdem vermögen syndromale Erkrankungen oder das vermehrte Auftreten maligner Erkrankungen ebenfalls auf einen Immundefekt hinzuweisen. Wird eines dieser Kriterien erfüllt, soll nach Ausschluss anderer Ursachen der Verdacht auf einen Immundefekt gestellt werden. Anhand weiterführender Labordiagnostik soll dieser Verdacht eruiert werden (Farmand et al., 2017). Folgende Warnzeichen (Tab. 1) wurden anhand der Leitsymptome für Immundefekte erstellt: (Farmand et al., 2017)

Tabelle 1: Warnzeichen anhand der Leitsymptome für Immundefekte (Farmand et al., 2017)

| Kernempfehlung 5: Warnzeichen sind hilfreich bei der Identifizierung von Patienten mit primärem Immundefekt. Bei V.a. primären Immundefekt sollen alle Warnzeichen überprüft werden. | | |
|---|---|-------------------------------------|
| | Kinder | Erwachsene |
| 1. | Pathologische Infektionsanfälligkeit „ ELVIS “ Erreger, Lokalisation, Verlauf, Intensität, Summe | |
| 2. | Immundysregulation „ GARFIELD “ Granulome, Autoimmunität, Rezidivierende Fieber, ungewöhnliche Ekzeme, Lymphoproliferation, chronische Darmentzündung | |
| 3. | Gedeihstörung | Gewichtsverlust, meist mit Diarrhoe |
| 4. | Auffällige Familienanamnese (Konsanguinität, Immundefekt, pathologische Infektionsanfälligkeit, Immundysregulation, Lymphome) | |
| 5. | Hypogammaglobulinämie, anhaltende oder rezidivierende Lymphopenie, Neutropenie, Thrombozytopenie | |
| 6. | Ein genetischer Hinweis auf einen primären Immundefekt oder ein positives Neugeborenen-Screening auf primäre Immundefekte | |

Diese Warnzeichen wurden zur Diagnostik von Immundefekten bislang nicht ausreichend evaluiert. Bisher beschäftigte sich lediglich eine Studie mit der klinischen Diagnostik von Immundefekten anhand der Warnzeichen der Deutschen Selbsthilfe angeborene Immundefekte e.V. (DSAI) und der AWMF-Leitlinie (Lankisch et al., 2015). Eine pädiatrische Immundefektambulanz in Deutschland untersuchte dafür in einer prospektiven Studie mit 210 Patienten die Sensitivität und Spezifität der Warnzeichen der JMF, der erweiterten deutschen Warnzeichen der DSAI und der Warnzeichen der AWMF-Leitlinie. Die JMF-Warnzeichen zeigten die niedrigste Sensitivität mit 33%, gefolgt von den DSAI-Kriterien mit 47%, während die AWMF-Kriterien eine höhere Diagnoserate mit einer Sensitivität von 69% erreichten. Dabei wiesen die JMF-Warnzeichen die höchste Spezifität mit 79% auf, gefolgt von den DSAI-Kriterien mit 64%, während die Spezifität der AWMF-Kriterien mit 37% ungenügend war. Anhand dieser Warnzeichen wurde eine Kombination von Warnzeichen mit dem höchsten Youden-Index entwickelt, indem Warnzeichen mit bestmöglicher Sensitivität und Spezifität ausgewählt wurden: ≥ 8 Otitis media/Jahr, ≥ 2 Pneumonien/Jahr, Lymphopenie und Gedeihstörung. Diese zeigten eine Sensitivität von 56% und Spezifität von 76%. Zusätzlich wurde eine Kombination von Warnzeichen mit höchstem negativ prädiktivem Wert (Negative Predictive Value, NPV) erstellt: Gedeihstörung, rezidivierende Abszesse, Gabe von i. v. Antibiotika, Lymphopenie, Hypogammaglobulinämie. Die Sensitivität betrug 75% und die Spezifität 51%. Dabei lag der NPV beider Warnzeichensets 3-6% über den NPV der AWMF-, JMF-, und DSAI-Kriterien und soll somit zu einer besseren Diagnosestellung und Kosteneinsparung durch weniger unnötige Diagnostik beitragen (Lankisch et al., 2015). In der vorliegenden Arbeit sollen die Warnzeichen der DSAI, der AWMF-Leitlinie, sowie die Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem Youden-Index und maximalem NPV bei Kindern mit dem Verdacht auf einen Immundefekt evaluiert werden.

2.14 Immunologische Diagnostik

Es erfolgt eine immunologische Abklärung bei klinischem Verdacht auf einen Immundefekt. Die Basisdiagnostik umfasst ein Differenzialblutbild, ebenso werden Immunglobulin-Konzentrationen (IgG, IgM, IgA, IgE) bestimmt und dabei die altersabhängigen Referenzwerte berücksichtigt (De Vries, 2006, Farmand et al., 2017). Eine Abweichung der Granulozyten, Lymphozyten oder Thrombozyten kann auf einen Immundefekt hindeuten und sollen weiter abgeklärt werden (Yarmohammadi et al., 2006, Farmand et al., 2017). Eine Verminderung der Immunglobuline kann auf einen humoralen Immundefekt hinweisen (Wood et al., 2007). Dabei muss beachtet werden, dass Immunglobuline sich erst nach dem zehnten Lebensmonat verlässlich bestimmen lassen. Davor können transplazentär übertragene mütterliche Antikörper die Untersuchung verfälschen. Zudem ist aufgrund der

Unreife der Produktion in den ersten Lebensjahren ein IgA-Mangel erst ab dem 4. Lebensjahr diagnostizierbar (Uffelman et al., 1970). Auch eine Erhöhung der Immunglobuline kann ein Anzeichen eines Immundefekts sein, bedeutsam ist vor allem ein erhöhtes IgE (u. a. Hyper-IgE-Syndrom, IPEX-Syndrom) (Gambineri et al., 2008, Chandesris et al., 2012).

Zusätzlich ist die Bestimmung der Lymphozytensubpopulationen ein wesentlicher Bestandteil der Diagnostik. Ist die Lymphozytenpopulation verringert, weist dies auf die Art und Schwere des zugrunde liegenden Immundefekts (z. B.: SCID, XLA) hin. Zur weiteren Diagnostik gehört, den klassischen Komplementweg (CH50) und den alternativen Weg (AP50) zur Untersuchung von Komplementdefekte, die Impfantikörper und die IgG-Subklassen zu bestimmen. Dennoch können anhand der genannten Diagnostik nicht alle Immundefekte identifiziert werden. Beim klinischen Verdacht auf einen primären Immundefekt sollten weitere spezifische immunologische Untersuchungen durchgeführt werden. Da bei vielen Immundefekten ein monogenetischer Defekt zugrunde liegt, kann auch eine molekulargenetische Diagnosesicherung bedeutsam sein (Hoffmann et al., 2014a, Farmand et al., 2017).

In der vorliegenden Arbeit soll eruiert werden, welche Laborwerte je nach Art des Immundefekts verändert sind.

2.15 Diagnostischer Test

Ein diagnostischer Test wird durchgeführt, um die Güte einer Methode zur Diagnose einer bestimmten Krankheit zu evaluieren. Der Test entscheidet anhand definierter Parameter, ob eine Person an einer bestimmten Krankheit erkrankt ist. Ein positives Testergebnis spricht dabei für das Vorhandensein einer Erkrankung. Ein idealer diagnostischer Test würde bei einem positiven Testergebnis alle Erkrankten erkennen und bei einem negativen Testergebnis alle Gesunden. Dies ist jedoch nur selten der Fall. Die Güte des Tests hängt vielmehr von der Situation und Erkrankung ab.

Die Sensitivität und Spezifität eines diagnostischen Tests dienen dazu eine richtige Vorhersage eines Tests zu ermitteln. Dabei ist eine hohe Sensitivität erwünscht, um schwere aber behandelbare Krankheiten zu erkennen (Kommission Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin, 2008).

- **Die Sensitivität** gibt Auskunft über den Anteil der erkrankten Personen, die durch den Test korrekt als solche erkannt werden (= richtig positiv).
- **Die Spezifität** gibt Auskunft über den Anteil der gesunden Personen, welche durch den Test korrekt als nicht erkrankte erkannt werden (=richtig negativ) (Smith, 2012a).

Die Sensitivität und Spezifität können die Erkrankungswahrscheinlichkeit eines positiven bzw. negativen Tests nicht voraussagen, dazu dienen die prädiktiven Werte. Sie evaluieren somit das Testergebnis (Smith, 2012a).

- Der **positive prädiktive Wert** (Positive Predictive Value, PPV) definiert den Anteil der tatsächlich erkrankten Personen bei einem positiven Testergebnis. Der PPV hängt von der Prävalenz einer Krankheit ab. Somit ist bei einer häufig vorkommenden Erkrankung die Wahrscheinlichkeit betroffen zu sein höher als bei einer seltenen Krankheit.
- Der **negative prädiktive Wert** (NPV) definiert den Anteil der tatsächlich gesunden Personen bei einem negativen Testergebnis. Der NPV ist ebenfalls von der Prävalenz abhängig. (Smith, 2012b)

Bei den prädiktiven Werten muss berücksichtigt werden, dass diese von der Prävalenz sowie der getesteten Kohorte abhängen. Das Ergebnis eines vorselektierten Patientenkollektivs kann somit nicht auf die Gesamtpopulation übertragen werden. Außerdem ist in einem Kollektiv mit einer hohen Prävalenz der Erkrankung ein positives Testergebnis (bei hoher Spezifität) verlässlicher als in einem Kollektiv mit einer niedrigen Prävalenz. Bei abnehmender Prävalenz sinkt der PPV, während der NPV größer wird, da weniger Personen erkrankt sind und somit die Rate an falsch-positiven steigt. Somit kann der PPV bei einer niedrigen Prävalenz keinen hohen Wert annehmen (Scott et al., 2008). Beispielsweise würde ein HIV-Test mit einer Sensitivität von 82% und Spezifität von 98% bei einer Prävalenz von 10% einen PPV von 88% erreichen, während bei einer Prävalenz von 0,044% der PPV einen Wert von 3% erreichen würde (Shapiro, 1999).

In der vorliegenden Arbeit dient der diagnostische Test dazu, die vier Warnzeichen-Sets zu evaluieren.

3 Einleitung Teil 2

3.1 T-Zell-Rezeptor-Repertoire

3.1.1 T-Zell-Rezeptor

Der T-Zell-Rezeptor (TZR) befindet sich auf der Oberfläche von T-Zellen und dient dazu, Antigene zu erkennen, die in Form von Peptidfragmenten auf der Oberfläche antigenpräsentierender Zellen von Histokompatibilitäts-Molekülen (Major

Histocompatibility, MHC) präsentiert werden. Es ist ein heterodimerer membrangebundener Rezeptor, der extrazellulär aus zwei Transmembranglykoproteinketten, der α - und β -Kette (seltener aus einer γ - und δ -Kette) besteht, die über Disulfidbrücken verbunden sind (Abb. 1). Die Ketten durchspannen die Plasmamembran und enden in einem cytoplasmatischen Endstück.

Die Ketten bestehen aus einer konstanten Region (C-Region), die den Rezeptorkomplex in der Zellmembran verankert, sowie einer variablen Region (V-Region), die die Antigen-Spezifität trägt. Die variable Domäne enthält

eine hypervariable Region, welche die Bindungsstelle für das Epitop bildet. Diese Abschnitte werden als komplementaritätsbestimmende Regionen (Complementarity-Determining Region, CDR) bezeichnet (Murphy and Weaver, 2018a). Insgesamt gibt es drei CDRs (CDR1, CDR2, CDR3), davon ist die dritte hypervariable Region (CDR3-Region) der β -Kette des T-Zell-Rezeptors diejenige, die für die Antigenerkennung entscheidend ist und der Variabilität dient. Die Diversität der CDR3-Region entsteht durch zufällige somatische Rekombination der Gensegmente Variable (V), Diversity (D), Junction (J). Die zwei weiteren hypervariablen Regionen CDR1 und CDR2 werden durch V-Gensegmenten kodiert und sind somit weniger variabel (Murphy and Weaver, 2018a, Murphy and Weaver, 2018d).

Die Antigenerkennung der T-Zellen erfolgt durch Bindung zwischen dem TZR und antigenbeladenem MHC-Molekül, welches durch antigenpräsentierende Zellen (u. a. dendritische Zellen) präsentiert wird. Dabei wird zwischen MHC-Klasse-I und -Klasse-II-Moleküle unterschieden. MHC-Klasse-I-Moleküle befinden sich auf beinahe allen kernhaltigen Zellen. Sie präsentieren endogene Peptide nach proteasomalen Abbau an CD8⁺-T-zytotoxische-Zellen, wodurch virusinfizierte und entartete Zellen erkannt werden.

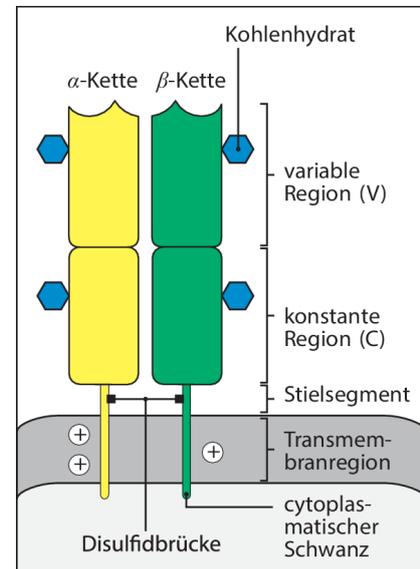


Abbildung 1: Struktur des T-Zell-Rezeptors

Der TZR setzt sich aus einer α - und einer β -Kette zusammen. Diese bestehen aus einer konstanten und einer variablen Region. Modifiziert nach: (Murphy and Weaver, 2018b)

MHC-Klasse-II-Moleküle befinden sich auf der Oberfläche von antigenpräsentierenden Zellen (u. a. dendritische Zellen, Makrophagen, B-Zellen). Sie dienen der Präsentation phagozytierter extrazellulärer Antigene (v. a. von Bakterien, Pilze, Parasiten) an CD4⁺-T-Helferzellen (Murphy and Weaver, 2018a).

Die Bindung eines passenden Antigens an den TZR führt zur Einleitung einer Signaltransduktionskaskade. Die Signalübertragung in das Zellinnere erfolgt gemeinsam mit dem Cluster-of-Differentiation 3 (CD3)-Proteinkomplex. Er setzt sich aus vier Untereinheiten zusammen: CD3- γ , - δ , - ϵ , - ζ (Abb. 2). Dieser Proteinkomplex bildet einen Komplex mit dem TZR und leitet die Signalkaskade über Tyrosin-Kinasen ins Zellinnere weiter. Des Weiteren induziert das CD3-Molekül die Expression des TZR auf der Zelloberfläche (Murphy and Weaver, 2018f).

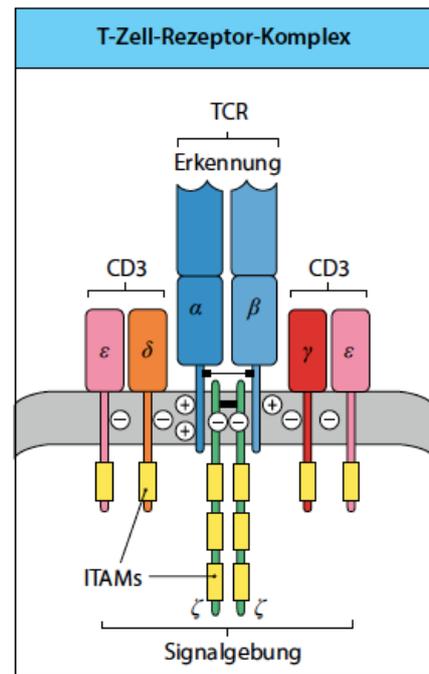


Abbildung 2: T-Zell-Rezeptor-Komplex

Der CD3-Proteinkomplex besteht aus vier Untereinheiten: γ , - δ , - ϵ , - ζ , die zusammen mit dem TZR die Signaltransduktion einleiten. Modifiziert nach: (Murphy and Weaver, 2018e)

3.1.2 Somatische Rekombination des T-Zell-Rezeptors

Der Prozess der somatischen Rekombination findet im Thymus statt. Innerhalb des TZR kommt es zu komplexen Umlagerungsmechanismen, die eine nahezu unbegrenzte Anzahl an Rezeptoren hervorbringen. Die Diversität der β -Kette des antigen-spezifischen TZR entsteht durch zufällige somatische Rekombination der V-D-J- und Constant (C) Gensegmente (Abb. 3), die gemeinsam die CDR3-Region bilden. Die β -Kette des TZR umfasst 52 variable Gensegmente (zusammengefasst zu 26 Familien), zwei D-Regionen, gefolgt von einem Segment der 13 J β -Gene. Am Ende befindet sich ein C-Segment, das konstant bleibt. Die Diversität des TZR wird durch Addition oder Deletion von P- bzw. N-Nukleotiden zwischen den V-, D-, J-Segmenten erweitert. Als P- Nukleotide werden palindromische Sequenzen bezeichnet, die am Ende der V-, D-, J-Gensegmente hinzugefügt werden. Durch das Enzym Terminale-Desoxynukleotidyltransferase (TDT) werden zufällige nicht genomisch kodierende N-Nukleotide eingefügt. Das Einfügen von Nukleotiden bewirkt eine Variation der Längen der CDR3-Region, wodurch TZR-Repertoire mit ungefähr 10^{18} Kombinationen entsteht. Dies führt zu einer großen Bandbreite an unterschiedlichen T-Zell-Rezeptoren, die dazu dienen ein großes Spektrum an Antigenen zu erkennen (Wong et al., 2017, Murphy and Weaver, 2018d).

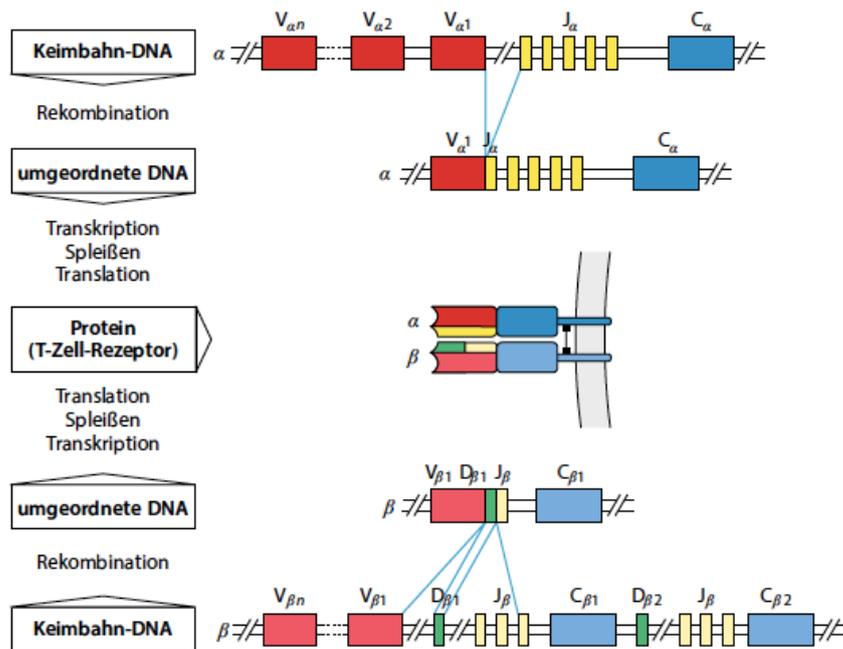


Abbildung 3: Somatische Rekombination des TZR

Die Gene der α - und β -Kette werden im Rahmen der somatischen Rekombination zusammengeführt. Hierbei werden für die variable Region der α -Kette ein V- und J- Gensegment bzw. für die β -Kette ein V-, D- und J- Gensegment zu einem Exon rekombiniert. Nach Transkription, Spleißen und Verknüpfung mit der C-Region entsteht die messenger-RNA, die zum α - bzw. β -Protein translatiert wird. Zusammen bilden die α - und β -Kette den T-Zell-Rezeptor. Modifiziert nach (Murphy and Weaver, 2018c)

3.1.3 CDR3- Spectratyping

Das CDR3-Spectratyping wurde in den 90er-Jahren beschrieben und bleibt die meistverwendete Methode, um die Diversität des T-Zell-Rezeptor-Repertoires zu analysieren (Gorski et al., 1994, Pannetier et al., 1995). Alternativ kann die Durchflusszytometrie mit $V\beta$ -spezifischen Antikörpern angewandt werden, um das TZR-Repertoire zu analysieren. Eine weitere Methode bestünde darin, die $V\beta$ -Ketten zu mittels Next Generation Sequencing (NGS) zu sequenzieren (Laydon et al., 2015).

Diese Arbeit beschränkt sich auf das CDR3-Spectratyping. Hierfür wird die CDR3-Region der β -Kette des TZR mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) amplifiziert, anschließend erfolgt die Fragmentgrößenanalyse anhand einer Kapillar-Elektrophorese. Diese Methode beruht auf der natürlichen Längenvariation der CDR3-Region, der als Marker für die Analyse des TZR-Repertoires dient (Gorski et al., 1994, Pannetier et al., 1995).

Um alle 26 existierenden $V\beta$ -Familien zu amplifizieren, wird ein spezifischer $V\beta$ -Primer zusammen mit $J\beta$ -Primern verwendet. Es entstehen unterschiedliche CDR3-Fragmente, die sich in ihrer Länge unterscheiden.

In einer normalen T-Zell-Population eines Gesunden werden alle $V\beta$ -Ketten zu ähnlichen Anteilen verwendet und die einzelnen T-Zell-Rezeptoren enthalten unterschiedliche CDR3-Längen. Das Repertoire erscheint als polyklonal und weist eine Gauß'sche Normalverteilung auf, definiert durch „[...] sechs bis acht Peaks im Abstand von drei Basen getrennt [...]“ (Garderet et al., 1998, S. 341). Im Gegensatz dazu besitzen klonal

expandierte T-Zellen nach Antigenstimulation, den gleichen T-Zell-Rezeptor und weisen somit dieselbe CDR3-Länge auf. Im Spectratyping werden die T-Zell-Klone nach Antigenstimulation als „Peak“ dargestellt (Peggs et al., 2003).

Die Methode des Spectratypings kann angewendet werden, um die Rekonstitution des TZR-Repertoires nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation zu analysieren. Nach Transplantation weist das TZR-Repertoire anfangs eine geringere Diversität auf (monoklonal, oligoklonal). Es dauert mehrere Monate bis Jahre, bis die Diversität des TZR-Repertoires wiederhergestellt ist (Wu et al., 2000, Klein et al., 2001, Eyrich et al., 2002).

In dieser Arbeit wurde die Rekonstitution des TZR-Repertoires nach Transplantation mittels V β -Spectratyping untersucht und für jeweils vier V β -Familien ein spezifischer Primer zusammen mit einem J β -Segment Primer verwendet.

3.2 T-Zell-Rezeptor Repertoire bei Immundefekten

Es gibt Hinweise darauf, dass ein abnormales T-Zell-Rezeptor-Repertoire einen prädiktiven Charakter für das Vorhandensein und die Schwere eines Immundefekts haben kann. Bereits mehrere Studien wiesen ein abnormales TZR-Repertoire in Patienten mit Immundefekten nach (Wu et al., 2015, Ammann et al., 2017, Wong et al., 2017). Eine Arbeit von Wu et al. bestätigte ein vermindertes TZR-Repertoire bei Patienten mit Wiskott-Aldrich-Syndrom, das vor allem in Effektor-Gedächtnis-T-Zellen verändert sein soll (Wu et al., 2015). Zudem konnte in einer HLH-Studie, ein verzerrtes polyklonales TZR-Repertoire bei Patienten mit familiärer und sekundärer HLH mit viralem Trigger beobachtet werden (Ammann et al., 2017). Laut Wong et al. weisen vor allem Immundefekte mit einer T-Zell-Defizienz eine geringere Diversität des TZR-Repertoires auf, darunter das Ommen-Syndrom, Wiskott-Aldrich-Syndrom und CVID. Dabei soll ein abnormales TZR-Repertoire die Schwere des T-Zell-Defekts widerspiegeln. Es gibt diverse Ursachen für die Entstehung eines abnormalen TZR-Repertoires. Unter anderem können eine fehlerhafte V-D-J-Rekombination, eine Fehlregulation des T-Zell-Rezeptor-Signalweges, Lymphopenie sowie eine Expansion von CD8⁺-T-Zellen aufgrund rezidivierender viraler Infektionen, zu einer geringeren Diversität des TZR-Repertoires führen (Wong et al., 2017). Des Weiteren korreliert die Verzerrung des TZR-Repertoires mit Autoimmunität und tritt bei vielen Immundefekten mit einer Immundysregulation auf, darunter das Wiskott-Aldrich-Syndrom. Ebenso tragen rezidivierende Infektionen zu einer Restriktion des TZR bei (Wu et al., 2015). In der vorliegenden Arbeit soll die Diversität des T-Zell-Rezeptor-Repertoires für weitere Immundefekte untersucht werden.

3.3 Einführung zur allogenen Stammzelltransplantation

Die allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSZT) stellt eine wichtige Therapieoption für viele maligne sowie nicht maligne Erkrankungen dar. Ein Meilenstein in

der Geschichte war 1957 die erste erfolgreiche Knochenmarktransplantation, durchgeführt von Donnall Thomas (Thomas et al., 1957). Seitdem hat sich die Überlebenschance für Kinder mit vielen malignen hämatologischen Erkrankungen deutlich verbessert. Die akuten Leukämien (ALL, AML) gehören dabei zu häufigsten pädiatrischen Transplantationsindikationen, in Hochrisikosituationen, sowie nach einem Rezidiv. Viele weitere maligne hämatologische Erkrankungen werden mit allogener Stammzelltransplantation behandelt, darunter myeloproliferative Erkrankungen (u. a. chronisch myeloische Leukämie (CML)) Lymphome (Hodgkin, Non-Hodgkin), und das myelodysplastische Syndrom (MDS).

In den letzten Jahren hat sich die Indikation der Stammzelltherapie weiterentwickelt und stellt für Patienten mit lebensbedrohlichen nicht malignen Erkrankungen, etwa schweren angeborenen Immundefekten, Anämien und Stoffwechseldefekten, oft die einzige kurative Therapie dar (Gyurkocza et al., 2010, Sureda et al., 2015). Verschiedene Studien haben bei Patienten mit nicht malignen Erkrankungen ein Gesamtüberleben zwischen 83-90% nach HSZT beobachtet (Greystoke et al., 2008, Burroughs et al., 2014, Slatter and Gennery, 2018). Zu den Indikationen unter den Immundefekten zählen u. a.: schwere kombinierte Immundefekte (SCID), MHC-Klasse-II-Defekte, Wiskott-Aldrich-Syndrom, Leukozytenadhäsionsdefekt, IPEX, familiäre hämophagozytische Lymphohistiozytose und die septische Granulomatose (Castagnoli et al., 2019, Gavrilova, 2019). Unter den Anämien werden Hämoglobinopathien (Sichelzellanämie, Thalassämie) und Syndrome mit Knochenmarkversagen (Fanconi-Anämie, refraktäre Zytopenien) transplantiert (Angelucci et al., 2014, Sureda et al., 2015). Weitere Indikationen für eine allogene Stammzelltransplantation stellen Stoffwechseldefekte dar, darunter lysosomale Speichererkrankungen, wie die Mucopolysaccharidosen (Hurler-Syndrome), die juvenile metachromatische Leukodystrophie sowie Speichererkrankungen wie Morbus Krabbe (Wynn, 2011).

Durch die allogene Stammzelltransplantation können mutierte Stammzellen, durch gesunde hämatopoetische Stammzellen ersetzt werden, woraus sich ein neues Immunsystem regenerieren lässt. Dabei werden dem Patienten Stammzellen eines möglichst HLA-identen gesunden Familienspenders (matched related donor, MRD) oder Fremdspenders (matched unrelated donor, MUD) transplantiert, um das Risiko einer späteren Transplantatabstoßung zu minimieren. Zur Identifizierung einer HLA-Kompatibilität werden 5 HLA-Loci – HLA -A, -B, -C, -DRB1 und -DQB1 (mit jeweils zwei Allelen) auf möglichst vollständige Übereinstimmung zwischen Spender und Empfänger geprüft. Als Spender kommen Geschwister infrage, die in 25% der Fälle HLA-identisch sind, sowie möglichst HLA-identische Fremdspender (Gyurkocza et al., 2010) oder Fremdspender mit geringem Mismatch. Fehlt ein solcher, kommen die Eltern als

haploidentische (50% HLA-Übereinstimmung) Spender infrage. Aufgrund der höheren Gefahr einer Spender-gegen-Wirt-Krankheit (Graft-versus-Host-Disease, GvHD) erfolgt eine T-Zell-Depletion des haploidentischen Transplantats (Gyurkocza et al., 2010, Henig and Zuckerman, 2014). Bei Kindern mit primären Immundefekten muss die hohe Rate an Konsanguinität innerhalb der Familie berücksichtigt werden. Dabei können asymptomatische Familienmitglieder von der Erkrankung betroffen sein (Castagnoli et al., 2019).

Hämatopoetische Stammzellen lassen sich aus drei Quellen gewinnen: aus dem Knochenmark, aus dem peripheren Blut nach Stimulation mit dem G-CSF oder aus Nabelschnurblut. Die Entscheidung über die Art der Stammzellquelle ist u. a. abhängig vom Alter, Zustand und von der Grunderkrankung des Patienten (Copelan, 2006, Korbling and Freireich, 2011). Laut einer amerikanischen Review-Studie ist die Transplantation von Knochenmark bei pädiatrischen Patienten die bevorzugte Quelle geblieben (D'souza et al., 2017). Im Gegensatz dazu hat sich bei Erwachsenen die Transplantation von peripheren Stammzellen durchgesetzt. Grund dafür ist die einfachere Gewinnung und die höhere Ausbeute an Stammzellen, die zu einer schnelleren Rekonstitution der Hämatopoese und somit kürzeren Neutropeniezeit führt (Champlin et al., 2000, Storek et al., 2001). Allerdings konnte in einigen Studien, aufgrund des höheren Anteil an transfundierten CD3⁺-T-Zellen, eine höhere Tendenz zur Entwicklung einer chronischen GvHD als bei Knochenmark nachgewiesen werden (Champlin et al., 2000). Dieser Effekt ist vor allem bei pädiatrischen Patienten mit nicht malignen Erkrankungen unerwünscht (Sureda et al., 2015).

3.3.1 Konditionierung

Bevor Stammzellen transplantiert werden, erfolgt eine Konditionierungsbehandlung. Ziel dieser Behandlung ist es, die eigene Immunabwehr des Empfängers auszuschalten, um schwere Komplikationen wie eine Transplantatabstoßung zu vermeiden. Zusätzlich soll die „Nische“ im Knochenmark freigeräumt werden, um das „Homing“ der hämatopoetischen Stammzellen des Empfängers zu ermöglichen. Bei malignen Erkrankungen wie Leukämien werden außerdem residuale Tumorzellen zerstört (Copelan, 2006, Gyurkocza et al., 2010). Intensität und Modalität dieser Vorbehandlung unterscheiden sich je nach Art und Schwere der Grunderkrankung. Dabei differenziert sich die Intensität der Konditionierungsbehandlung vor allem zwischen malignen und nicht malignen Erkrankungen (Gyurkocza and Sandmaier, 2014). Bei Kindern mit aggressiven malignen Erkrankungen wird aufgrund des höheren Rezidivrisikos meistens ein myeloablatives Regime (Myeloablative Conditioning, MAC) eingesetzt. Dabei wird eine komplette und irreversible Eradikation der Hämatopoese des Empfängers induziert, um die Regeneration der eigenen Hämatopoese und somit das Wiederauftreten der Grunderkrankung durch residuale Tumorzellen zu verhindern (Copelan, 2006, Gyurkocza et al., 2010). Die

Konditionierung besteht in diesem Fall aus einer Ganzkörperbestrahlung (Total Body Irradiation, TBI) und/oder einer Chemotherapie meistens aus der Gruppe der Alkylanzien (z. B.: Busulfan oder Cyclophosphamid).

Durch die Entdeckung des Graft-versus-Malignancy/Leukemia-Effekts wurde eine Reduktion der Konditionierungsdosis ermöglicht. Je nach Stadium, Schwere der malignen Erkrankung und Alter kann in manchen Fällen eine dosisreduzierte Konditionierung bzw. toxizitätsreduzierte Konditionierung (Reduced Intensity Conditioning, RIC) angewendet werden. Diese geht mit einer geringeren Toxizität (Mukositis, Lebervenenverschlusskrankheit, Pneumonitis) und Mortalität einher und lässt sich auch bei älteren und komorbiden Patienten einsetzen. Die RIC besteht aus einer dosisreduzierten Chemotherapie oft basierend auf Fludarabin mit einem Alkylanz (Servais et al., 2011, Henig and Zuckerman, 2014, Gyurkocza and Sandmaier, 2014). Bei Kindern mit nicht malignen Erkrankungen wird nicht die gleiche Konditionierung wie bei malignen Erkrankungen benötigt. Bei manchen Immundefekten besteht auch eine eingeschränkte Fähigkeit zur Abstoßung, bei einem SCID kann in manchen Fällen vollständig auf eine Konditionierung verzichtet werden (Shaw et al., 2019). Kinder mit einer nicht malignen Erkrankung weisen aufgrund der vorliegenden Grunderkrankung häufig einen reduzierten Allgemeinzustand mit Organdysfunktionen oder rezidivierenden Infektionen auf. Sie haben somit ein erhöhtes Mortalitätsrisiko. Bei nicht malignen Erkrankungen wird somit in der Regel eine dosisreduzierte bzw. toxizitätsreduzierte Konditionierungsbehandlung ohne Bestrahlung durchgeführt, die mit weniger Nebenwirkungen einhergeht.

In verschiedenen Studien, führten toxizitätsreduzierte Konditionierungsbehandlungen bei nicht malignen Erkrankungen zu einer geringeren Toxizität, höheren Überlebensraten nach Transplantation und gutem Engraftment der Spenderstammzellen (Greystoke et al., 2008, Burroughs et al., 2014, Slatter et al., 2018). Bei der RIC kann in einigen Fällen aufgrund der geringeren Knochenmarkzerstörung ein kleiner Anteil an Empfängerzellen überleben. Dann entsteht ein gemischter Chimärismus, der mit einer größeren Abstoßungsgefahr verbunden ist. Laut einem Review-Artikel von Shaw et al. über die Konditionierungsbehandlung vor HSZT ist ein gemischter Chimärismus von 20-30% für die Heilung von Immundefekten in der Regel ausreichend. Im Falle einer Abstoßung benötigen die Patienten Spenderlymphozyten-Infusionen (Donor Lymphocyte Infusions, DLI) oder eine zweite Transplantation (Shaw et al., 2019).

3.3.2 Infektionen nach HSZT

Nach Stammzelltransplantation gerät der Empfänger aufgrund der vorhandenen Panzytopenie in einen immunsupprimierten Zustand, wodurch es zur einer vermehrten Anfälligkeit gegenüber Infektionen durch bakterielle, virale Erreger sowie Pilze kommt. Sie sind der häufigste Grund für Komplikationen und Mortalität nach HSZT (Srinivasan et al.,

2013, Atilla et al., 2017). Die Anzahl der Infektionen hängt mit der Schnelligkeit der Immunrestitution zusammen. Vor allem in der Phase der Aplasie kommt es zwischen den Tagen 0 und 30 nach HSZT aufgrund der vorhandenen Neutropenie sowie einer Mukositis nach zytotoxischer Konditionierung am häufigsten zu Infektionen. Dabei treten bakterielle Infektionen mit diversen gram-negativen und -positiven Bakterien (*Staphylokokken*, *Enterokokken*, *Clostridium difficile*), Pilzinfektionen (meistens *Candida spp.*) und virale Infektionen (vor allem HSV-Reaktivierung) auf (Schuster and Laws, 2005, Mehta and Rezvani, 2016).

Darüber hinaus stellen das Auftreten einer GvHD nach HSZT und die miteinhergehende zusätzliche immunsuppressive Therapie ein erhöhtes Infektionsrisiko dar (Schuster and Laws, 2005, Srinivasan et al., 2013, Atilla et al., 2017).

Nach Engraftment der Spenderstammzellen in der Phase der Immunrestitution bis zu einem Jahr nach HSZT, während die T- und B-Zell-Funktionen noch deutlich eingeschränkt sind, kommt es außerdem vermehrt zu viralen, aber auch zu Pilzinfektionen. Häufig auftretende virale Erreger sind Zytomegalieviren (CMV), Herpesviren darunter: HSV, VZV (Varizella-Zoster-Virus), HHV-6 (Humanes Herpesvirus 6) - sowie das Epstein-Barr-Virus (EBV) und Adenoviren (Mehta and Rezvani, 2016, Atilla et al., 2017). Vor allem bedeutsam sind Infektionen durch CMV. Diese sind bedingt durch ein Transplantat von seropositivem Spender oder durch eine Reaktivierung des latenten Virus bei seropositivem Empfänger und gehen mit einer schlechteren Prognose einher. Zur Vorbeugung sollte der CMV-Status vor Transplantation bestimmt werden (Ljungman, 2008). Eine medikamentöse Prophylaxe, eine frühzeitige Therapie bei klinischen Symptomen sowie ausführliche Diagnostik, um den verursachenden Erreger zu finden, sind wichtig um die Infektionsraten nach HSZT zu senken (Schuster and Laws, 2005, Srinivasan et al., 2013, Atilla et al., 2017).

3.3.3 GvHD

Die Spender-gegen-Wirt-Krankheit ist eine häufig vorkommende und schwerwiegende Komplikation nach allogener HSZT. Die Inzidenz der Entwicklung einer akuten GvHD liegt bei 35-45% bei MRD und 60-80% bei MUD (Ferrara et al., 2009). Ein Hauptrisiko für die Entwicklung einer GvHD sind HLA-Inkompatibilitäten zwischen Spender und Empfänger.

Bei der GvHD werden Antigenstrukturen im gesunden Gewebe des Empfängers von Spenderlymphozyten im Transplantat als „fremd“ erkannt. Dies führt zur einer T-Zell-Aktivierung und Proliferation sowie zu einer Zytokinfreisetzung. Aus der Aktivierung immunologischer Effektormechanismen entwickelt sich letztendlich eine GvHD (Ferrara et al., 2009, Nasserredine et al., 2017).

Es wird zwischen einer akuten und einer chronischen GvHD unterschieden. Beide Entitäten lassen sich durch deren zeitliches Auftreten sowie durch das klinische Erscheinungsbild unterscheiden. Dabei manifestiert sich die akute GvHD meist in den ersten 100 Tagen nach

HSZT auf, während die chronische Form meistens später erscheint. Eine strikte zeitliche Einteilung der beiden Formen der GvHD ist jedoch nicht ausreichend (Filipovich et al., 2005, Nassereddine et al., 2017). Vielmehr wird gemäß dem klinischen Bild der akuten und chronischen Form der GvHD unterschieden (Filipovich et al., 2005). Im Vordergrund sind bei der akuten GvHD, die Haut, der Gastrointestinaltrakt und die Leber betroffen. Dies äußert sich in Form eines makulopapulösen Exanthems (bis zu Ulzerationen und Blasenbildung), einer Hepatitis (Leberenzym-, Bilirubinerhöhung, Ikterus, Entzündungszeichen) und einer Enteritis (massive Diarrhö, Blutungen, Erbrechen, Subileus) (Ferrara et al., 2009, Nassereddine et al., 2017). Die akute GvHD wird nach ihrer Intensität nach den Glucksberg-Kriterien in vier Schweregrade eingeteilt (Glucksberg et al., 1974). Bei der chronischen GvHD ist vorwiegend die Haut betroffen. Sie wird durch das Auftreten von Autoimmunphänomenen mit ähnlichem klinischen Bild wie dem Sjögren-Syndrom und Sklerodermie charakterisiert. Betroffen sind dabei meistens die Haut und Schleimhäute, wo es zu chronischen Entzündungen sowie zu Sklerosierung der Haut kommt (Filipovich et al., 2005).

Bei Patienten mit maligner Grunderkrankung hat die GvHD einen positiven Effekt, indem die übertragenen Spenderzellen die Tumorzellen des Empfängers beseitigen. Dieser Effekt wird als Transplantat-versus-Leukämie Effekt (Graft-versus-Leukemia, GvL) bezeichnet (Dickinson et al., 2017). Um eine GvH-Reaktion vorzubeugen, erhalten alle Patienten nach HSZT eine immunsuppressive Therapie. Dabei wird häufig ein Calcineurin-Inhibitor (Ciclosporin A, Tacrolimus) mit Methotrexat oder Mycophenolat-Mofetil kombiniert. Zusätzlich erfolgt als prophylaktische Therapie eine T-Zell-Depletion. Diese besteht aus der Gabe von Antikörper gegen T-Zellen (Anti-Thymozyten-Globulin, ATG) oder Anti-CD52-Antikörper (Alemtuzumab). Dabei werden sowohl Empfänger T-Zellen als auch transplantierte T-Zellen des Spenders inaktiviert (Ferrara et al., 2009, Nassereddine et al., 2017).

3.4 Immunrekonstitution nach Transplantation

3.4.1 T-Zell-Rekonstitution

Vor Transplantation weisen viele Patienten bereits ein Immundefizit auf. Patienten mit einer malignen Erkrankung werden vor Transplantation mit einer Reihe Zytostatika behandelt, die zu einer Immundefizienz führen (Mackall et al., 1994). Patienten mit nicht malignen Erkrankungen wie Immundefekten haben zum Teil ein schwer dysfunktionales Immunsystem (z. B.: SCID), wobei Patienten mit Hämoglobinopathien ein normales Immunsystem aufweisen (Bemark et al., 2012, Castagnoli et al., 2019). Nach der HSZT ist die Regeneration des Immunsystems entscheidend für den Erfolg der Transplantation. Die Schnelligkeit der Immunrekonstitution nach HSZT hängt von vielen Faktoren ab, unter anderem von dem Auftreten einer GvHD, von Infektionen, der Toxizität des

Konditionierungsregimes vor Transplantation und von der Thymusfunktion (Peggs and Mackinnon, 2004).

Das angeborene Immunsystem rekonstituiert in der Regel relativ schnell nach Transplantation, während die Regeneration des adaptiven Immunsystems deutlich länger dauert. Direkt nach Transplantation kommt es zu einer Phase der Aplasie bis zur Regeneration der neutrophilen Granulozyten (=Engraftment) 10-25 Tage nach HSZT (Storek et al., 2008). Danach regenerieren Monozyten und NK Zellen, während die Rekonstitution der Lymphozyten länger dauert. Die Wiederherstellung von B- und T-Zellen kann mehrere Monate bis Jahre beanspruchen (Storek et al., 2008, Ogonek et al., 2016). Dabei bestehen zwei Möglichkeiten der T-Zell Rekonstitution nach Transplantation: die thymusunabhängige T-Zell-Rekonstitution durch periphere Expansion von transplantierten T-Zellen und die thymusabhängige durch De-novo-Generierung von T-Zellen im Thymus aus transplantierten Stammzellen (Crooks et al., 2006). Die thymusunabhängig generierten T-Zellen sind verantwortlich für die initiale Phase der T-Zell-Rekonstitution, sie schützen jedoch nur eingeschränkt gegen Infektionen und weisen ein limitiertes und verzerrtes TZR-Repertoire auf. Die thymusabhängig generierten T-Zellen bieten eine Immunität gegen eine große Bandbreite an Erregern und führen zu einer höheren Diversität des TZR-Repertoires (Wu et al., 2000, Klein et al., 2001, Hakim and Gress, 2002). Die thymusabhängige Rekonstitution naiver T-Zellen lässt sich bestimmen, indem die Exzisionsprodukte der T-Zellrezeptorgenumlagerung (TREC) gemessen werden (Hakim and Gress, 2002).

Die Rekonstitution der CD8⁺ T-Zellen beginnt in den ersten Monaten nach Transplantation und ist schneller, als die Wiederherstellung der CD4⁺-T-Zellen (Wu et al., 2000, Fallen et al., 2003). In einer Studie von Fallen et al. lagen die T-Zellen ein Jahr nach Transplantation im Normbereich. Dabei normalisierten sich bereits drei Monate nach Transplantation bei vielen Patienten die CD8⁺-T-Zellen und erst nach zwölf Monaten die CD4⁺-T-Zellen (Fallen et al., 2003). Dies lässt auf eine zu Beginn thymusunabhängige Rekonstitution der CD8⁺-T-Zellen schließen. Dadurch kommt es zu einer Inversion der CD4/CD8-Ratio. Vergleichsweise ist die Rekonstitution der CD4⁺-T-Zellen langsamer und thymusabhängig (Hakim and Gress, 2002, Seggewiss and Einsele, 2010).

Die Schnelligkeit der Rekonstitution der T-Zellen hängt wesentlich von der Thymusfunktion ab. Diese ist abhängig vom Alter des Patienten, der Toxizität der Chemotherapie, der Bestrahlung vor Transplantation, sowie dem Auftreten einer GvHD (Hakim and Gress, 2002). Hohes Alter ist mit Thymusatrophie und Verlust der Funktion assoziiert. Bei Kindern rekonstituieren die T-Zellen durch die bessere Thymusfunktion schneller (Klein et al., 2001, Hakim and Gress, 2002, Law et al., 2012). Bei pädiatrischen Patienten wurde eine T-Zell-Rekonstitution bereits sechs Monate nach Transplantation beobachtet (Law et al., 2012). In einer Studie von Klein et al. kam es bei Kindern (n=8) zwischen sechs und zwölf Monaten

nach Nabelschnurbluttransplantation zu einer vollständigen T-Zell-Rekonstitution inklusive der CD4⁺-T-Zellen sowie nach ein bis zwei Jahren nach Transplantation zu einer Normalisierung der TRECs und hoher Diversität des TZR-Repertoires. Bei Erwachsenen wird die Normalisierung dieser Werte erst nach drei Jahren erzielt (Klein et al., 2001).

Zudem kann die Konditionierungsbehandlung, unter anderem die Chemotherapie (vor allem alkylierende Agenzien) und Bestrahlung vor Transplantation, das Thymusgewebe schädigen und somit zu einer eingeschränkten Kapazität der De-novo-Generierung von T-Zellen führen (Crooks et al., 2006). Mehrere Studien zeigten, dass vor allem eine Ganzkörperbestrahlung schädliche Auswirkungen auf den Thymus hat (Jimenez et al., 2005, Glowala-Kosinska et al., 2016). In einer Studie mit 45 Patienten wurde die Auswirkung der myeloablativen Ganzkörperbestrahlung im Vergleich zur alleinigen Chemotherapie auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires und der Thymusaktivität nach autologer HSZT untersucht. Ein Jahr nach Transplantation zeigten Patienten mit alleiniger Chemotherapie eine höhere Thymusaktivität (Anzahl an TRECs) und eine höhere Diversität des TZR-Repertoires (Glowala-Kosinska et al., 2016). In einer Studie von Jimenez et al. wiesen Patienten, die eine dosisreduzierte Konditionierung erhalten hatten, sechs Monate nach Transplantation höhere TREC-Levels auf, im Vergleich zu Patienten, die eine myeloablative Konditionierung mit TBI bekommen hatten (Jimenez et al., 2005).

Außerdem beeinflussen zahlreiche weitere Faktoren die Schnelligkeit der Immunrekonstitution. Unter anderem hat die Entnahmearart der Stammzellen einen Einfluss auf die T-Zell-Rekonstitution. In peripheren Blutstammzelltransplantaten werden mehr CD4⁺- und CD8⁺ T-Zellen transfundiert, die zu einer schnelleren thymusunabhängigen Immunrekonstitution als Knochenmarktransplantate führen (Champlin et al., 2000, Storek et al., 2001). Die Art der Stammzellquelle spielt jedoch bei der thymusabhängigen T-Zell-Rekonstitution keine entscheidende Rolle (Hakim and Gress, 2002).

Vielmehr beeinflusst das Auftreten einer GvHD die T-Zell-Rekonstitution (Jimenez et al., 2005, Clave et al., 2009). Clave et al. untersuchten innerhalb einer Kohorte von 93 Patienten die Auswirkungen der akuten GvHD nach allogener HSZT auf den Thymus. Ein halbes Jahr nach Transplantation wiesen Patienten mit akuter GvHD eine geringere Anzahl an TRECs, niedrigere naive CD4⁺-T-Zell-Zahlen sowie ein abnormales TZR-Repertoire auf (Clave et al., 2009). Eine andere Studie konnten hingegen keinen Einfluss einer akuten GvHD auf die T-Zell-Rekonstitution nachweisen. Im Gegensatz dazu verzögerte das Auftreten einer chronischen GvHD die CD4⁺- und CD8⁺-T-Zell-Rekonstitution sowie die Thymusaktivität (Jimenez et al., 2005).

Generell müssen der Einfluss der immunsuppressiven Therapie, die Anzahl an Infektionen, sowie eine T-Zell-Depletion des Transplantates miteinbezogen werden (Peggs and

Mackinnon, 2004). All diese Faktoren bestimmen die Immunrekonstitution nach Transplantation.

3.4.2 Rekonstitution des TZR-Repertoires

Nach Transplantation hämatopoetischer Stammzellen ist die Diversität des TZR-Repertoires stark beeinträchtigt. In den ersten Monaten nach Transplantation zeigten diverse Arbeiten für die einzelnen Rezeptorfamilien ein abnormales (monoklonales, oligoklonales) TZR-Repertoire, andere waren gar nicht vorhanden (Verfuerth et al., 2000, Wu et al., 2000, Klein et al., 2001, Eyrich et al., 2002).

Bei pädiatrischen Patienten beginnt die Normalisierung des TZR-Repertoires ein halbes Jahr nach Transplantation (Eyrich et al., 2002), wobei erst nach ein bis zwei Jahren eine vollständige Rekonstitution des TZR-Repertoires beobachtet wurde (Klein et al., 2001). Laut Roux et al. stammen die meisten T-Zellen in erster Zeit nach Transplantation aus transfundierten Spenderlymphozyten oder sind residuale Empfänger T-Zellen, die durch die Konditionierungsbehandlung nicht eliminiert wurden (Roux et al., 1996). Das TZR-Repertoire normalisiert sich mit der Anzahl an naiven T-Zellen, jedoch kann trotz Normalisierung der T-Zell-Zahl das TZR-Repertoire länger abnormal bleiben (Wu et al., 2000, Glowala-Kosinska et al., 2016).

Es können zahlreiche Faktoren, unter anderem das Auftreten viraler Infektionen, die Schnelligkeit der Rekonstitution des TZR-Repertoires beeinflussen. Peggs et al. vermochten den Einfluss einer CMV-Infektion auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires nach autologer HSZT zu verdeutlichen, indem klonal expandierte CD8⁺-T-Zellen vermehrt zu einem verzerrten oligoklonalen TZR-Repertoire führten. Dadurch wurde die Rekonstitution des TZR-Repertoires verzögert (Peggs et al., 2003). Ähnliche oligoklonale Expansionen eines T-Zell-Klons sollen auch mit einer GvL-Reaktion korrelieren (Hentschke et al., 2005).

Zudem kann das Auftreten einer akuten GvHD ebenfalls die Rekonstitution des TZR-Repertoires beeinträchtigen (Liu et al., 2006, Du et al., 2007, Clave et al., 2009). In einer Studie von Liu et al. entwickelten 16 von 28 Patienten nach HSZT eine akute GvHD. Diese zeigten eine geringere Diversität des TZR-Repertoires als Patienten die keine GvHD entwickelt hatten (Liu et al., 2006). Laut Clave et al. ließ sich bei Patienten ohne GvHD ein polyklonales TZR-Repertoire ebenfalls früher nachweisen als bei Patienten mit akuter GvHD (Clave et al., 2009). Laut Du et al. zeigten Patienten mit akuter GvHD Grad II-IV ebenso eine geringere Diversität des TZR-Repertoires auf als Patienten ohne GvHD. Dabei sollen expandierte T-Zellklone das Repertoire verzerren (Du et al., 2007). Es ist jedoch umstritten, ob das Auftreten einer akuten GvHD zwangsläufig zu einem veränderten TZR-Repertoire führt. Hentschke et al. gelang es nicht einen Einfluss einer akuten GvHD auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires nachzuweisen (Hentschke et al., 2005).

Außerdem kann die Art der Konditionierungsbehandlung die Rekonstitution des TZR-Repertoires verzögern (Friedman et al., 2001, Glowala-Kosinska et al., 2016). Vornehmlich myeloablative Konditionierungsprotokolle und Ganzkörperbestrahlung sollen aufgrund einer starken Lymphozytendepletion und Thymusschädigung die Immunrekonstitution verzögern (Mackall et al., 1994, Crooks et al., 2006). Friedman et al. verglichen in einer Kohorte von neun Patienten den Einfluss einer MAC mit TBI vs. den Einfluss einer RIC. Dabei zeigten Patienten, die eine nicht myeloablative Konditionierung erhalten hatten, eine schnellere Rekonstitution des TZR-Repertoires (Friedman et al., 2001). In einer weiteren Studie gelang es, bei Patienten mit alleiniger Chemotherapie eine schnellere Rekonstitution des TZR-Repertoires, aufgrund der Thymusschädigung nach Ganzkörperbestrahlung nachzuweisen (Glowala-Kosinska et al., 2016).

Zuletzt beeinflusst die Grunderkrankung ebenfalls die Rekonstitution des TZR-Repertoires. Patienten mit malignen Erkrankungen werden zur Bekämpfung ihrer Grunderkrankung mit einer Reihe Zytostatika behandelt, die mit einer myelosuppressiven Wirkung einhergehen und die Hämatopoese bereits vor Transplantation beeinträchtigen. Folglich ließ sich eine reduzierte Diversität des TZR-Repertoires bereits vor Transplantation nachweisen (Mackall et al., 1994).

Generell ist eine schnelle Rekonstitution des TZR-Repertoires erwünscht, da eine Verzögerung mit einem erhöhten Infektionsrisiko und Leukämierезидив assoziiert ist (Wu et al., 2000, Li and Xu, 2015).

Die Rekonstitution der T-Zellen sowie des T-Zell-Rezeptor Repertoires sollen in dieser Arbeit weiter erforscht werden. Ebenso soll der Einfluss der Konditionierungsbehandlung ermittelt werden.

4 Material und Methoden Teil 1

4.1 Probandenkollektiv

Es wurden Patientendaten aus der Immundefektambulanz der Kinderklinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf retrospektiv analysiert. Dazu wurden alle Patienten eingeschlossen, die in der Zeit vom 01.12.2017 bis 31.11.2018 zum ersten Mal in der Immundefektambulanz vorstellig geworden waren (n=243). Zusätzlich wurden Daten von Patienten erhoben, bei denen ein definierter Immundefekt im oben genannten Zeitraum stationär in der Kinderklinik des UKE detektiert wurde, ohne dass zuvor ein Kontakt mit der Ambulanz stattgefunden hätte (n=11). Generell wurden nur Patienten berücksichtigt, die zum Zeitpunkt der Vorstellung zwischen 0 und 18 Jahre alt waren. Bei allen Patienten mit einem Immundefekt wurde eine HIV (Humanes Immundefizienz-Virus) -Infektion ausgeschlossen.

Nach den genannten Kriterien wurden 243 Kinder in diese Studie eingeschlossen, davon wurde bei 91 Kindern (37%) ein Immundefekt nachgewiesen und bei 152 Kindern (63%) wurde ein Immundefekt ausgeschlossen.

Insgesamt kommen folgende Immundefekte in dieser Arbeit vor:

- PFAPA (Periodisches Fieber mit aphthöser Stomatitis, Pharyngitis und zervikale Lymphadenopathie)
- Homozygotes FMF (Familiäres Mittelmeerfieber)
- Heterozygotes FMF
- CAPS (Cryopyrin-assoziiertes periodisches Syndrom)
- Hereditärer C3-Mangel
- MBL (Mannose-bindendes Lektin) -Mangel
- HLH (Hämophagozytische Lymphohistiozytose)
- XIAP (X-linked-Inhibitor-of-Apoptosis-Protein)-Defizienz
- IPEX (X-chromosomale Immundysregulation-Polyendocrinopathie-Enteropathie)-Syndrom
- Early-Onset-IBD (Inflammatory Bowel Disease)
- Hyper-IgE-Syndrom
- SCID (Severe Combined Immunodeficiency, schwerer kombinierter Immundefekt)
- MHC (Major Histocompatibility Complex)-Klasse -II Defekt
- TLR (Toll-like-rezeptor) 3-Defekt
- Mikrodeletionssyndrom 22q11
- Septische Granulomatose

- Autoimmunneutropenie
- Sekundär kombinierter Immundefekt
- CVID (Common Variable Immunodeficiency, variables Immundefektsyndrom)
- Selektiver IgA-Mangel
- Transiente Hypogammaglobulinämie
- Unklassifizierter Antikörper-Mangel
- MDS (Myelodysplastisches Syndrom) mit GATA2 (GATA-binding Protein 2)-Defizienz
- Fanconi Anämie
- MECOM (MDS1- and EVI1-Complex-Locus-Protein EVI1)-Mutation

Die Kinder wurden anhand ihrer Diagnose je nach betroffenem immunologischem System in Gruppen eingeteilt und in dieser Form ausgewertet:

1. Autoinflammatorische Syndrome: PFAPA, homozygotes FMF, heterozygotes FMF, CAPS
2. Komplementdefekte: hereditärer C3-Mangel, MBL-Mangel
3. Immundefekte mit Immundysregulation: HLH, XIAP-Defizienz, IPEX-Syndrom, Early-Onset-IBD, Hyper-IgE-Syndrom
4. Zelluläre Immundefekte (beinhaltet T-Zell-Defekte und Defekte der angeborenen Immunität sowie Granulozytendefekte): SCID, MHC-Klasse-II-Defekt, TLR3-Defekt, Mikrodeletionssyndrom 22q11, septische Granulomatose, Autoimmunneutropenie, sekundär kombinierter Immundefekt
5. Humorale Immundefekte: CVID, selektiver IgA-Mangel, transiente Hypogammaglobulinämie, unklassifizierter Antikörper-Mangel
6. Syndrome mit Knochenmarkversagen: MDS mit GATA2-Defizienz, Fanconi-Anämie, MECOM-Mutation

4.2 Klinische Diagnosestellung

Die meisten Diagnosen wurden molekulargenetisch gesichert und aus den Arztbriefen entnommen. Dies betrifft folgende Immundefekte: HLH, XIAP-Defizienz, IPEX-Syndrom, SCID, MHC-Klasse-II-Defekt, MDS mit GATA2-Defizienz, Fanconi-Anämie, MECOM-Mutation, septische Granulomatose, hereditärer C3-Mangel, TLR3-Defekt, CAPS, Autoimmunneutropenie, Mikrodeletionssyndrom 22q11.

Für die weiteren Immundefekte erfolgte eine klinische Diagnosestellung anhand der Definitionen des Europäischen Patientenregister für primäre Immundefekte (European Society for Immunodeficiency, ESID).

Erläuterung nach den diagnostischen ESID-Kriterien: nach (European Society for Immunodeficiencies, 2016)

Diagnosestellung eines MBL-Mangels:

- Rezidivierende bakterielle Infektionen
- Mannose-bindendes Lektin <75 µg/L

Diagnosestellung einer Early-Onset-IBD (=CED):

- Chronisch entzündliche Darmerkrankung diagnostiziert im Kleinkindalter
- Ausschluss einer infektiösen Ursache
- Erfüllung von mindestens einem der folgenden Kriterien: Calprotectin im Stuhl nachweisbar, Gedeihstörung

Diagnosestellung eines Hyper-IgE-Syndroms:

- IgE > 10-fach erhöhte Altersnormwerte
- Erhöhte Infektanfälligkeit
- Kein T-Zell-, oder B-Zell-Defekt

Diagnosestellung einer transienten Hypogammaglobulinämie:

- Abnahme des Serum-IgG unterhalb der altersgerechten Normwerte in den ersten drei Lebensjahren (mindestens zweimal ermittelt)
- Andere Gründe einer Hypogammaglobulinämie wurden ausgeschlossen
- Normalisierung der IgG-Serumkonzentration bis zum vierten Lebensjahr (dieses Kriterium wurde in der vorliegenden Arbeit nicht berücksichtigt, da ein Verlauf bis zum vierten Lebensjahr nicht möglich war)

Diagnosestellung eines selektiven IgA-Mangels:

- Erfüllung von mindestens einem der folgenden Kriterien: erhöhte Infektanfälligkeit, Autoimmunerkrankungen, auffällige Familienanamnese
- Diagnostiziert nach dem vierten Lebensjahr
- IgA-Serumspiegel nicht detektierbar (IgA-Spiegel < 0,07g/l), normale IgG- und IgM-Serumspiegel (mindestens zwei Bestimmungen)
- Ausschluss einer sekundären Ursache einer Hypogammaglobulinämie
- Normale Antikörperreaktion auf Impfungen
- Kein T-Zell-Defekt

Diagnosestellung eines CVID:

- Erfüllung von mindestens einem der folgenden Kriterien: Infektionsanfälligkeit, Autoimmunität, polyklonale Lymphoproliferation, granulomatöse Erkrankungen, positive Familienanamnese
- Deutlich erniedrigte IgG- und IgA-Serumspiegel mit oder ohne erniedrigter IgM-Serumkonzentration (mindestens zwei Bestimmungen; < 2 Standardabweichungen der Altersnormwerte)
- Zusätzlich mindestens eins der folgenden Kriterien: geringe Antikörperantwort auf Impfungen, geringe Anzahl an Gedächtnis-B-Zellen
- Ausschluss einer sekundären Ursache einer Hypogammaglobulinämie
- Diagnostiziert nach dem vierten Lebensjahr
- Kein T-Zell-Defekt

Diagnosestellung eines unklassifizierten Antikörpermangels:

- Erfüllung von mindestens einem der folgenden Kriterien: rezidivierende Infektionen, Autoimmunerkrankungen, Lymphoproliferation, positive Familienanamnese
- Verminderte Serumkonzentration von mindestens einem der folgenden Immunglobulinen: IgG, IgG-Subklassen, IgA oder IgM oder keine Antikörperantwort auf Impfungen
- Ausschluss anderer Ursachen einer Hypogammaglobulinämie
- Ausschluss eines T-Zell-Defektes
- Erfüllt nicht die Kriterien einer anderen Diagnosestellung

Die Autoinflammatorischen Syndrome werden nach den folgenden Kriterien diagnostiziert:
Das PFAPA-Syndrom wird nach den modifizierten Marshall-Kriterien diagnostiziert: nach (Gary S. Marshall, 1987, Manthiram et al., 2017, Batu, 2019)

- Regelmäßig auftretende Fieberepisoden >38°C
- Beginn der Krankheit vor dem fünften Lebensjahr
- Keine Infekte der oberen Atemwege zu den Episoden und Auftreten von mindestens einem der folgenden Symptome: Pharyngitis, aphtöse Stomatitis, Lymphadenitis
- Asymptomatisches Intervall zwischen den Episoden
- Keine Gedeihstörung
- Ausschluss anderer genetischer Fiebersyndrome und einer zyklischen Neutropenie

Der Verdacht auf ein familiäres Mittelmeerfieber wird anhand der vereinfachten Tel Hashomer-Kriterien (Tab. 2) klinisch gestellt und durch den Mutationsnachweis im MEFV-Gen bestätigt.

Tabelle 2: Vereinfachte Tel Hashomer-Kriterien

Modifiziert nach: (Livneh et al., 1997, Alghamdi, 2017)

| Majorkriterien | Minorkriterien |
|--|--|
| Typische Attacke mit: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Peritonitis ▪ Pleuritis (einseitig) oder Perikarditis ▪ Monoarthritis (Hüft-, Knie-, Sprunggelenk) ▪ Fieber Untypische Attacke mit generalisierten Bauchschmerzen | Untypische Attacke mit: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Brustschmerzen ▪ Arthralgien Starke Beinschmerzen Ansprechen auf Colchizin |

Zur definitiven Diagnosestellung: Erfüllung von mind. 1 Majorkriterium oder 2 Minorkriterien

- Typische Attacken: wiederholtes Auftreten (mindestens 3 Episoden), Fieber, kurze Dauer (mindestens 12h, maximal 3 Tage)
- Untypische Attacken: wiederholtes Auftreten (mindestens 3 Episoden), Schmerzen Differenzierung der typischen Attacke durch: Dauer (mindestens 6h, maximal eine Woche), kein Fieber, keine Peritonitis, lokalisierte Bauchschmerzen, Arthritis in anderen Gelenken (Alghamdi, 2017).

4.2.1 Erhebung allgemeiner Parameter

In der Datenerhebung wurden allgemeine Parameter wie das Geschlecht und das Patientenalter zum Zeitpunkt der Vorstellung in der Ambulanz sowie das Datum der Vorstellung in der Immundefektambulanz erfasst. Die Hauptsymptome wie rezidivierende Infektionen sowie bestehende Diagnosen wurden ebenfalls erfasst. Der Vorstellungsanlass wurde aus der mitgebrachten Überweisung der Patienten übernommen. Zur Übersicht wurden unter „Periodisches Fiebersyndrom“: Fieber unklarer Genese, V.a. FMF, V.a. PFAPA zusammengefasst und unter „Zytopenien“: Neutropenie, Leukopenie, Thrombozytopenie subsumiert. Jeder Patient wurde in Kategorien „Immundefekt vorhanden“ / „Immundefekt nicht vorhanden“ eingeteilt. Die Art des Immundefekts wurde ebenfalls dokumentiert sowie die Zuordnung zu den o.g. Gruppen. Wurde ein Immundefekt stationär am Kinder-UKE diagnostiziert, ohne dass je einen Kontakt zur Immundefektambulanz stattgefunden hätte, wurde dies extra vermerkt.

4.3 Warnzeichen zur klinischen Diagnostik von Immundefekten

Die Patienten wurden auf das Vorliegen eines Immundefekts anhand vier verschiedener Warnzeichen-Sets analysiert. Dazu zählen die Warnzeichen gemäß der AWMF-Leitlinie, die erweiterten 12 Warnzeichen der Jeffrey Modell Foundation der DSAI nach Volker Wahn sowie die Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem NPV und maximalem Youden-Index.

Dabei galt als positives Testkriterium das Vorhandensein von mindestens eines Warnzeichens.

Warnzeichen der AWMF-Leitlinie (Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.) zur klinischen Diagnostik eines Immundefekts aus dem Jahr 2017: nach (Farmand et al., 2017, S. 17)

1. Pathologische Infektionsanfälligkeit „ELVIS“: Erreger (opportunistische Erreger oder ungewöhnliche verlaufende Infektion), Lokalisation (polytope Infektion oder atypische Lokalisation), Verlauf (chronisch oder rezidivierend), Intensität (Majorinfektion), Summe (rezidivierend: ≥ 8 Minorinfektionen oder ≥ 2 Majorinfektionen*)
2. „Immundysregulation „GARFIELD“: Granulome, Autoimmunität, rezidivierendes Fieber, ungewöhnliche Ekzeme, Lymphoproliferation, chronische Darmentzündung“
3. Gedeihstörung: Gewicht unter der 3. Perzentile
4. „Auffällige Familienanamnese (Konsanguinität, Immundefekt, pathologische Infektionsanfälligkeit, Immundysregulation, Lymphome)“
5. Hypogammaglobulinämie, Lymphopenie, Neutropenie, Thrombozytopenie
6. Ein genetischer Hinweis oder ein positives Neugeborenen-Screening auf PID

*Majorinfektionen: „Pneumonie, Meningitis, Sepsis, Osteomyelitis und invasive Abszesse“
Minorinfektionen: „Otitis media, Sinusitis, Bronchitis und oberflächliche Hautabszesse“
(Farmand et al., 2017, S.6)

Die erweiterten deutschen 12 Warnzeichen der Jeffrey Modell Foundation, verändert von der DSAI (Deutsche Selbsthilfe Angeborene Immundefekte e.V.), nach V. Wahn im Jahr 2000: (Wahn, 2000a)

1. „Auftreten von Immundefekten in der Familie
2. Acht oder mehr eitrige Mittelohrentzündungen pro Jahr
3. Zwei oder mehr schwere Nasennebenhöhlenentzündungen pro Jahr
4. Zwei oder mehr Lungenentzündungen innerhalb eines Jahres
5. Antibiotikatherapie über zwei oder mehr Monate ohne Effekt
6. Impfkomplicationen bei Schluckimpfung gegen Kinderlähmung oder Neugeborenen-Impfung gegen Tuberkulose
7. Gedeihstörung im Säuglingsalter, mit oder ohne chronische Durchfälle
8. Eiteransammlung tief unter der Haut oder in inneren Organen

9. Zwei oder mehr Infektionen der inneren Organe pro Jahr (u. a. Hirnhautentzündung, Knochenmarkentzündung, Blutvergiftung)
10. Hartnäckige Pilzinfektionen (Candida) an Haut und Schleimhaut (besonders auf der Mundschleimhaut) nach dem ersten Lebensjahr
11. Bei Säuglingen: unklare chronische Rötung am ganzen Körper, insbesondere an Handflächen und Fußsohlen (Graft-versus-Host-Reaktion)
12. Wiederkehrende, ausgedehnte Infektionen des Organismus mit sog. „atypischen Mykobakterien“

Anhand der JMF-, DSAI-, und AWMF-Warnzeichen wurde von Lankisch et al. im Jahr 2015 eine Kombination von Warnzeichen mit maximalem negativ prädiktivem Wert und maximalem Youden-Index entwickelt. Die Warnzeichen mit maximalem Youden-Index setzen sich aus Warnzeichen mit möglichst hoher Sensitivität und Spezifität zusammen: nach (Lankisch et al., 2015)

Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem NPV:

- Gedeihstörung
- Rezidivierende Abszesse der Haut oder den inneren Organen
- Gabe von i. v. Antibiotika
- Lymphopenie, Hypogammaglobulinämie

Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem Youden-Index:

- ≥ 8 Otitiden innerhalb eines Jahres
- ≥ 2 Pneumonien innerhalb eines Jahres
- Gedeihstörung
- Lymphopenie

4.4 Laborwerte

Zudem wurde die Labordiagnostik für spezifische Immundefekte evaluiert. Es erfolgte eine retrospektive Analyse bereits durchgeführter Laboruntersuchungen. Dabei wurde erfasst ob folgende Laborwerte vermindert oder normal waren:

- Im Blutbild: Leukozyten, Lymphozyten, neutrophile und eosinophile Granulozyten, Thrombozyten
- Bestimmung der Immunglobuline: IgG, IgM, IgA, IgE, IgG-Subklassen 1-4
- Zellulärer Immunstatus (Lymphozytensubpopulationen): T-Zellen, CD4⁺-T-Zellen, CD8⁺-T-Zellen, regulatorische T-Zellen, B-Zellen, NK Zellen

- Granulozytenfunktionstest: Auffälligkeiten im oxidativen Burst, Adhäsion der Granulozyten
- Komplement Aktivität: Klassischer Weg, alternativer Weg; Mannose-bindendes Lektin
- Impfantikörper: Impftiter (Tetanus, Diphtherie)
- Antinukleäre Antikörper (ANAs) wenn größer 1:320
- Calprotectin und Amyloid-A im Serum: ausschließlich bei Patienten mit autoinflammatorischem Syndrom

Die Normwerte der Lymphozyten und deren Subpopulationen, wurden nach den altersabhängigen Absolutwerten nach Comans-Bitter et al. analysiert (Comans-Bitter et al., 1997). Die anderen Normwerte richten sich nach den internen Normwerten der jeweiligen Labore des UKE.

4.5 Datenerhebung

Zur Erhebung der Daten wurden digitalisierte Patientenakten des Krankenhausinformationssystems Soarian® Clinicals verwendet. Die relevanten Patientendaten wurden anhand der vorhandenen Arztbriefe und Befunde in einer pseudonymisierten Microsoft-ACCESS-Datenbank an der Kinderklinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf erfasst. Anschließend wurde die ACCESS-Datenbank zur weiteren Bearbeitung in einer Microsoft Excel-Tabelle Version 2016 exportiert.

4.6 Statistische Auswertung

Die Graphiken wurden mit Microsoft Excel Version 2016 erstellt und die statistischen Analysen mit IBM SPSS Statistics Version 23.0 durchgeführt. Die deskriptive Statistik besteht aus der Beschreibung von Häufigkeiten als Absolutwert (Anzahl n) sowie Prozentangaben. Metrische Variablen sind als Median mit Interquartilsabstand, Minimum und Maximum dargestellt. Der Zusammenhang zwischen nominal skalierten Variablen wurde mit Kreuztabellen analysiert.

Anhand von Vierfeldertafeln (Tab. 3) wurden als statistische Gütekriterien für den diagnostischen Test die Sensitivität, Spezifität, sowie der PPV und der NPV für alle vier Warnzeichen-Sets (DSAI, AWMF, Düsseldorfer Warnzeichen mit max. NPV und max. Youden-Index) zur klinischen Diagnose eines Immundefekts bzw. spezifischen Immundefekts (autoinflammatorisches Syndrom, Komplementdefekt, Immundefekt mit Immundysregulation, zellulärer Immundefekt, humoraler Immundefekt, Syndrom mit KM-Versagen) bestimmt. Für die prädiktiven Werte wird auf die Abhängigkeit der Prävalenz der Erkrankung im untersuchten Patientenkollektiv hingewiesen, die sogenannte Vortestwahrscheinlichkeit (Scott et al., 2008).

Tabelle 3: Vierfeldertafel

Modifiziert nach: (Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie am UKE, 2019)

| Testergebnis | Gesund | Krank | Summe |
|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------------|
| Negativ | a (richtig negativ) | b (falsch negativ) | a+b (Test negativ) |
| Positiv | c (falsch positiv) | d (richtig positiv) | c+d (Test positiv) |
| Summe | a+c (gesund) | b+d (krank) | a+b+c+d (alle Patienten) |

| | |
|---------------------------------|-------------|
| Sensitivität | = $d/(b+d)$ |
| Spezifität | = $a/(a+c)$ |
| Positiv Prädiktiver Wert | = $d/(c+d)$ |
| Negativ Prädiktiver Wert | = $a/(a+b)$ |

5 Material und Methoden Teil 2

5.1 Patientenkollektiv

Die selektionierte Patientenkohorte umfasste 32 Kinder, die zwischen 2016 und 2018 am Universitätsklinikum-Hamburg Eppendorf eine hämatopoetische allogene Stammzelltransplantation erhalten hatten.

Je nach Grunderkrankung wurden die Patienten in vier Gruppen eingeteilt. Davon hatten 14 Kinder einen schweren Immundefekt, 6 Kinder waren an einer akuten Leukämie erkrankt, 6 Kinder litten unter einem angeborenen Stoffwechseldefekt und 6 Kinder waren an einer Anämie/Hämoglobinopathie erkrankt. Insgesamt waren 18 Kinder weiblich und 14 Kinder männlich. Der Altersmedian der Kinder zum Zeitpunkt der HSZT betrug sechs Jahre bei einem minimalen Alter von zwei Monate und einem maximalen Alter von 17 Jahren.

Die Patientencharakteristika sind in der folgenden Tabelle für die jeweiligen Gruppen zusammengefasst:

Tabelle 4: Darstellung der Patientencharakteristika der vier Erkrankungsgruppen

[HLH = Hämophagozytische Lymphohistiozytose, CGD = septische Granulomatose, ADA2-Defizienz = Adenosin deaminase 2-Defizienz, MECOM = MDS1- and EVI1-Complex-Locus-Protein EVI1, SCID = Schwere kombinierter Immundefekt, ALL= Akute lymphatische Leukämie, AML = Akute myeloische Leukämie, MPS = Mukopolysaccharidosen, jMLD = juvenile metachromatische Leukodystrophie, VSAA = Very Severe Aplastic Anemia, sehr schwere aplastische Anämie, DBA = Diamond-Blackfan-Anämie, PBSC = Peripheral Blood Stem Cell, periphere Blutstammzellen, KM = Knochenmark, Treo = Treosulfan, Flu = Fludarabin, TT = Thiotepa, Thymo = Thymoglobulin, Cy = Cytarabin, ATG = Antithymozytenglobulin (Grafalon), TBI = Total Body Irradiation, Ganzkörperbestrahlung, VP-16 = Etoposid]

| | Immundefekt | Leukämie | Stoffwechseldefekt | Anämie/ Hämoglobino- pathie | Gesamt |
|---|--|--|---|--|----------------------|
| Patienten Anzahl (n) | 14 | 6 | 6 | 6 | 32 |
| Geschlecht | | | | | |
| männlich | 8 | 1 | 3 | 2 | 14 |
| weiblich | 6 | 5 | 3 | 4 | 18 |
| Alter bei Transplantation (Median) | 0-16 Jahre (3 Jahre) | 6-16 Jahre (13 Jahre) | 0-4 Jahre (1,5 Jahre) | 2-17 Jahre (9,5 Jahre) | 0-17 Jahre (6 Jahre) |
| Grunderkrankung (Anzahl, n) | HLH (n=7) CGD (n=2) ADA2-Defizienz (n=2) Griscelli-Syndrom (n=1) MECOM (n=1) SCID (n=1) | ALL (n=3) AML (n=3) | MPS IIIa (n=2) MPS-I Hurler (n=2) Morbus Krabbe (n=1) jMLD (n=1) | Thalassämie major (n=2) VSAA (n=1) DBA + Thalassämie minor (n=1) Sichelzellanämie (n=1) Fanconi-Anämie (n=1) | |
| 1. Transplantation | 10 | 5 | 3 | 5 | 23 |
| 2. Transplantation | 4 | 1 | 3 | 1 | 9 |
| Spender | | | | | |
| Fremdspender | 10 | 5 | 4 | 3 | 22 |
| Familienspender | 4 | 1 | 2 | 3 | 10 |
| Stammzellquelle | | | | | |
| PBSC | 7 | 5 | 2 | 1 | 15 |
| KM | 7 | 1 | 4 | 5 | 17 |
| Konditionierung | Treo/Flu/TT/Thymo (n=10) Flu/TT/Thymo (n=2) Treo/Flu/Thymo (n=1) Flu/Cy/ATG (n=1) | Treo/Flu/TT/ATG (n=1) TBI 12 Gy/VP-16 (n=1) TBI 12 Gy/VP-16/ATG (n=2) TBI 8Gy/Flu/ATG (n=2) | Treo/Flu/TT/Thymo (n=6) | Treo/Flu/TT/Thymo (n=4) Flu/Cy/ATG (n=1) Cy (n=1) | |

5.2 T-Zell-Zahl

Für jeden Patient wurden die absolute mediane gesamt T-Zell-Zahl sowie deren Subpopulationen (CD4⁺-T-Helferzellen und CD8⁺-T-zytotoxische-Zellen) an den Tagen 30, 60, 90, 180 nach HSZT aus den Patientenakten erhoben. Für die vier Erkrankungsgruppen (Immundefekt, Leukämie, Anämie/Hämoglobinopathie und Stoffwechseldefekt) wurde jeweils die mediane T-Zell-Zahl berechnet und nach den altersentsprechenden Referenzwerten nach Comans-Bitter et al. ausgewertet (Comans-Bitter et al., 1997).

5.3 Konditionierung

Die Patienten wurden aufgrund der unterschiedlichen Konditionierungsbehandlung in zwei Gruppen eingeteilt. In einer Gruppe wurden Patienten mit nicht malignen Erkrankungen zusammengefasst, die eine toxizitätsreduzierte Konditionierungsbehandlung mit Treosulfan und/oder Fludarabin sowie +/-Thiotepa erhalten haben. Alle erhielten eine Serotherapie mit Thymoglobulin. In der anderen Gruppe wurden alle Patienten eingeschlossen, die ein myeloablatives Regime mit Ganzkörperbestrahlung sowie einer Chemotherapie mit VP-16 (Etoposid) oder Fludarabin und eine Serotherapie mit Antithymozytenglobulin erhalten haben.

In der Gruppe mit der RIC befanden sich 23 Patienten mit nicht malignen Erkrankungen: 13 Patienten mit einem Immundefekt, sechs Patienten mit einem Stoffwechseldefekt und vier Patienten mit einer Anämie/Hämoglobinopathie. In der Gruppe der MAC mit TBI befanden sich ausschließlich Patienten mit einer Leukämie (n=5).

Dabei wurde insgesamt zwischen einer MAC (n=5) und einer RIC unterschieden (n=23). (Tab. 5)

Tabelle 5: Einteilung der Konditionierung in Gruppen

[MAC = Myeloablative Conditioning, TBI = Total Body Irradiation, Ganzkörperbestrahlung, VP-16 = Etoposid, RIC = Reduced Intensity Conditioning, Treo = Treosulfan, Flu = Fludarabin, TT = Thiotepa, Thymo = Thymoglobulin, ATG = Antithymozytenglobulin (Grafalon)]

| Gruppen | Konditionierung |
|------------|--|
| MAC (n=5) | TBI 12 Gy/VP-16 (n=1) TBI 12 Gy/VP-16/ATG (n=2) TBI 8 Gy/Flu/ATG (n=2) |
| RIC (n=23) | Treo/Flu/TT/Thymo (n=20) Flu/TT/Thymo (n=2) Treo/Flu/Thymo (n=1) |

5.4 Infektionen/GvHD

Es wurden Komplikationen, die die Immunrekonstitution verzögern – wie das Auftreten einer Graft-versus-Host Erkrankung oder einer Infektion – erhoben. Dabei wurden die Infektionen nach der Art der Erreger eingeteilt: viral, bakteriell, fungal. Das Auftreten einer GvHD nach den Glucksberg-Kriterien wurde in den Schweregraden I-IV differenziert (Glucksberg et al., 1974).

All diese Kriterien wurden mit den Ergebnissen der Spectratypes ein halbes Jahr nach Transplantation korreliert.

5.5 Patientenproben

Das T-Zell-Rezeptor-Repertoire wurde retrospektiv mittels V β -Spectratyping aus Patienten DNA Proben analysiert. Von jedem Patienten wurden fünf Zeitpunkte untersucht: vor HSZT

sowie an den Tagen 30, 60, 90 und 180 nach Transplantation. Als Vergleich wurden die jeweiligen Stammzellspender herangezogen. Die verwendete DNA wurde vom Labor der pädiatrischen Hämatologie und Onkologie am UKE zu den jeweiligen Zeitpunkten nach Transplantation zwischen 2016 und 2018 aus EDTA- Blutproben gewonnen. Diese wurden über Qiagen Säulen aufgereinigt, in Elutionspuffer eluiert und bei -20°C bis zur weiteren Bearbeitung aufbewahrt.

5.6 Untersuchung des TZR-Repertoires mittels V β -Spectratyping

Das Prinzip des Spectratypings wurde in der Einleitung beschrieben (siehe Einleitung, Spectratyping S. 33). Das T-Zell-Rezeptor Repertoire folgender vier Ketten wurde ermittelt: V β 2, V β 5.1, V β 6a, V β 8a. Hierfür wurde die CDR3-Region des TZR mittels PCR amplifiziert. Die PCR-Produkte wurden per Agarose-Gelelektrophorese kontrolliert und eine Fragmentgrößenanalyse mittels Kapillar-Elektrophorese (ABI Genetic Analyzer) durchgeführt.

5.6.1 Konzentrationsbestimmung von DNA

Die Konzentration der DNA wurde mithilfe eines NanoDrop 2000 Spectrophotometers (*Thermo Fisher Scientific*) bestimmt.

5.6.2 Agarose-Gelelektrophorese

Tabelle 6: Reagenzien Agarose-Gelelektrophorese

| Reagenz | Volumen |
|-------------------|------------|
| Agarose | 2g |
| TAE Puffer | 100ml |
| Ethidium-Bromid | 2 μ l |
| 6x Ladepuffer | 2 μ l |
| 100 bp DNA-Ladder | 10 μ l |

Es erfolgte eine Gelelektrophorese zur Prüfung der PCR-Amplifikate der verschiedenen Primer. Die elektrophoretische Auftrennung der DNA-Fragmente wurde in einem 2%igen-Agarosegel (Agarose: *Thermo Fisher Scientific*) mit Trisacetat-EDTA-(TAE)-Puffer (*Millipore*) durchgeführt. Zu den Agarose-Gelen wurden 2 μ l Ethidiumbromid (*Sigma-Aldrich*) zur Visualisierung der DNA zugegeben. Als Größenstandard diente die 100 bp DNA-Ladder (*Gene Ruler 100 bp Plus DNA Ladder, Thermo Fisher Scientific*). Die Elektrophorese erfolgte bei 100 V. Die der DNA-Fragmente wurden mit ultraviolettem (UV) Licht visualisiert und mit einer Kamera fotografiert.

5.6.3 V β -spezifische Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Die Amplifikation der CDR3-Region erfolgte per Polymerase-Kettenreaktion mit der Taq Polymerase (PCR Kit: *Invitrogen, by Thermo Fisher Scientific*) und V β -spezifischen Primer

(Tab. 7) zusammen mit einem J β -Primer. Es wurden PCR-Reaktionen von 50 μ l Volumen pro PCR-Tube angesetzt. Ein Reaktionsansatz beinhaltete: 2 μ l DNA-Template (Verdünnung mit H₂O auf eine Konzentration von 100 ng/ μ l), 2 μ l forward Primer (V β -), 2 μ l reverse Primer (J β 1.1), 5 μ l 10x PCR-Puffer, 1 μ l dNTPs (10mM jeweils) (*Vilnius, Thermo Fisher Scientific*), 0,2 μ l Taq-Polymerase, 2 μ l MgCl₂ (50mM) sowie 35,8 μ l DNase freies Wasser. Zusätzlich wurde stets eine Wasserkontrolle mitgeführt.

Der Reaktionsansatz wurde in 0,5 ml Eppendorf Tubes pipettiert und anschließend in den Thermocycler (*T Professional, Biometra*) platziert. Die initiale Denaturierung erfolgte für 5min bei 95°C. Darauf folgten 35 Zyklen von 30 sec zur Denaturierung, 30 sec bei der jeweiligen Annealing Temperatur entsprechend der Primer (55°C für V β 2; 56°C für V β 6a, 8a; 58°C für V β 5.1) und eine Elongation von 1 min bei 72°C. Daraufhin folgte eine terminale Elongation für 5 min bei 72°C.

Tabelle 7: Primersequenzen Spectratyping

| Primer | Sequence 5'->3' |
|---------------|-----------------------------------|
| J β 1.1 | CTT ACC TAC AAC TGT GAA TCT GGT G |
| V β 5.1 | CAG TGT GTC CTG GTA CCA ACA G |
| V β 6a | AAC CCT TTA TTG GTA CCG ACA |
| V β 2 | AAC TAT GTT TTG GTA TCG TCA |
| V β 8a | CTC CCG TTT TCT GGT ACA GAC AGA C |

Herstellung der Aliquots: die Verdünnung der Primer erfolgte 1:10 mit DNase freiem Wasser.

5.6.4 Fragmentanalyse der PCR-Produkte "Spectratyping"

Die Fragmentanalyse der PCR-Produkte wurde mittels Kapillarelektrophorese am ABI 3130 (*ABI Prism Genetic Analyzer, Applied Biosystems, ThermoFisher Scientific*) durchgeführt. Es wurde ein Mastermix bestehend aus 18 μ l Formamid (*HiDi-Formamid*) und 0,25 μ l des Längenstandards Liz Standard (*Genescan LIZ500 Standard, ThermoFisher Scientific*) angesetzt. In einer 96 Well PCR-Platte wurden jeweils 2 μ l PCR-Produkt mit 18 μ l Formamid/LIZ500 Mix verdünnt. Anschließend wurden die Proben kurz runterzentrifugiert (*Hettich, Rotanta 96R*), durch 2-minütiges Erhitzen in Thermocycler (*T Professional, Biometra*) bei 86°C denaturiert und sofort für ca. 5 min bei -20°C abgekühlt. Die Proben wurden in den ABI platziert und die Fragmentanalyse durch die GeneScan Software am Computer gestartet. Zur Auswertung wurde die Software GeneMapper 4.0 (*Applied Biosystems*) genutzt.

Das erwartete Produkt betrug für: V β 2: 248-271bp; V β 5.1: 246-268bp; V β 6a: 245-270 bp; V β 8a: 248-274bp. Somit sollte das durchschnittliche Produkt zwischen 247-271 bp betragen.

5.6.5 Auswertung

Anhand der ABI-Software GeneMapper 4.0 wurden die Größe und Intensität der jeweiligen PCR-Produkte analysiert. Auf der X-Achse ist die Basenpaarlänge (CDR3-Länge) aufgetragen und auf der Y-Achse die Leuchtintensität entsprechend der Menge an PCR-Produkt. Die Darstellung erfolgt als „Peak“, die Gesamtheit als Spectratype.

Zur Auswertung wurde die Anzahl der Peaks für jedes Spectratype gezählt. Zusätzlich wurden die Spectratypes in 4 Kategorien eingeteilt nach Verfuert et al. und Glowala-Kosinska (Verfuert et al., 2000, Glowala-Kosinska et al., 2016). Dabei wurde eine polyklonale Gauß'sche Verteilung als normales Repertoire betrachtet, während ein polyklonal verzerrtes, oligoklonales und monoklonales Repertoire als abnormal bewertet wurden. (Abb. 4)

Als Vergleich wurden Stammzellspender der Patienten als gesunde Vergleichsgruppe für die jeweiligen V β -Familien [V β 2 (n=21) V β 5.1 (n=27), V β 6a (n=26), V β 8a (n=23)] herangezogen.

Einteilung der Klonalität wie folgt: nach (Verfuert et al., 2000, Glowala-Kosinska et al., 2016)

- Polyklonal gaussian: mindestens 6 Peaks ohne Lücke dazwischen
- Polyklonal verzerrt: mindestens 6 Peaks ohne Lücke dazwischen, verzerrte Verteilung im Vergleich zur Gauß'schen Normalverteilung
- Oligoklonal: ≤ 4 dominante Peaks
- Monoklonal: 1 dominanter Peak

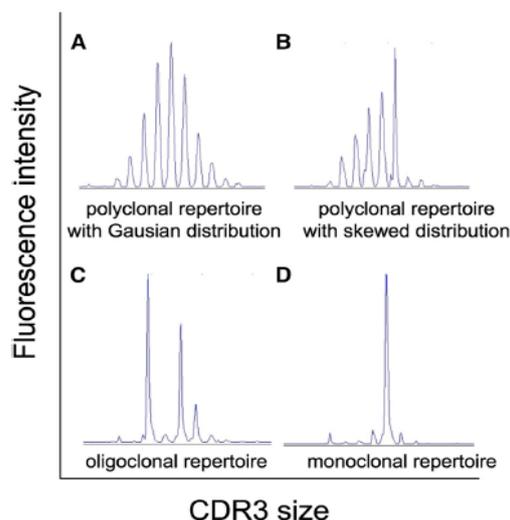


Abbildung 4: Einteilung der Klonalität der Spectratypes (Glowala-Kosinska et al., 2016)

5.7 Statistische Auswertung

Die Graphiken und Berechnungen wurden mit Microsoft Excel Version 2016 erstellt. Die Anzahl der Peaks der Spectratypes ist deskriptiv als Mittelwert und Standardabweichung angegeben. Die Klonalität der Spectratypes wurde als Mittelwert in Prozent genannt. Für die T-Zell-Zahl wurde der Median berechnet. Metrische Variablen wie das Alter sind als Median mit Minimum und Maximum dargestellt. Häufigkeiten wurden als Anzahl (n) mit Prozentangaben wiedergegeben.

Die statistischen Analysen wurden mit IBM SPSS Statistics Version 23.0 durchgeführt. Die Zusammenhänge zwischen nominal skalierten Variablen (Klonalität der Spectratypes) für die Gruppen: „Art der Konditionierung“, „virale Infektionen“ und „GvHD“ wurden mittels Kreuztabellen analysiert und Signifikanzen durch den Chi-Quadrat-Test nach Pearson überprüft. Bei weniger als 5 Beobachtungen pro Feld wurde der Exakte Test nach Fisher angewendet.

Den Einfluss der „Anzahl an Peaks“ zwischen den Gruppen „Art der Konditionierung“, „virale Infektionen“ und „GvHD“ wurde mittels t-Test für unabhängige Stichproben überprüft.

Die Testwahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde als signifikant betrachtet.

5.8 Ethikvotum

Vor Beginn dieser Arbeit wurde ein Ethik Antrag gestellt. Ein positives Votum der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg liegt vor (Bearbeitungsnummer: PV4839). Die Patientendaten wurden gemäß des Datenschutzgesetzes pseudonymisiert und in dieser Form ausgewertet.

6 Ergebnisse Teil 1

6.1 Beschreibung des Patientenkollektivs

6.1.1 Alter und Geschlecht

Von den insgesamt 243 Patienten in der vorliegenden Arbeit waren 136 männlich (56%) und 107 weiblich (44%). Davon waren 48 Jungen (53%) und 43 Mädchen (47%) von einem Immundefekt betroffen. Der Altersmedian der Kinder zum Zeitpunkt der Vorstellung in der Immundefektambulanz betrug 4 Jahre bei einem minimalen Alter von < 30 Tagen und einem maximalen Alter von 17 Jahren. Am häufigsten vertreten waren Kinder im Alter von 1 bis 3 Jahren bei Kindern mit sowie ohne Immundefekt (Abb. 5).

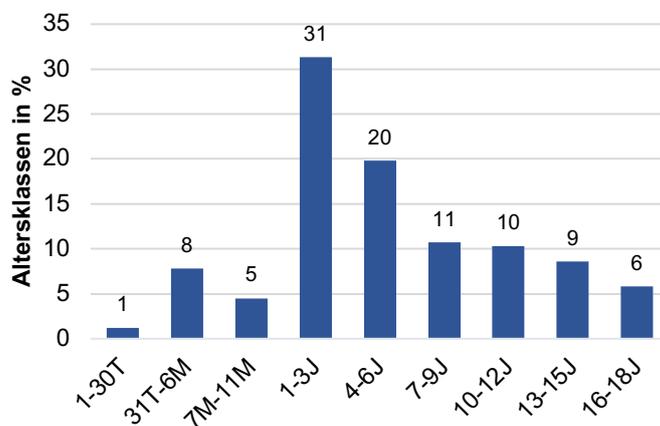


Abbildung 5: Verteilung der Altersklassen der untersuchten Patientenkohorte
[T = Tage; M = Monate; J = Jahre]

6.1.2 Diagnosedauer

Die Dauer vom ersten Auftreten der Symptome bis zum Aufsuchen der immunologischen Ambulanz betrug im Median 1,1 Jahre bei einer minimalen Dauer von 0 bis 30 Tagen und maximalen Dauer von 16 Jahren. Zu berücksichtigen ist die Anzahl an fehlenden Daten diesbezüglich bei 43 Patienten.

6.1.3 Vorstellungsanlass

Der häufigste Vorstellungsanlass in der immunologischen Ambulanz war ein allgemeiner Verdacht auf einen Immundefekt (n=129; 53%), gefolgt von Kindern mit dem Verdacht auf ein periodisches Fiebersyndrom (n=51; 21%), Zytopenien (n=11; 5%), Hypogammaglobulinämie (n=6; 3%) die bereits in der Labordiagnostik aufgefallen ist, Abklärung eines Mikrodeletionssyndroms 22q11 (n=4; 2%) und den Verdacht auf ein Hyper-IgE-Syndrom (n=4; 2%).

Die häufigsten Symptome, die zu einer Vorstellung in der immunologischen Ambulanz führten waren an erster Stelle das rezidivierende Fieber (n=69; 28%), gefolgt von häufigen Infekten der oberen Atemwege (n=56; 23%), Pneumonie (n=48; 20%), Bauchschmerzen (n=33; 14%), Bronchitis (n=31; 13%), rezidivierende Otitis media (n=28; 12%), Abszesse (n=26; 11%) und Gelenkschmerzen (n=21; 9%). Diese Symptome traten teilweise in Kombination auf.

6.1.4 Einteilung der Immundefekte

Insgesamt wurden 243 Patienten mit dem Verdacht auf einen Immundefekt aufgenommen. Davon wurde bei 91 Patienten (37%) ein Immundefekt diagnostiziert, während 152 Patienten (63%) keinen Immundefekt hatten. Dies entspricht einer Prävalenz von 37% in dieser Studie.

Den größten Anteil machte die Gruppe der autoinflammatorischen Syndrome mit 36 Kindern (40%) aus, den kleinsten Anteil bildete die Gruppe der Syndrome mit Knochenmarkversagen mit 3 Kindern (3%). Die Komplementdefekte umfassten 15 Kinder (17%), die zellulären Immundefekte 14 Kinder (15%), die humoralen Immundefekte 12 Kinder (13%) und die Immundefekte mit Immundysregulation 11 Kinder (12%) (Abb.6).

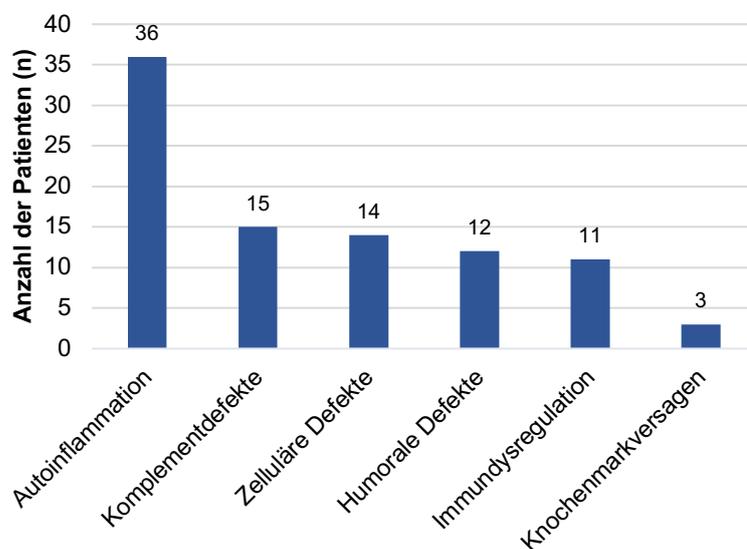


Abbildung 6: Einteilung der Immundefekte in Gruppen, nach betroffenem immunologischem System

Von allen Erkrankungen machte das PFAPA in der Gruppe der autoinflammatorischen Syndrome den größten Anteil mit 27/36 Kindern aus. In der Gruppe der Komplementdefekte wiesen 14/15 Kinder eine MBL-Defizienz auf. Bei den zellulären Immundefekten zeigten die meisten Kinder (7/14) ein Mikrodeletionssyndrom 22q11 (bei Vorliegen einer T-Zell-Defizienz auch DiGeorge-Syndrom genannt). Bei den humoralen Immundefekten hatten die meisten Kinder (5/12) einen unklassifizierten Antikörpermangel dicht gefolgt von der transienten Hypogammaglobulinämie mit 4/12 Kindern. Bei den Immundefekten mit

Immundysregulation litten die meisten Kinder (4/11) unter einer HLH. In der Gruppe der Syndrome mit Knochenmarkversagen wiesen alle drei Kinder eine unterschiedliche Erkrankung auf. (Tab. 8)

Tabelle 8: Diagnosen der 91 Patienten mit vorhandenem Immundefekt innerhalb des untersuchten Kollektivs

[PFAPA = Periodisches Fieber mit aphthöser Stomatitis, Pharyngitis und zervikale Lymphadenopathie, FMF = familiäres Mittelmeerfieber, CAPS = Cryopyrin-assoziiertes periodisches Syndrom, MBL = Mannose-bindendes Lektin, MHC = Major Histocompatibility Complex, TLR = Toll-like-rezeptor, SCID = Severe Combined Immunodeficiency, CVID = Common Variable Immunodeficiency, HLH = Hämophagozytische Lymphohistiozytose, IBD = Inflammatory Bowel Disease, XIAP = X-linked-Inhibitor-of-Apoptosis-Protein, IPEX = X-chromosomale Immundysregulation-Polyendocrinopathie-Enteropathie, MECOM = MDS1- and EVI1-Complex-Locus-Protein EVI1, MDS = Myelodysplastisches Syndrom]

| Immundefekte | n | Prozent |
|--------------------------------------|-----------|----------------|
| Autoinflammatorische Syndrome | 36 | 39,6% |
| • PFAPA | 27 | 29,7% |
| • Heterozygot FMF | 5 | 5,5% |
| • Homozogot FMF | 3 | 3,3% |
| • CAPS | 1 | 1,1% |
| Komplementdefekte | 15 | 16,5% |
| • MBL Mangel | 14 | 15,4% |
| • Hereditärer C3-Mangel | 1 | 1,1% |
| Zelluläre Defekte | 14 | 15,4% |
| • Mikrodeletionssyndrom 22q11 | 7 | 7,7% |
| • Autoimmunneutropenie | 2 | 2,2% |
| • Septische Granulomatose | 1 | 1,1% |
| • Sekundär kombinierter Immundefekt | 1 | 1,1% |
| • MHC-Klasse II Defekt | 1 | 1,1% |
| • TLR3-Defekt | 1 | 1,1% |
| • SCID | 1 | 1,1% |
| Humorale Defekte | 12 | 13,2% |
| • Unklassifizierter Antikörpermangel | 5 | 5,5% |
| • Transiente Hypogammaglobulinämie | 4 | 4,4% |
| • Selektiver IgA-Mangel | 2 | 2,2% |
| • CVID | 1 | 1,1% |
| Immundysregulation | 11 | 12,1% |
| • HLH | 4 | 4,4% |
| • Early-Onset-IBD | 3 | 3,3% |
| • Hyper-IgE- Syndrom | 2 | 2,2% |
| • XIAP Defizienz | 1 | 1,1% |
| • IPEX-Syndrom | 1 | 1,1% |

| | | |
|---|----------|-------------|
| Syndrome mit Knochenmarkversagen | 3 | 3,3% |
| • Fanconi-Anämie | 1 | 1,1% |
| • MECOM-Mutation | 1 | 1,1% |
| • MDS mit GATA2-Defizienz | 1 | 1,1% |
| Gesamt | 91 | 100% |

6.1.5 Schwere Immundefekte

Von den 91 Patienten mit nachgewiesenem Immundefekt wurden 80 Kinder (88%) in der Immundefektambulanz diagnostiziert. Die anderen 11 Kinder (12%) wurden stationär am Kinder-UKE diagnostiziert, ohne dass ein Kontakt zur Immundefektambulanz stattgefunden hat. Letzteres betrifft die Kinder mit folgenden Diagnosen: HLH (n=4), MHC-Klasse-II-Defekt (n=1), XIAP-Defizienz (n=1), SCID (n=1), IPEX-Syndrom (n=1), Fanconi-Anämie (n=1), Immundefekt mit MECOM-Mutation (n=1), MDS mit GATA2-Mutation (n=1). Diese Kinder sind von einem schweren Immundefekt betroffen und es besteht die Indikation für eine Transplantation hämatopoetischer Stammzellen. Zusätzlich besteht eine Indikation für eine HSZT bei einem Kind mit septischer Granulomatose, dass in der Ambulanz vorstellig war. Somit waren insgesamt 12 Kinder (13%) von einem schweren Immundefekt betroffen, bei denen die Indikation für eine Stammzelltransplantation gestellt wurde.

6.1.6 Konsanguinität

Insgesamt trat bei 11 Patienten (5%) eine Konsanguinität auf. Davon hatten 6 Patienten (7%) einen Immundefekt.

6.2 Warnzeichen zur klinischen Diagnostik von Immundefekten

Alle Patienten wurden auf das Vorliegen eines Immundefekts anhand der vier vorhandenen Warnzeichen-Sets analysiert (Warnzeichen der AWMF-Leitlinie, der DSAI, der Düsseldorfer Warnzeichen mit max. NPV und max. Youden-Index). Ziel war es, die Wertigkeit der verschiedenen klinischen Warnzeichen zu evaluieren.

6.2.1 Warnzeichen der DSAI

Es wurde untersucht, ob das Auftreten mindestens eines positiven Warnzeichens der DSAI auf einen Immundefekt bzw. die Art des Immundefekts hinweist. Dadurch sollen die klinischen Warnzeichen der DSAI zur Diagnostik von Immundefekten evaluiert werden.

Kinder mit einem Immundefekt zeigten paradoxerweise mit 24% (n=22) seltener mindestens ein positives Warnzeichen der DSAI als Kinder ohne Immundefekt (30%; n=46). Die Mehrheit der Kinder mit einem Immundefekt (76%; n=69) wies somit kein positives Warnzeichen auf.

Die Immundefekte mit Immundysregulation erfüllten mit 45% (n=5), im Vergleich zu den anderen Immundefektgruppen, am häufigsten positive Testkriterien der DSAI — gefolgt von den zellulären Immundefekten mit 43% (n=6). Die Kinder mit einem Komplementdefekt und humoralen Immundefekt ließen zu gleichen Anteilen (33%: n=5; n=4) mindestens ein Warnzeichen der DSAI erkennen. In der Gruppe der autoinflammatorischen Syndrome zeigten mit 6% (n=2) nur wenige Kinder ein positives Warnzeichen. In der Gruppe der Immundefekte mit KM-Versagen blieben alle Kinder ohne positive Warnzeichen. (Tab. 9)

Tabelle 9: Anteil der Kinder mit und ohne Immundefekt nach den Testkriterien der DSAI eingeteilt nach der Art des Immundefekts

| Immundefekt | Warnzeichen | Immundefekt Ja | | Immundefekt Nein | |
|--------------------------------------|-------------|----------------|-----|------------------|----|
| | | n | % | n | % |
| Gesamtkohorte (n=243) | Positiv | 22 | 24 | 46 | 30 |
| | Negativ | 69 | 76 | 106 | 70 |
| Autoinflammatorische Syndrome (n=36) | Positiv | 2 | 6 | 46 | 30 |
| | Negativ | 34 | 94 | 106 | 70 |
| Komplementdefekte (n=15) | Positiv | 5 | 33 | 46 | 30 |
| | Negativ | 10 | 67 | 106 | 70 |
| Immundysregulation (n=11) | Positiv | 5 | 45 | 46 | 30 |
| | Negativ | 6 | 55 | 106 | 70 |
| Zelluläre Immundefekte (n=14) | Positiv | 6 | 43 | 46 | 30 |
| | Negativ | 8 | 57 | 106 | 70 |
| Humorale Immundefekte (n=12) | Positiv | 4 | 33 | 46 | 30 |
| | Negativ | 8 | 67 | 106 | 70 |
| KM-Versagen (n=3) | Positiv | 0 | 0 | 46 | 30 |
| | Negativ | 3 | 100 | 106 | 70 |

6.2.1.1 Wertigkeit der Warnzeichen

An dieser Stelle wurde die Wertigkeit der Warnzeichen der DSAI zur Diagnostik eines Immundefekts anhand des diagnostischen Tests untersucht.

Bei der Diagnose eines Immundefekts zeigten die Warnzeichen der DSAI eine niedrige Sensitivität von 24%, bei einer höheren Spezifität von 70%. Der PPV für die Kohorte lag bei 32%, der NPV bei 61%.

Die Warnzeichen der DSAI ergaben für die Diagnose eines Immundefekts mit Immundysregulation sowie eines zellulären Immundefekts, eine Sensitivität von 45% bzw. 43%. Die Sensitivität für die Diagnose eines humoralen Immundefekts sowie eines Komplementdefekts war mit 33% niedriger. Bei einer Sensitivität von 6% wurden die meisten autoinflammatorischen Syndrome anhand der Warnzeichen der DSAI nicht

detektiert. Die Syndrome mit KM-Versagen wurden nicht erkannt. Der NPV war hoch und lag für die meisten Immundefektgruppen bei 90%, während der PPV für die meisten Gruppen bei 10% lag. Zu berücksichtigen ist die geringe Prävalenz in den Immundefektgruppen. (Tab. 10)

Tabelle 10: Vergleich der Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der Warnzeichen der DSAI innerhalb der unterschiedlichen Immundefektgruppen
[PPV = positiv prädiktiver Wert; NPV = negativ prädiktiver Wert]

| Warnzeichen | Sensitivität | Spezifität | PPV | NPV |
|--------------------------------------|--------------|------------|-----|-----|
| Gesamtkohorte (n=243) | 24% | 70% | 32% | 61% |
| Autoinflammatorische Syndrome (n=36) | 6% | 70% | 4% | 76% |
| Komplementdefekte (n=15) | 33% | 70% | 10% | 91% |
| Immundysregulation (n=11) | 45% | 70% | 10% | 95% |
| Zelluläre Immundefekte (n=14) | 43% | 70% | 12% | 93% |
| Humorale Immundefekte (n=12) | 33% | 70% | 8% | 93% |
| KM-Versagen (n=3) | 0% | 70% | 0% | 97% |

6.2.1.2 Vorkommen der Warnzeichen für Immundefekte

Hier wurde die Verteilung der einzelnen Warnzeichen der DSAI für das Vorhandensein eines Immundefekts untersucht. Ziel war es zu ermitteln, welche Warnzeichen auf einen Immundefekt hinweisen.

Insgesamt traten in der gesamten Kohorte sowohl bei Kindern mit einem Immundefekt als auch ohne Immundefekt 9 von 12 Warnzeichen auf. Bei Kindern mit einem Immundefekt kam das Kriterium Gedeihstörung mit 12% (n=11) am häufigsten vor. Bei 9% (n=13) der Kinder ohne Immundefekt trat es ebenfalls auf.

Weitere Warnzeichen, die erkannt wurden und zwar häufiger bei Kindern mit Immundefekt als ohne Immundefekt waren folgende: ≥ 2 Majorinfektionen/Jahr mit 5% (n=5), ≥ 2 Pneumonien/Jahr mit 4% (n=4) und positive Familienanamnese für Immundefekte mit 3% (n=3).

Das Kriterium „rezidivierende Abszesse“ wurde in beiden Gruppen am zweithäufigsten erfüllt: bei Kindern ohne Immundefekt mit 13% (n=20) häufiger als bei Kindern mit Immundefekt (7%; n=6). Die Warnzeichen ≥ 8 Otitiden/Jahr mit 5% (n=8) und ≥ 2 Sinusitiden/Jahr mit 2% (n=3) wurden ebenfalls häufiger bei Kindern ohne Immundefekt erkannt.

Am seltensten kamen die Kriterien Candidiasis (mit Immundefekt und ohne Immundefekt: n=1), GvHD (Immundefekt: n=1) und atypische Mykobakteriose (ohne Immundefekt: n=1)

vor. Die Warnzeichen ≥ 2 zwei Monate antibiotische Therapie ohne Effekt sowie Impfkomplicationen wurden von keinem Patienten im erfassten Kollektiv erfüllt. (Abb.7)

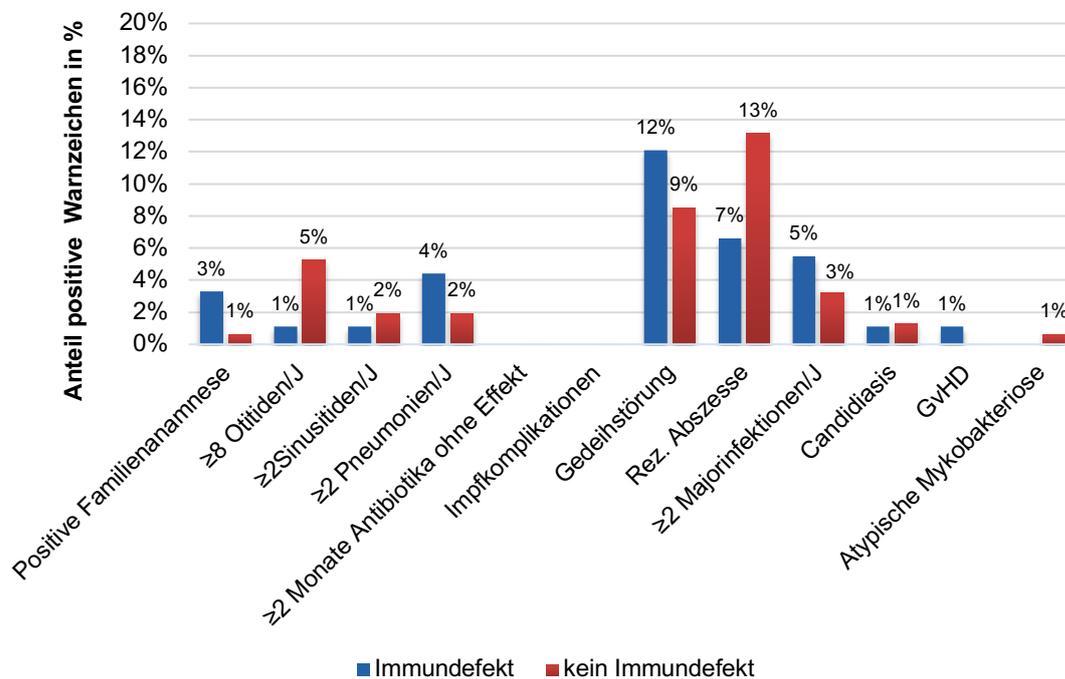


Abbildung 7: Vorkommen der Warnzeichen der DSAI bei Kindern mit und ohne Immundefekt

6.2.1.3 Vorkommen der Warnzeichen in den Immundefektgruppen

Es wurde die Verteilung der einzelnen Warnzeichen der DSAI innerhalb der Immundefektgruppen untersucht. Das Ziel bestand darin herauszufinden welche Warnzeichen bei den jeweiligen Immundefekten am häufigsten vorkommen, um den Verdacht auf einen Immundefekt anhand klinischer Warnzeichen zu erhärten.

Innerhalb der verschiedenen Immundefektgruppen lagen Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung der Warnzeichen vor. Kinder mit autoinflammatorischem Syndrom zeigten die Warnzeichen der DSAI selten. Dabei wurden Gedeihstörung und positive Familienanamnese für Immundefekte einmalig erfüllt (n=1; 3%).

Bei Kindern mit einem Komplementdefekt kamen mit jeweils 13% (jeweils n=2) am häufigsten die Kriterien ≥ 2 Pneumonien und ≥ 2 Majorinfektionen/Jahr vor. Kinder mit Immundysregulation erfüllten die meisten Kriterien. Vermehrt wurden rezidivierende Abszesse mit 36% (n=4) und Gedeihstörung mit 27% (n=3) festgestellt. Kinder mit zellulärem Immundefekt wiesen die Kriterien Gedeihstörung mit 21% (n=3) auf, gefolgt von positiver Familienanamnese für Immundefekte mit 14% (n=2). Bei Kindern mit humoralem Immundefekt traten die Kriterien Gedeihstörung mit 25% (n=3) und ≥ 2 Pneumonien/Jahr sowie ≥ 2 Majorinfektionen/Jahr mit jeweils 17% (jeweils n=2) am häufigsten auf. Die

Warnzeichen ≥ 2 zwei Monate antibiotische Therapie ohne Effekt sowie Impfkomplicationen und atypische Mykobakteriose wurden von keinem Patienten mit einem Immundefekt gezeigt. (Abb.8)

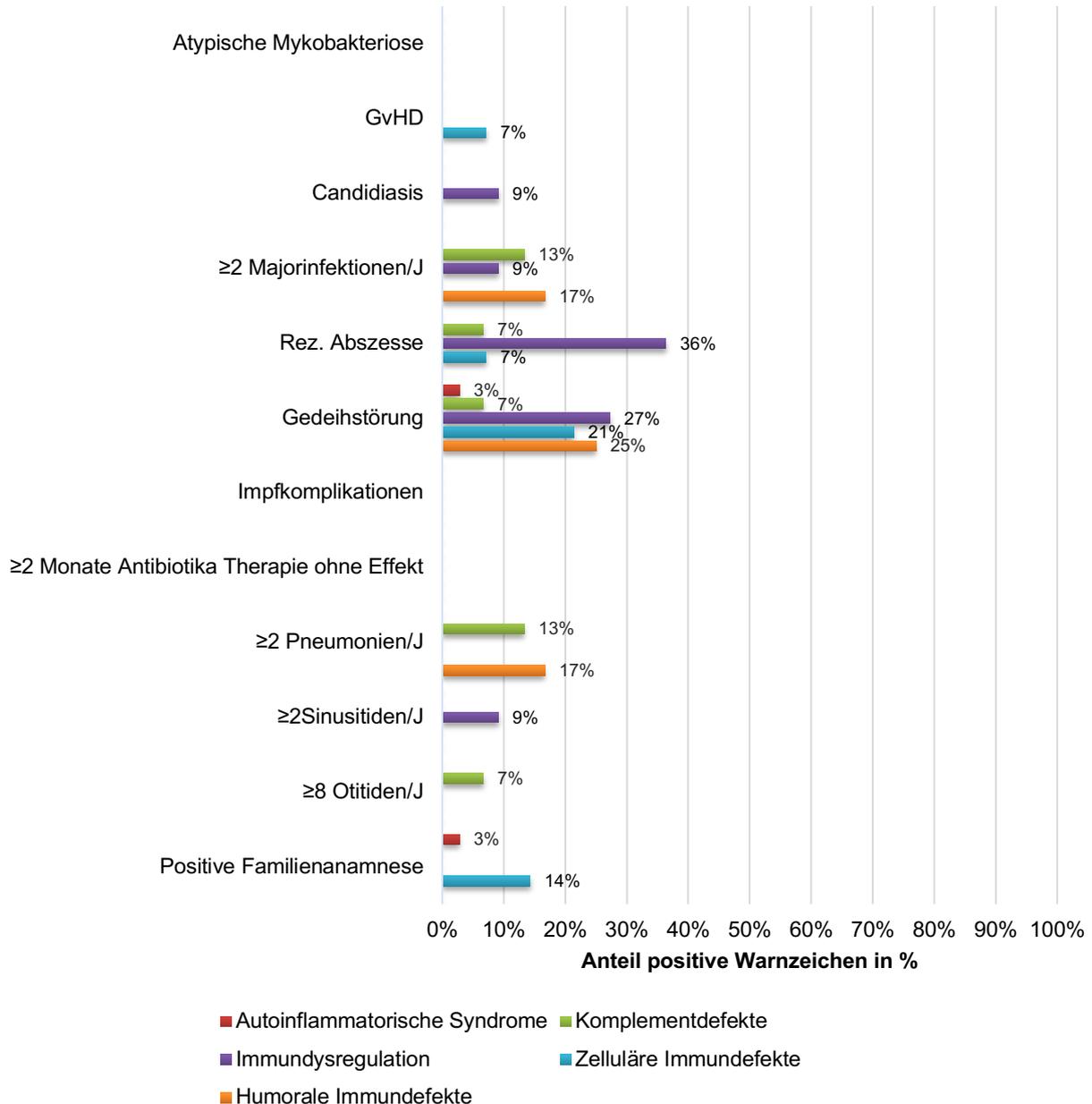


Abbildung 8: Vorkommen der Warnzeichen der DSAI innerhalb der Immundefektgruppen

6.2.2 Warnzeichen der AWMF-Leitlinie

Es wurde untersucht, ob das Auftreten mindestens eines oder mehrerer positiver Warnzeichen der AWMF-Leitlinie auf einen Immundefekt bzw. die Art des Immundefektes hinweist. Dadurch sollen die klinischen Warnzeichen der AWMF-Leitlinie zur Diagnostik von Immundefekten evaluiert werden.

Die Mehrheit der Kinder mit einem Immundefekt zeigte zu 98% (n=89) mindestens ein positives Warnzeichen der AWMF-Leitlinie, während Kinder ohne Immundefekt zu 89% (n=135) positive Warnzeichen erkennen ließen. Nur zwei Kinder mit nachgewiesenem Immundefekt (2%) wiesen kein positives Warnzeichen auf.

Innerhalb der Immundefektgruppen erfüllten die autoinflammatorischen Syndrome (n=36), die Komplementdefekte (n=15), die Immundefekte mit Immundysregulation (n=11), die humoralen Immundefekte (n=12) und die Syndrome mit KM-Versagen (n=3) zu 100% mindestens ein positives Testkriterium der AWMF-Leitlinie. Im Gegensatz dazu zeigten Kinder mit zellulärem Immundefekt zu 86% (n=12), mindestens ein positives Warnzeichen. (Tab. 11)

Tabelle 11: Anteil der Kinder mit und ohne Immundefekt nach den Testkriterien der AWMF-Leitlinie eingeteilt nach der Art des Immundefekts

| Immundefekt | Warnzeichen | Immundefekt Ja | | Immundefekt Nein | |
|--------------------------------------|-------------|----------------|-----|------------------|----|
| | | n | % | n | % |
| Gesamtkohorte (n=243) | Positiv | 89 | 98 | 135 | 89 |
| | Negativ | 2 | 2 | 17 | 11 |
| Autoinflammatorische Syndrome (n=36) | Positiv | 36 | 100 | 135 | 89 |
| | Negativ | 0 | 0 | 17 | 11 |
| Komplementdefekte (n=15) | Positiv | 15 | 100 | 135 | 89 |
| | Negativ | 0 | 0 | 17 | 11 |
| Immundysregulation (n=11) | Positiv | 11 | 100 | 135 | 89 |
| | Negativ | 0 | 0 | 17 | 11 |
| Zelluläre Immundefekte (n=14) | Positiv | 12 | 86 | 135 | 89 |
| | Negativ | 2 | 14 | 17 | 11 |
| Humorale Immundefekte (n=12) | Positiv | 12 | 100 | 135 | 89 |
| | Negativ | 0 | 0 | 17 | 11 |
| KM-Versagen (n=3) | Positiv | 3 | 100 | 135 | 89 |
| | Negativ | 0 | 0 | 17 | 11 |

6.2.2.1 Wertigkeit der Warnzeichen

An dieser Stelle wurde die Wertigkeit der Warnzeichen der AWMF-Leitlinie zur Diagnostik eines Immundefekts anhand des diagnostischen Tests untersucht.

Bei der Diagnose eines Immundefekts verweisen die Warnzeichen der AWMF-Leitlinie auf eine sehr hohe Sensitivität von 98% bei einer niedrigen Spezifität von 11%. Der PPV lag bei 40% und der NPV betrug 90%.

Die Warnzeichen der AWMF-Leitlinie ergaben für die Diagnose eines autoinflammatorischen Syndroms, eines Komplementdefekts, eines Immundefekts mit

Immundysregulation, eines humoralen Immundefekts und eines Syndroms mit KM-Versagen eine Sensitivität von 100% - für die zellulären Immundefekte lag die Sensitivität bei 86%. Der NPV lag für alle Immundefektgruppen bei 100% mit der Ausnahme eines zellulären Immundefekts, dessen NPV 89% betrug. Der PPV war mit 21% für die autoinflammatorischen Syndrome – im Vergleich zu den anderen Gruppen – am höchsten. (Tab. 12)

Tabelle 12: Vergleich der Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der Warnzeichen der AWMF-Leitlinie innerhalb der unterschiedlichen Immundefektgruppen

[PPV = positiv prädiktiver Wert; NPV = negativ prädiktiver Wert]

| Warnzeichen | Sensitivität | Spezifität | PPV | NPV |
|--------------------------------------|--------------|------------|-----|------|
| Gesamtkohorte (n=243) | 98% | 11% | 40% | 90% |
| Autoinflammatorische Syndrome (n=36) | 100% | 11% | 21% | 100% |
| Komplementdefekte (n=15) | 100% | 11% | 10% | 100% |
| Immundysregulation (n=11) | 100% | 11% | 8% | 100% |
| Zelluläre Immundefekte (n=14) | 86% | 11% | 8% | 89% |
| Humorale Immundefekte (n=12) | 100% | 11% | 8% | 100% |
| KM-Versagen (n=3) | 100% | 11% | 2% | 100% |

6.2.2.2 Vorkommen der Warnzeichen für Immundefekte

Hier wurde die Verteilung der einzelnen Warnzeichen der AWMF-Leitlinie für das Vorhandensein eines Immundefekts untersucht. Ziel war es zu ermitteln, welche Warnzeichen auf einen Immundefekt hinweisen.

Alle Warnzeichen der AWMF-Leitlinie kamen in diesem Patientenkollektiv vor und wurden häufiger von Kindern mit Immundefekt, als von Kindern ohne Immundefekt erfüllt.

Am häufigsten wurden die ELVIS-Kriterien (für pathologische Infektionsanfälligkeit) erkannt, dabei wurden alle etwas häufiger von Kindern mit einem Immundefekt erfüllt. Das Kriterium „Verlauf“ traf auf Kinder mit Immundefekt am häufigsten zu (52%; n=47), gefolgt von den Kriterien Summe (38%; n=35), Intensität (26%; n=24), Erreger (22%; n=20) und Lokalisation (10%; n=9).

Die Warnzeichen unter dem Akronym „GARFIELD“ für eine Störung der Immunregulation, wurden insgesamt seltener festgestellt als die ELVIS-Kriterien. Dabei kam das Zeichen des rezidivierenden Fiebers bei Kindern mit Immundefekt mit 46% (n=42) mit dem größten Anteil vor, gefolgt von Autoimmunerkrankungen und Ekzemen mit jeweils 18% (n=16) sowie Lymphoproliferation mit 14% (n=13). Die Kriterien chronische Darmentzündung (4%; n=4) und Granulome (3%; n=3) wurden von wenigen Kindern erfüllt.

Eine Gedeihstörung kam mit 12% (n=11) im Vergleich zu anderen Warnzeichen seltener vor, jedoch bei Kindern mit Immundefekten häufiger als bei Kindern ohne Immundefekt (9%; n=13).

Wie die Laborwerte ergaben kam Hypogammaglobulinämie bei Kindern mit Immundefekt mit einem Anteil von 22% (n=20) vermehrt vor. Thrombozytopenie mit 10% (n=9) und Lymphopenie mit 9% (n=8) traten fast ausschließlich bei Kindern mit einem Immundefekt auf, während Neutropenie sowohl bei Kindern mit Immundefekt (12%; n=11) und ohne Immundefekt (10%; n=15) mit ähnlicher Häufigkeit festgestellt wurden.

Eine positive Familienanamnese war das einzige Kriterium, das mit 30% (n=45) häufiger bei Kindern ohne Immundefekt als mit Immundefekt (24%; n=22) erfüllt wurde. (Abb. 9)

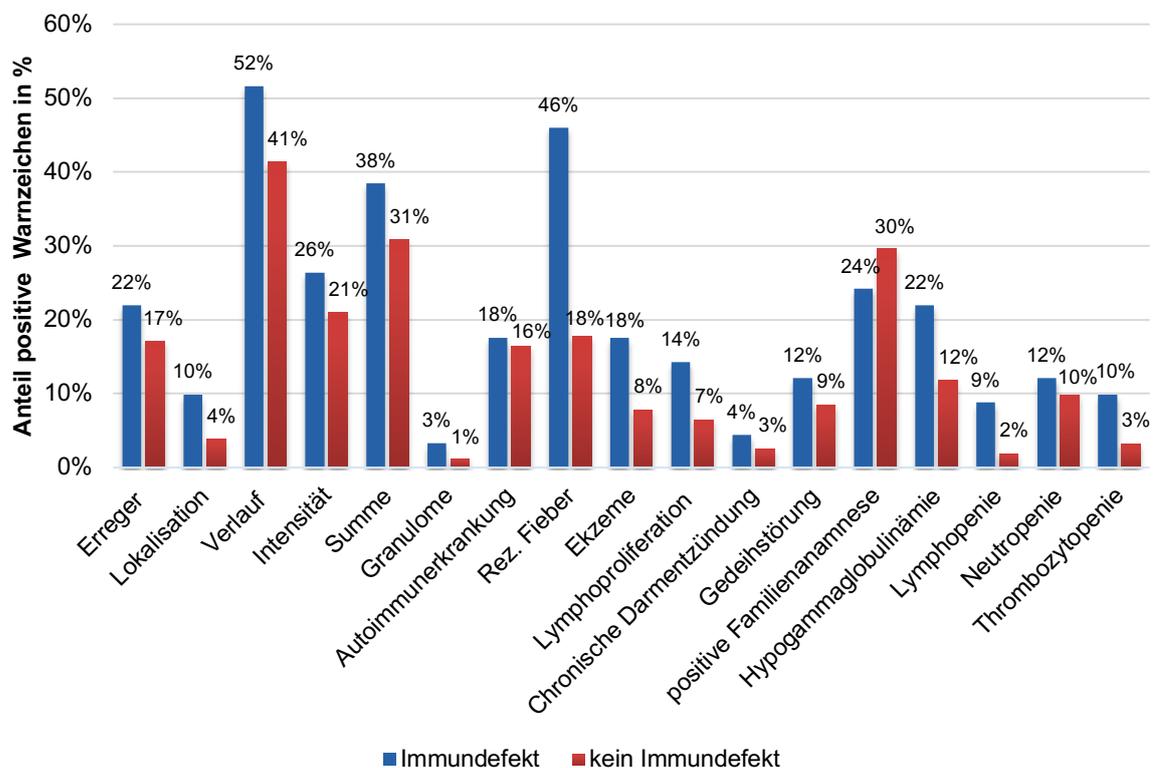


Abbildung 9: Vorkommen der Warnzeichen der AWMF-Leitlinie bei Kindern mit und ohne Immundefekt

6.2.2.3 Vorkommen der Warnzeichen in den Immundefektgruppen

Es wurde die Verteilung der einzelnen Warnzeichen der AWMF-Leitlinie innerhalb der Immundefektgruppen untersucht. Ziel war es zu eruieren welche Warnzeichen bei den jeweiligen Immundefekten am häufigsten vorkommen, um den Verdacht auf einen Immundefekt anhand klinischer Warnzeichen zu erhärten.

Je nach zugrunde liegendem Immundefekt wurden unterschiedliche Warnzeichen erfüllt.

Bei allen Kindern mit autoinflammatorischen Syndromen trat rezidivierendes Fieber als Kriterium auf (100%; n=36). Die ELVIS-Kriterien Verlauf mit 47% (n=17) und Summe mit 33% (n=12) wurden relativ häufig erfüllt.

Bei Kindern mit einem Komplementdefekt wurden die ELVIS- Kriterien Verlauf mit 87% (n=13), Intensität mit 53% (n=8), Summe mit 53% (n=8) und Erreger mit 33% (n=5) am häufigsten erfüllt. Das Kriterium positive Familienanamnese wurde mit 33% (n=5) vermehrt erhoben.

In der Gruppe der Immundefekte mit Immundysregulation kamen die meisten Kriterien vor. Lymphoproliferation mit 55% (n=6) sowie das ELVIS-Kriterium Erreger mit 55% (n=6) wurden größtenteils, weitere ELVIS-Kriterien wie Verlauf mit 45% (n=5) und Intensität mit 45% (n=5) wurden häufig erfüllt. Des Weiteren kamen Ekzeme mit 45% (n=5) und Autoimmunerkrankungen, Lymphopenie sowie auffällige Familienanamnese mit jeweils 36% (n=4) vermehrt vor. Chronische Darmentzündung trat mit 27% (n=3) im Vergleich zum Vorkommen in den anderen Gruppen in dieser Gruppe vermehrt auf.

Kinder mit zellulären Immundefekten erfüllten mit 50% (n=7) die ELVIS-Kriterien Verlauf mit 43% (n=6), Summe mit 43% (n=6) und Erreger mit 36% (n=5) am häufigsten.

Bei allen Kindern mit humoralen Immundefekten kam Hypogammaglobulinämie vor (100%; n=12). Die ELVIS-Kriterien Summe mit 50% (n=6), Verlauf mit 42% (n=5) und Intensität mit 33% (n=4) wurden ebenfalls häufig erfüllt.

Die drei Kinder mit KM-Versagen zeigten nur wenige Warnzeichen. Alle fielen durch eine Neutropenie (100%) und Thrombozytopenie (100%) auf. Rezidivierendes Fieber und Hypogammaglobulinämie wurden von jeweils einem Kind erfüllt (33%; n=1). (Abb. 10)

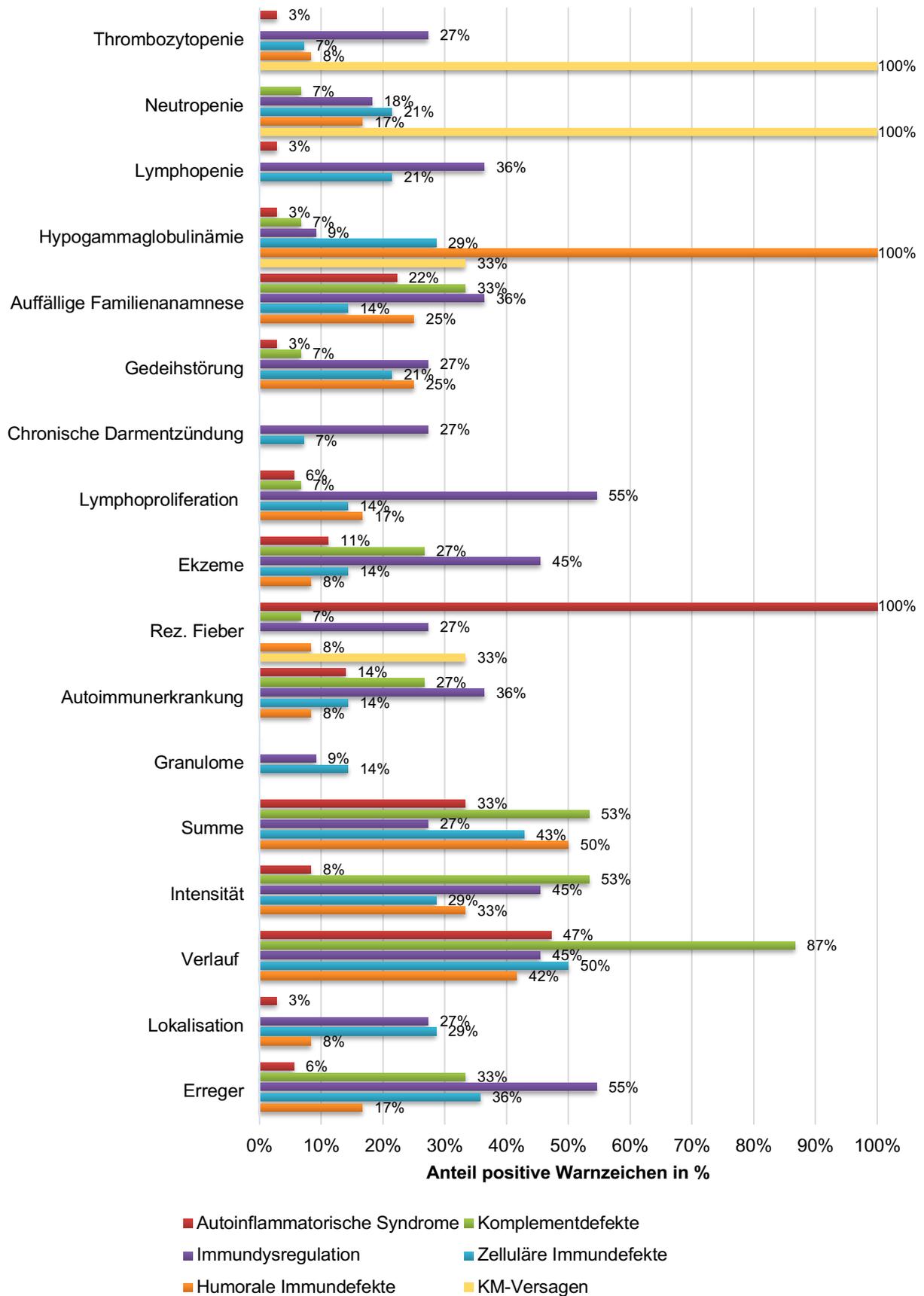


Abbildung 10: Vorkommen der Warnzeichen der AWMF-Leitlinie innerhalb der Immundefektgruppen

6.2.3 Düsseldorf Warnzeichen mit maximalem NPV

Es wurde untersucht, ob das Auftreten mindestens eines positiven Düsseldorf Warnzeichens mit maximalem NPV auf einen Immundefekt bzw. die Art des Immundefekts hinweist. Dadurch sollen die Düsseldorf Warnzeichen mit max. NPV zur Diagnostik von Immundefekten evaluiert werden.

In dieser Erhebung war in beiden untersuchten Gruppen – Kinder mit und ohne Immundefekt – der Anteil jener Kinder gleich groß, die mindestens ein positives Düsseldorf Warnzeichen mit max. NPV zeigten (Immundefekt: 49,5%; n=45; vs. ohne Immundefekt: 47%; n=71). Somit wies die Hälfte der Kinder mit einem Immundefekt (50,5% (n=46) kein positives Warnzeichen auf.

Alle Kinder mit humoralen Immundefekten (100%; n=12) ließen mindestens ein positives Warnzeichen erkennen. Die meisten Kinder mit einer Immundysregulation wiesen positive Warnzeichen auf (91%; n=10). In den Gruppen des zellulären Immundefekts (57%; n=8) und des Komplementdefekts (47%; n=7) vs. ohne Immundefekt (47%; n=71) war der Anteil jener Kinder annähernd gleich groß, die mindestens ein oder mehr positive Warnzeichen zeigten. Bei Kindern mit KM-versagen lagen mit 33% (n=1) und bei Kindern mit autoinflammatorischem Syndrom mit 19% (n=7) nur wenige positive Warnzeichen vor. (Tab. 13)

Tabelle 13: Anteil der Kinder mit und ohne Immundefekt nach den Düsseldorf Testkriterien mit maximalen NPV eingeteilt nach Art des Immundefekts

| Immundefekt | Warnzeichen | Immundefekt Ja | | Immundefekt Nein | |
|--------------------------------------|-------------|----------------|-----|------------------|----|
| | | n | % | n | % |
| Gesamtkohorte (n=243) | Positiv | 45 | 50 | 71 | 47 |
| | Negativ | 46 | 51 | 81 | 53 |
| Autoinflammatorische Syndrome (n=36) | Positiv | 7 | 19 | 71 | 47 |
| | Negativ | 29 | 81 | 81 | 53 |
| Komplementdefekte (n=15) | Positiv | 7 | 47 | 71 | 47 |
| | Negativ | 8 | 53 | 81 | 53 |
| Immundysregulation (n=11) | Positiv | 10 | 91 | 71 | 47 |
| | Negativ | 1 | 9 | 81 | 53 |
| Zelluläre Immundefekte (n=14) | Positiv | 8 | 57 | 71 | 47 |
| | Negativ | 6 | 43 | 81 | 53 |
| Humorale Immundefekte (n=12) | Positiv | 12 | 100 | 71 | 47 |
| | Negativ | 0 | 0 | 81 | 53 |
| KM-Versagen (n=3) | Positiv | 1 | 33 | 71 | 47 |
| | Negativ | 2 | 67 | 81 | 53 |

6.2.3.1 Wertigkeit der Warnzeichen

An dieser Stelle wurde die Wertigkeit der Düsseldorfer Warnzeichen mit max. NPV zur Diagnostik eines Immundefekts anhand des diagnostischen Tests untersucht.

Bei der Diagnose eines Immundefekts zeigten die Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalen NPV eine Sensitivität von 50% sowie eine ähnliche Spezifität von 53%. Der PPV lag bei 39%, und der NPV bei 64%.

Zur klinischen Diagnose eines humoralen Immundefekts sowie eines Immundefekts mit Immundysregulation lag die Sensitivität bei 100% und 91% – für die Diagnose eines zellulären Immundefekts bei 57% und eines Komplementdefekts bei 47%. Die Sensitivität für die Diagnose eines Syndroms mit KM-Versagen und eines autoinflammatorischen Syndroms war mit 33% und 19% niedrig. Der NPV lag für alle Immundefektgruppen bei über 90%, ausgenommen die autoinflammatorischen Syndrome mit 74%. Der PPV war mit 15% für die humoralen Immundefekte am höchsten und lag für die weiteren Gruppen meist um die 10%. (Tab. 14)

Tabelle 14: Vergleich der Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalen NPV innerhalb der unterschiedlichen Immundefektgruppen
[PPV = positiv prädiktiver Wert; NPV = negativ prädiktiver Wert]

| Warnzeichen | Sensitivität | Spezifität | PPV | NPV |
|--------------------------------------|--------------|------------|-----|------|
| Gesamtkohorte (n=243) | 50% | 53% | 39% | 64% |
| Autoinflammatorische Syndrome (n=36) | 19% | 53% | 9% | 74% |
| Komplementdefekte (n=15) | 47% | 53% | 9% | 91% |
| Immundysregulation (n=11) | 91% | 53% | 12% | 99% |
| Zelluläre Immundefekte (n=14) | 57% | 53% | 10% | 93% |
| Humorale Immundefekte (n=12) | 100% | 53% | 15% | 100% |
| KM-Versagen (n=3) | 33% | 53% | 1% | 98% |

6.2.3.2 Vorkommen der Warnzeichen für Immundefekte

Hier wurde die Verteilung der einzelnen Düsseldorfer Warnzeichen mit max. NPV für das Vorhandensein eines Immundefekts untersucht. Ziel war es zu ermitteln, welche Warnzeichen auf einen Immundefekt hinweisen.

Alle Warnzeichen der Düsseldorfer Kriterien mit max. NPV traten in diesem Patientenkollektiv auf und wurden meist häufiger von Kindern mit Immundefekt als von Kindern ohne Immundefekt gezeigt.

Bei Kindern mit einem Immundefekt kam das Kriterium i. v. Antibiotika mit 31% (n=28) am häufigsten vor. Bei Kindern ohne Immundefekt trat es bei 22% (n=33) auf. Weitere

Warnzeichen die erkennbar wurden und häufiger von Kindern mit Immundefekt also ohne Immundefekt erfüllt wurden waren folgende: Hypogammaglobulinämie mit 21% (n=19), Gedeihstörung mit 12% (n=11) und Lymphopenie mit 9% (n=8).

Das Kriterium rezidivierende Abszesse wurde von den Kindern ohne Immundefekt mit 13% (n=20) häufiger erfüllt. Bei Kindern mit Immundefekt kam es bei 7% (n=6) vor. (Abb. 11)

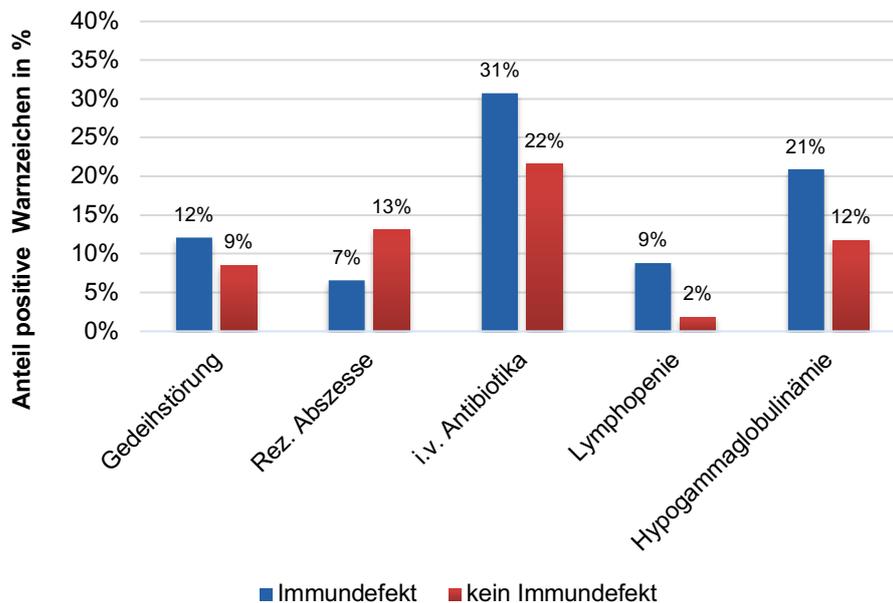


Abbildung 11: Vorkommen der Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem NPV bei Kindern mit und ohne Immundefekt

6.2.3.3 Vorkommen der Warnzeichen in den Immundefektgruppen

Es wurde die Verteilung der einzelnen Düsseldorfer Warnzeichen mit max. NPV innerhalb der Immundefektgruppen untersucht. Ziel war es zu eruieren welche Warnzeichen bei den jeweiligen Immundefekten am häufigsten vorkommen, um den Verdacht auf einen Immundefekt anhand klinischer Warnzeichen zu verbessern.

Es fiel auf, dass in den meisten Immundefektgruppen das Kriterium i. v. Antibiotika am häufigsten erfüllt wurde: bei Kindern mit Immundysregulation zu 82% (n=9), mit Komplementdefekt zu 40% (n=6), mit zellulärem Immundefekt zu 36% (n=5) und mit autoinflammatorischem Syndrom zu 14% (n=5).

Bei Kindern mit autoinflammatorischen Syndromen und Komplementdefekten kamen die anderen Warnzeichen selten bzw. einmalig vor.

Die Kinder mit Immundysregulation zeigten die meisten Warnzeichen. Dabei traten rezidivierende Abszesse und Lymphopenie mit jeweils 36% (jeweils n=4) häufig auf. Gedeihstörung kam mit 27% (n=3) vermehrt vor.

Außerdem wurden die Kriterien Gedeihstörung und i. v. Antibiotika mit jeweils 25% (n=3) erfüllt. Lediglich ein Kind mit einem Syndrom mit KM-Versagen fiel durch Hypogammaglobulinämie auf (33%; n=1). (Abb. 12)

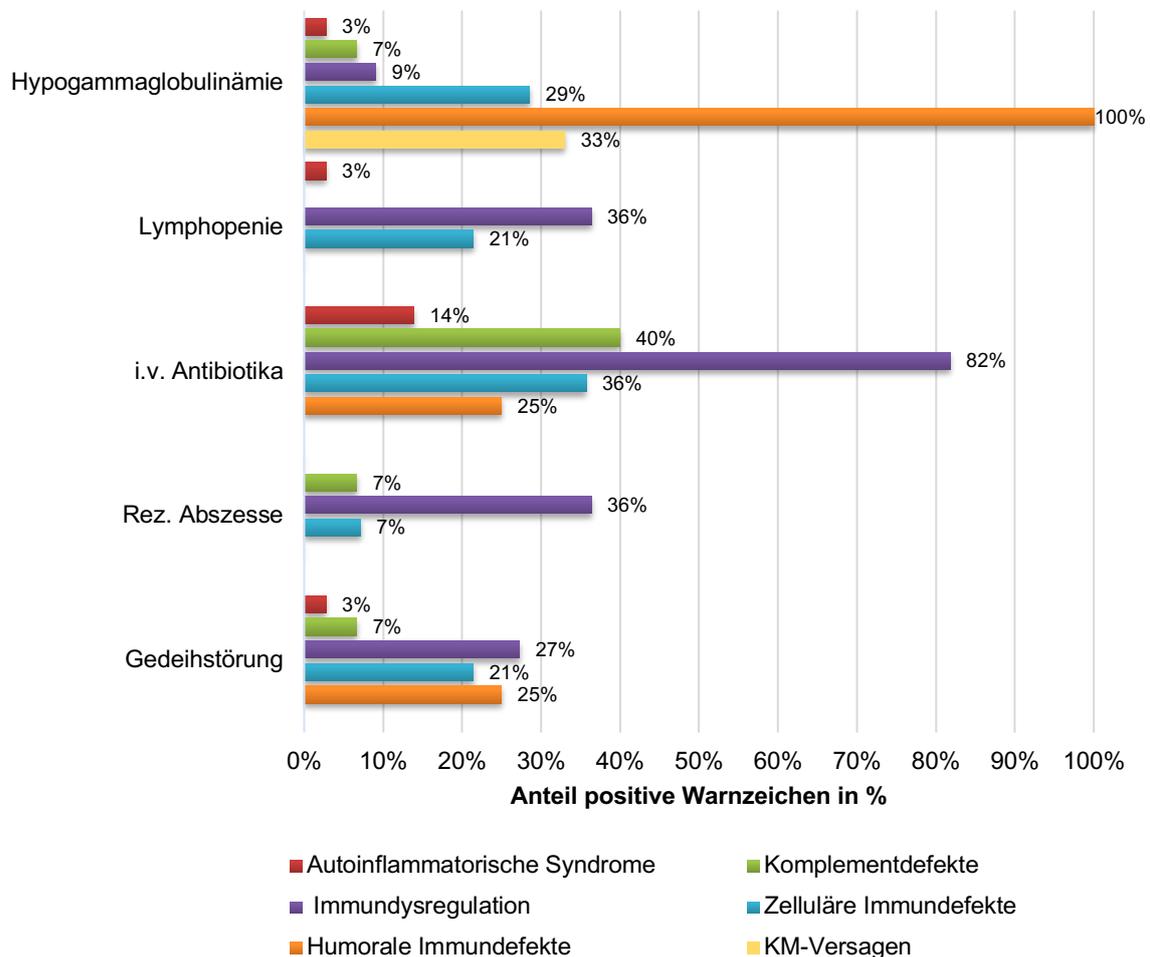


Abbildung 12: Vorkommen der Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem NPV innerhalb der Immundefektgruppen

6.2.4 Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem Youden-Index

Es wurde untersucht, ob das Auftreten mindestens eines positiven Düsseldorfer Warnzeichens mit maximalem Youden-Index auf einen Immundefekt bzw. die Art des Immundefektes hinweist. Dadurch sollen die neuen klinischen Düsseldorfer Warnzeichen mit max. Youden-Index zur Diagnostik von Immundefekten evaluiert werden.

Hier ergab sich, dass Kinder mit einem Immundefekt etwas häufiger mindestens ein oder mehr positive Düsseldorfer Warnzeichen mit max. Youden-Index als Kinder ohne Immundefekt zeigten (Immundefekt: 22%; n=20 vs. ohne Immundefekt: 16%; n=24). Die Mehrheit der Kinder mit einem Immundefekt wies jedoch kein positives Warnzeichen auf (78%; n=71).

Die Immundefekte mit Immundysregulation ließen mit 55% (n=6) – im Vergleich zu den anderen Immundefektgruppen – am häufigsten positive Düsseldorf Warnzeichen mit max. Youden-Index erkennen. Die Kinder mit zellulären Immundefekten wiesen zu 36% (n=5) positive Warnzeichen auf, die Kinder mit humoralem Immundefekt zu 33% (n=4) und die Kinder mit Komplementdefekt zu 27% (n=4). In der Gruppe der autoinflammatorischen Syndrome hatte mit 3% (n=1) nur ein Kind mindestens ein oder mehr positive Warnzeichen. Kinder mit KM-Versagen erfüllten kein einziges positives Warnzeichen. (Tab. 15)

Tabelle 15: Anteil der Kinder mit und ohne Immundefekt nach den Düsseldorf Testkriterien mit maximalem Youden-Index eingeteilt nach der Art des Immundefekts

| Immundefekt | Warnzeichen | Immundefekt Ja | | Immundefekt Nein | |
|--------------------------------------|-------------|----------------|-----|------------------|----|
| | | n | % | n | % |
| Gesamtkohorte (n=243) | Positiv | 20 | 22 | 24 | 16 |
| | Negativ | 71 | 78 | 128 | 84 |
| Autoinflammatorische Syndrome (n=36) | Positiv | 1 | 3 | 24 | 16 |
| | Negativ | 35 | 97 | 128 | 84 |
| Komplementdefekte (n=15) | Positiv | 4 | 27 | 24 | 16 |
| | Negativ | 11 | 73 | 128 | 84 |
| Immundysregulation (n=11) | Positiv | 6 | 55 | 24 | 16 |
| | Negativ | 5 | 45 | 128 | 84 |
| Zelluläre Immundefekte (n=14) | Positiv | 5 | 36 | 24 | 16 |
| | Negativ | 9 | 64 | 128 | 84 |
| Humorale Immundefekte (n=12) | Positiv | 4 | 33 | 24 | 16 |
| | Negativ | 8 | 67 | 128 | 84 |
| KM-Versagen (n=3) | Positiv | 0 | 0 | 24 | 16 |
| | Negativ | 3 | 100 | 128 | 84 |

6.2.4.1 Wertigkeit der Warnzeichen

An dieser Stelle wurde die Wertigkeit der Düsseldorf Warnzeichen mit max. Youden-Index zur Diagnostik eines Immundefekts anhand des diagnostischen Tests untersucht.

Zur Diagnose eines Immundefekts zeigten die Düsseldorf Warnzeichen mit maximalem Youden-Index eine niedrige Sensitivität von 22% im Gegensatz zu einer hohen Spezifität von 84%. Der PPV lag bei 45% und der NPV bei 64%.

Die Düsseldorf Warnzeichen mit max. Youden-Index zeigten für die Diagnose eines Immundefekts mit Immundysregulation eine Sensitivität von 55%. Die Sensitivität sowohl für die Diagnose eines zellulären Immundefekts mit 36%, als auch für die Diagnose eines humoralen Immundefekts mit 33% und eines Komplementdefekts mit 27% war etwas geringer. Bei einer Sensitivität von 3% wurden die autoinflammatorischen Syndrome selten erkannt. Der NPV war hoch und lag für die meisten Immundefektgruppen bei über 90%.

Der PPV war insgesamt niedrig, am höchsten (20%) für die Immundefekte mit Immundysregulation. (Tab. 16)

Tabelle 16: Vergleich der Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalen Youden-Index innerhalb der unterschiedlichen Immundefektgruppen
[PPV = positiv prädiktiver Wert; NPV = negativ prädiktiver Wert]

| Warnzeichen | Sensitivität | Spezifität | PPV | NPV |
|--------------------------------------|--------------|------------|-----|-----|
| Gesamtkohorte (n=243) | 22% | 84% | 45% | 64% |
| Autoinflammatorische Syndrome (n=36) | 3% | 84% | 4% | 79% |
| Komplementdefekte (n=15) | 27% | 84% | 14% | 92% |
| Immundysregulation (n=11) | 55% | 84% | 20% | 96% |
| Zelluläre Immundefekte (n=14) | 36% | 84% | 17% | 93% |
| Humorale Immundefekte (n=12) | 33% | 84% | 14% | 94% |
| KM-Versagen (n=3) | 0% | 84% | 0% | 98% |

6.2.4.2 Vorkommen der Warnzeichen für Immundefekte

Hier wurde die Verteilung der einzelnen Düsseldorfer Warnzeichen mit max. Youden-Index für das Vorhandensein eines Immundefekts untersucht. Ziel war es zu ermitteln, welche Warnzeichen auf einen Immundefekt hinweisen.

Alle Warnzeichen der Düsseldorfer Kriterien mit max. Youden-Index wurden in diesem Patientenkollektiv beobachtet und wurden meistens häufiger von Kindern mit Immundefekt als von Kindern ohne Immundefekt erfüllt.

Von Kindern mit einem Immundefekt wurde das Kriterium Gedeihstörung mit 12% (n=11) am häufigsten erfüllt, von Kindern ohne Immundefekt hingegen mit 9% (n=13).

Die Warnzeichen Lymphopenie mit 9% (n=8) und ≥ 2 Pneumonien/Jahr mit 4% (n=4) traten häufiger bei Kindern mit Immundefekt als ohne Immundefekt auf.

Das Kriterium rezidivierende Otitiden kam bei Kindern ohne Immundefekt mit 5% (n=8) häufiger vor als bei Kindern mit Immundefekt (1%; n=1). (Abb. 13)

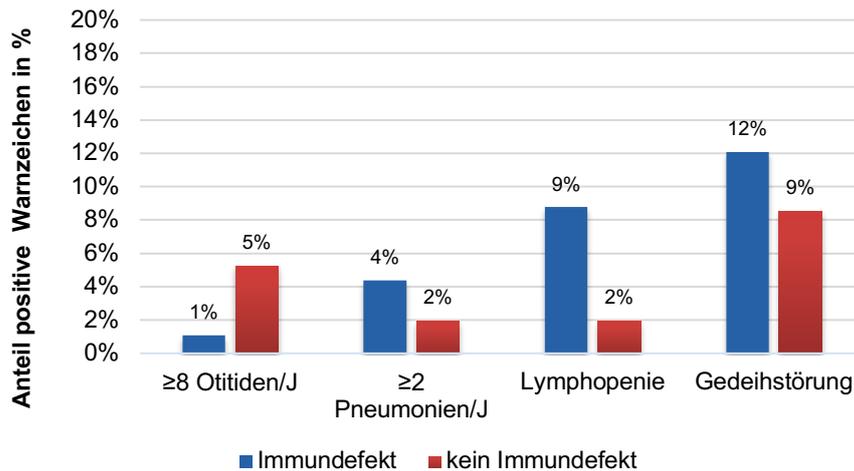


Abbildung 13: Vorkommen der Düsseldorf Warnzeichen mit maximalem Youden-Index bei Kindern mit und ohne Immundefekt

6.2.4.3 Vorkommen der Warnzeichen in den Immundefektgruppen

Es wurde die Verteilung der einzelnen Düsseldorf Warnzeichen mit max. Youden-Index innerhalb der Immundefektgruppen untersucht. Damit sollte herausgefunden werden, welche Warnzeichen bei den jeweiligen Immundefekten am häufigsten vorkommen, um den Verdacht auf einen Immundefekt anhand klinischer Warnzeichen zu erhärten.

Kindern mit autoinflammatorischem Syndrom zeigten die Düsseldorf Warnzeichen mit max. Youden-Index selten. Einmalig kamen die Kriterien Gedeihstörung und Lymphopenie mit jeweils 3% (n=1) vor.

Von Kindern mit einem Komplementdefekt wurde das Kriterium ≥ 2 Pneumonien/Jahr mit 13% (n=2) am häufigsten erfüllt – von Kindern mit Immundysregulation die Kriterien Lymphopenie mit 36% (n=4), gefolgt von Gedeihstörung mit 27% (n=3); bei Kindern mit zellulären Immundefekten traten die Warnzeichen Gedeihstörung und Lymphopenie mit jeweils 21% (n=3) und bei Kindern mit humoralem Immundefekt die Kriterien Gedeihstörung mit 25% (n=3) gefolgt von ≥ 2 Pneumonien/Jahr mit 17% (n=2) auf. (Abb. 14)

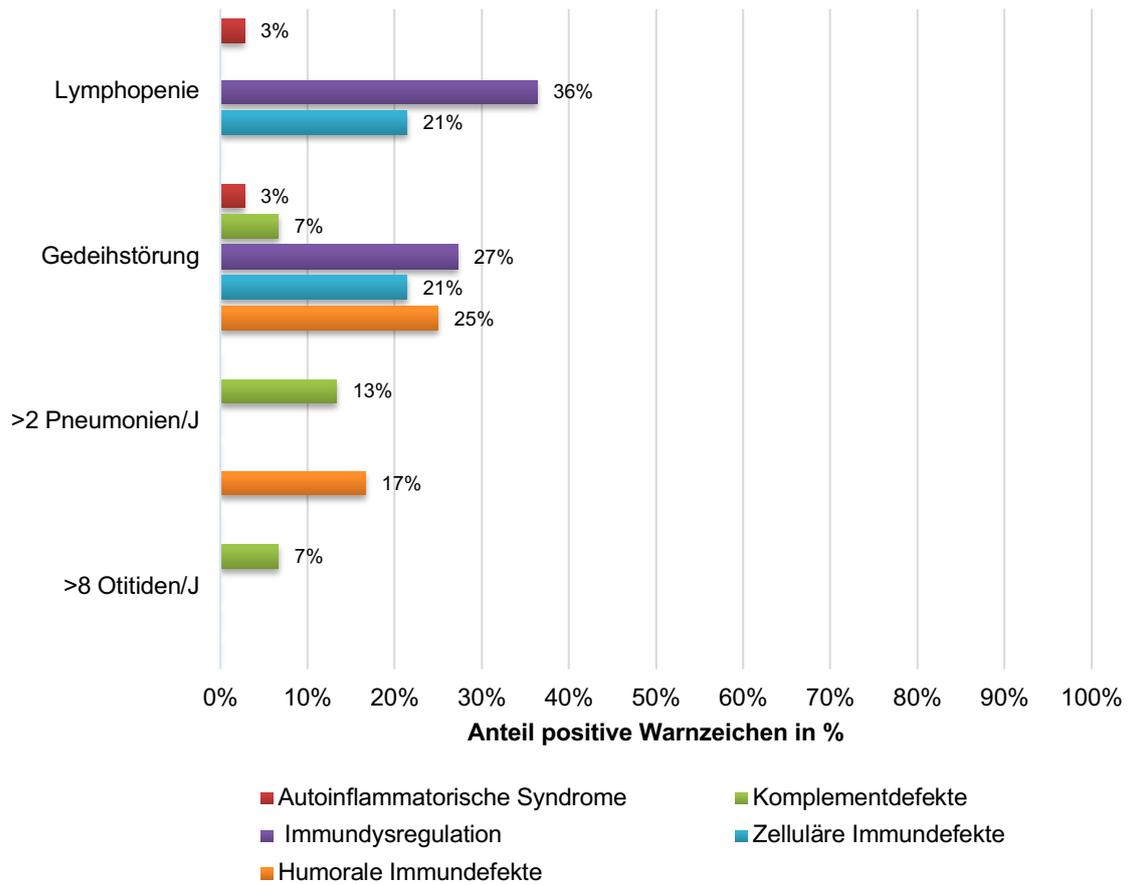


Abbildung 14: Vorkommen der Düsseldorf Warnzeichen mit maximalem Youden-Index innerhalb der Immundefektgruppen

6.3 Labordiagnostik bei spezifischen Immundefekten

Abhängig von der Art des Immundefekts wurden bestimmte Laborwerte untersucht. Das Ziel bestand darin, deren Vorkommen innerhalb der Immundefektgruppen festzustellen, um möglicherweise einen spezifischen Immundefekt diagnostizieren zu können.

6.3.1 Autoinflammatorische Syndrome

Patienten mit autoinflammatorischem Syndrom zeigten mit 60% (n=18) einen erhöhten Calprotectin-Wert im Serum. Bei 24% (n=7) wurde ein erhöhter Serum Amyloid-A Wert nachgewiesen. (Tab. 17)

Tabelle 17: Auffällige Laborwerte bei Patienten mit autoinflammatorischen Syndromen

| Laborwert | | Autoinflammatorische Syndrome (n=36) | | kein Immundefekt (n=152) | |
|--|------|--------------------------------------|----|--------------------------|---|
| | | n | % | n | % |
| Calprotectin (S100A8/A99) erhöht: >2940ng/ml | Ja | 18 | 60 | 0 | 0 |
| | Nein | 12 | 40 | 0 | 0 |
| Serum Amyloid A erhöht > 6,40mg/l | Ja | 7 | 24 | 0 | 0 |
| | Nein | 22 | 76 | 0 | 0 |

6.3.2 Komplementdefekte

Alle Kinder mit einem Komplementdefekt wiesen Auffälligkeiten im Komplementweg auf. Bei allen waren Auffälligkeiten im MBL-Weg (100%; n=15) feststellbar. (Tab. 18)

Tabelle 18: Auffällige Laborwerte bei Patienten mit Komplementdefekten

| Laborwert | | Komplementdefekte (n=15) | | kein Immundefekt (n=152) | |
|---------------------------------------|------|--------------------------|-----|--------------------------|----|
| | | n | % | n | % |
| Komplement Klassischer Weg auffällig | Ja | 2 | 13 | 5 | 3 |
| | Nein | 13 | 87 | 147 | 97 |
| Komplement alternativer Weg auffällig | Ja | 1 | 7 | 2 | 1 |
| | Nein | 14 | 93 | 150 | 99 |
| MBL-Weg auffällig | Ja | 15 | 100 | 4 | 3 |
| | Nein | 0 | 0 | 148 | 97 |

6.3.3 Zelluläre Immundefekte

Bei Kindern mit zellulärem Immundefekt traten überwiegend mit 50% (n=7) eine Verminderung der CD4⁺-T-Zellen auf sowie mit 43% (n=6) eine Verminderung der Gesamt-T-Zell-Zahl auf. Relativ häufig erschienen eine Verminderung der CD8⁺-T-Zellen sowie eine Hypogammaglobulinämie mit 29% (jeweils n=4) auf. Der Granulozytenfunktionstest, der oxidative Burst wurde nur bei 2 Kindern durchgeführt, bei einem Kind war dieser auffällig. Die Adhäsion der Granulozyten, die nur bei einem Kind durchgeführt wurde, erwies sich als unauffällig. (Tab. 19)

Tabelle 19: Auffällige Laborwerte bei Patienten mit zellulären Immundefekten

| Laborwert | | Zelluläre Immundefekte (n=14) | | kein Immundefekt (n=152) | |
|---------------------------------------|------|-------------------------------|-----|--------------------------|-----|
| | | n | % | n | % |
| Lymphopenie | Ja | 3 | 21 | 3 | 2 |
| | Nein | 11 | 79 | 149 | 98 |
| Leukopenie | Ja | 3 | 21 | 12 | 8 |
| | Nein | 11 | 79 | 140 | 92 |
| Neutropenie | Ja | 3 | 21 | 15 | 10 |
| | Nein | 11 | 79 | 137 | 90 |
| Thrombozytopenie | Ja | 1 | 7 | 5 | 3 |
| | Nein | 13 | 93 | 147 | 97 |
| T-Zellen verringert | Ja | 5 | 36 | 4 | 3 |
| | Nein | 9 | 64 | 148 | 97 |
| CD4 ⁺ -T-Zellen verringert | Ja | 7 | 50 | 2 | 1 |
| | Nein | 7 | 50 | 150 | 99 |
| CD8 ⁺ -T-Zellen verringert | Ja | 4 | 29 | 2 | 1 |
| | Nein | 10 | 71 | 150 | 99 |
| B-Zellen verringert | Ja | 2 | 14 | 12 | 8 |
| | Nein | 12 | 86 | 140 | 92 |
| NK Zellen verringert | Ja | 2 | 14 | 7 | 5 |
| | Nein | 12 | 86 | 145 | 95 |
| Hypogammaglobulinämie | Ja | 4 | 29 | 18 | 12 |
| | Nein | 10 | 71 | 134 | 88 |
| Oxidativer Burst auffällig | Ja | 1 | 50 | 0 | 0 |
| | Nein | 1 | 50 | 50 | 100 |
| Adhäsion Granulozyten auffällig | Ja | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Nein | 1 | 100 | 51 | 100 |

6.3.4 Humorale Immundefekte

Die meisten Patienten mit humoralem Immundefekt hatten einen erniedrigten Serum-IgG (75%; n=9) gefolgt von einer IgA-Verminde- rung (42%, n=5) und einer IgG-Subklasse-1- Verminderung (42%; n=5) Impftiter wurden bei 11 von den 12 Kindern nachgewiesen (92%). (Tab. 20)

Tabelle 20: Auffällige Laborwerte bei Patienten mit humoralen Immundefekten

| Laborwert | | Humorale Immundefekte (n=12) | | kein Immundefekt (n=152) | |
|---|-----------|------------------------------|-----|--------------------------|----|
| | | n | % | n | % |
| Hypogammaglobulinämie | Ja | 12 | 100 | 18 | 12 |
| | Nein | 0 | 0 | 134 | 88 |
| IgG erniedrigt | Ja | 9 | 75 | 5 | 3 |
| | Nein | 3 | 25 | 147 | 97 |
| IgA erniedrigt | Ja | 5 | 42 | 8 | 5 |
| | Nein | 7 | 58 | 144 | 95 |
| IgM erniedrigt | Ja | 3 | 25 | 7 | 5 |
| | Nein | 9 | 75 | 145 | 95 |
| IgG Subklasse 1 erniedrigt | Ja | 5 | 42 | 5 | 3 |
| | Nein | 7 | 58 | 147 | 97 |
| IgG Subklasse 2 erniedrigt | Ja | 3 | 25 | 1 | 1 |
| | Nein | 9 | 75 | 151 | 99 |
| IgG Subklasse 3 erniedrigt | Ja | 1 | 8 | 2 | 1 |
| | Nein | 11 | 92 | 150 | 99 |
| IgG Subklasse 4 erniedrigt | Ja | 2 | 17 | 2 | 1 |
| | Nein | 10 | 83 | 150 | 99 |
| Impftiter Nachweisbarkeit (Tetanus, Diphtherie) | vorhanden | 9 | 75 | 128 | 84 |
| | schwach | 0 | 0 | 2 | 1 |
| | keine | 1 | 8 | 5 | 3 |

6.3.5 Immundefekte mit Immundysregulation

Kinder mit einer Immundysregulation hatten am häufigsten mit 36% (jeweils n=4) eine Lymphopenie, eine Verringerung der NK-Zellzahl und eine erhöhte Serum-IgE-Konzentration. Relativ häufig mit 27% (n=3) waren eine Thrombozytopenie, eine Verminderung der CD4⁺-T-Zellen und erhöhte ANAs feststellbar. (Tab. 21)

Tabelle 21: Auffällige Laborwerte bei Patienten mit Immundysregulation

| Laborwert | | Immundysregulation (n=11) | | kein Immundefekt (n=152) | |
|---------------------------------------|------|------------------------------|----|-----------------------------|----|
| | | n | % | n | % |
| Lymphopenie | Ja | 4 | 36 | 3 | 2 |
| | Nein | 7 | 64 | 149 | 98 |
| Leukopenie | Ja | 2 | 18 | 12 | 8 |
| | Nein | 9 | 82 | 140 | 92 |
| Neutropenie | Ja | 2 | 18 | 15 | 10 |
| | Nein | 9 | 82 | 137 | 90 |
| Thrombozytopenie | Ja | 3 | 27 | 5 | 3 |
| | Nein | 8 | 73 | 147 | 97 |
| T-Zellen verringert | Ja | 2 | 18 | 4 | 3 |
| | Nein | 9 | 82 | 148 | 97 |
| CD4 ⁺ -T-Zellen verringert | Ja | 3 | 27 | 2 | 1 |
| | Nein | 8 | 73 | 150 | 99 |
| CD8 ⁺ -T-Zellen verringert | Ja | 2 | 18 | 2 | 1 |
| | Nein | 9 | 82 | 150 | 99 |
| B-Zellen verringert | Ja | 2 | 18 | 12 | 8 |
| | Nein | 9 | 82 | 140 | 92 |
| NK Zellen verringert | Ja | 4 | 36 | 7 | 5 |
| | Nein | 7 | 64 | 145 | 95 |
| Eosinophilie | Ja | 2 | 18 | 7 | 5 |
| | Nein | 9 | 82 | 145 | 95 |
| IgE erhöht | Ja | 4 | 36 | 29 | 19 |
| | Nein | 7 | 64 | 123 | 81 |
| ANAs > 1:320 | Ja | 3 | 27 | 7 | 5 |
| | Nein | 8 | 73 | 142 | 95 |

6.3.6 Syndrome mit Knochenmarkversagen

Kinder mit Syndromen mit Knochenmarkversagen hatten alle (100%; n=3) eine Neutropenie, Thrombozytopenie und eine verminderte B-Zell-Zahl. Zwei von drei Kindern (67%) wiesen zusätzlich eine Leukopenie auf. (Tab. 22)

Tabelle 22: Auffällige Laborwerte bei Patienten mit Knochenmarkversagen

| Laborwert | | Syndrome mit Knochenmarkversagen (n=3) | | kein Immundefekt (n=152) | |
|---------------------------------------|------|--|-----|--------------------------|----|
| | | n | % | n | % |
| Lymphopenie | Ja | 0 | 0 | 3 | 2 |
| | Nein | 3 | 100 | 149 | 98 |
| Leukopenie | Ja | 2 | 67 | 12 | 8 |
| | Nein | 1 | 33 | 140 | 92 |
| Neutropenie | Ja | 3 | 100 | 15 | 10 |
| | Nein | 0 | 0 | 137 | 90 |
| Thrombozytopenie | Ja | 3 | 100 | 5 | 3 |
| | Nein | 0 | 0 | 147 | 97 |
| T-Zellen verringert | Ja | 0 | 0 | 4 | 3 |
| | Nein | 3 | 100 | 148 | 97 |
| CD4 ⁺ -T-Zellen verringert | Ja | 1 | 33 | 2 | 1 |
| | Nein | 2 | 67 | 150 | 99 |
| CD8 ⁺ -T-Zellen verringert | Ja | 0 | 0 | 2 | 1 |
| | Nein | 3 | 100 | 150 | 99 |
| B-Zellen verringert | Ja | 3 | 100 | 12 | 8 |
| | Nein | 0 | 0 | 140 | 92 |
| NK Zellen verringert | Ja | 1 | 33 | 7 | 5 |
| | Nein | 2 | 67 | 145 | 95 |
| Hypogammaglobulinämie | Ja | 1 | 33 | 18 | 12 |
| | Nein | 2 | 67 | 134 | 88 |

7 Ergebnisse Teil 2

7.1 Rekonstitution des TZR-Repertoires

Mittels V β -Spectratyping wurde für vier Patientengruppen mit verschiedener Grunderkrankung das T-Zell-Rezeptor-Repertoire vor Stammzelltransplantation und an vier Zeitpunkten (Tag 30, 60, 90, 180) nach Transplantation untersucht.

Ziel war es, den Einfluss unterschiedlicher nicht maligner Grunderkrankungen [Immundefekt (n=14), Stoffwechseldefekt (n=6), Anämie/Hämoglobinopathie (n=6)] sowie maligner Erkrankungen [Leukämie (n=6)] auf die Rekonstitution des T-Zell-Rezeptor-Repertoires ein halbes Jahr nach HSZT zu analysieren.

7.1.1 TZR-Repertoire Immundefekte

Innerhalb der Patientengruppe mit Immundefekten waren die TZR-Spectratypes vor HSZT überwiegend normalverteilt (Anteil polyklonal gaussian: 73%). Dennoch zeigte ein kleiner Anteil der V β -Familien ein polyklonal verzerrtes (18%) und oligoklonales Repertoire (7%). In den ersten zwei Monaten (Tage 30, 60) nach HSZT waren die TZR-Spectratypes der Patienten mit Immundefekten weitgehend abnormal, größtenteils oligoklonal (Tag 30: 48%; Tag 60: 45%) sowie polyklonal verzerrt (Tag 30: 27%; Tag 60: 32%) verteilt. Drei Monate nach HSZT nahm die Diversität des TZR-Repertoires zu (Anteil V β -Familien polyklonal verzerrt: 43%). Ein kleiner Anteil der Patienten (n=3) wies ein teilweise normalisiertes TZR-Repertoire auf (7% V β -Familien polyklonal gaussian). Ein halbes Jahr nach HSZT waren die TZR-Spectratypes mit 67% überwiegend polyklonal verteilt (Anteil polyklonal gaussian: 24%; polyklonal verzerrt: 43%), dennoch erschien ein Drittel (33%) als reduziert (oligoklonal). (Abb. 15)

Dabei konnten fünf Patienten ein rekonstituiertes TZR-Repertoire für mindestens eine V β -Familie aufweisen. Lediglich ein Patient zeigte ein weiterhin oligoklonales TZR-Repertoire für alle untersuchten V β -Familien.

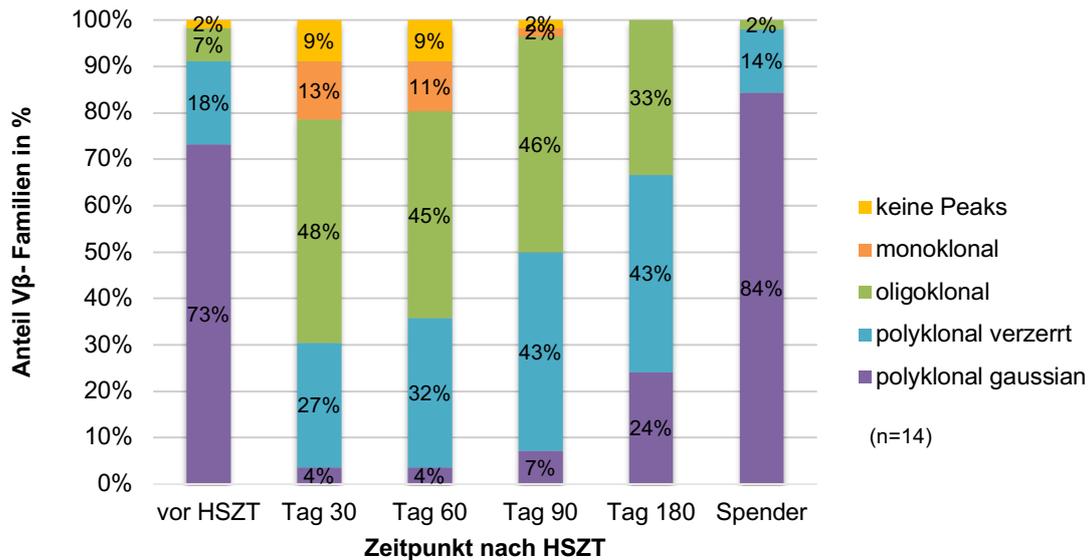


Abbildung 15: Vergleich der Klonalität des TZR-Repertoires in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten mit Immundefekten

Wird die Anzahl der Peaks betrachtet, so wird deutlich, dass in allen V β -Familien vor HSZT eine ähnlich hohe Anzahl im Vergleich zu den Stammzellspendern aufgezeichnet werden konnte (V β 2: 10 Peaks vs. 9; V β 5.1: 14 Peaks vs. 12; V β 6a: 11 Peaks vs. 10; V β 8a: 12 Peaks vs. 10,5).

Im Verlauf der Tage 30 bis 180 nach HSZT stieg in allen V β Familien die Anzahl der Peaks an. Ein halbes Jahr nach HSZT erreichten die Hälfte der V β -Familien (V β 6a und V β 8a) der Patienten mit einem Immundefekt durchschnittlich eine ähnlich hohe Anzahl an Peaks wie die Spender (V β 6a: 9 Peaks vs. 10; V β 8a: 10 Peaks vs. 10,5) – die andere Hälfte (V β 2 und V β 5.1) eine durchschnittlich etwas niedrigere Anzahl an Peaks als die Stammzellspender (V β 2: 6 Peaks vs. 9; V β 5.1: 10 Peaks vs. 12). (Abb. 16)

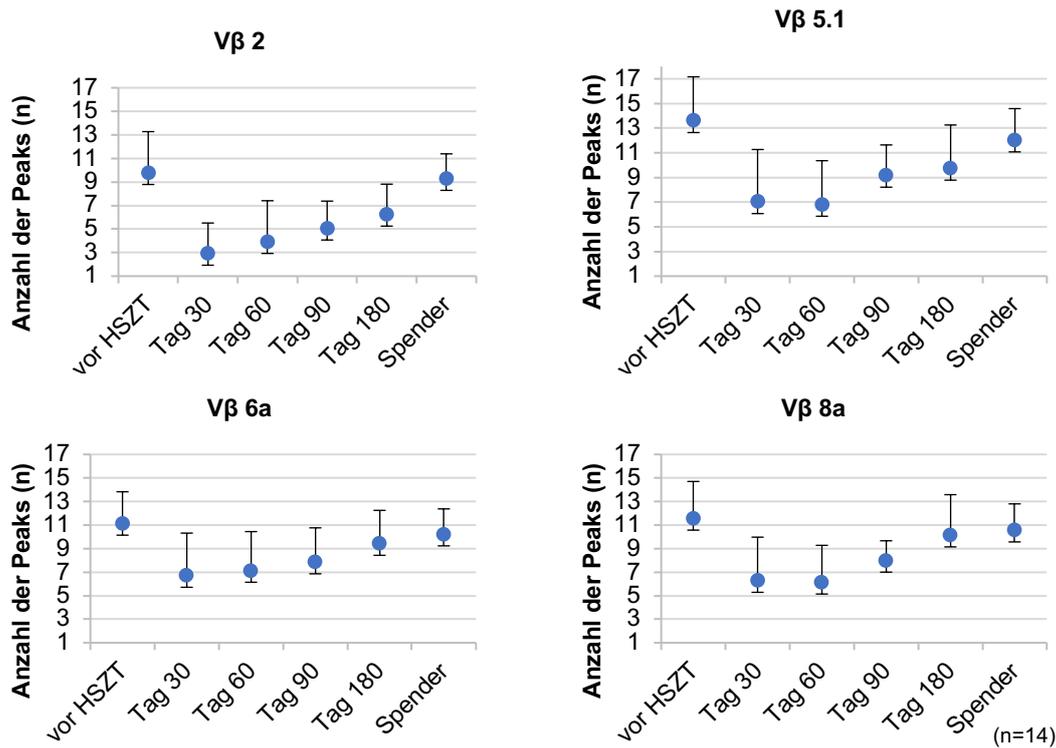


Abbildung 16: Vergleich der Anzahl der erreichten Peaks der jeweiligen Vβ-Familien (2, 5.1, 6a, 8a) in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten mit Immundefekten

7.1.2 TZR-Repertoire Stoffwechseldefekte

Innerhalb der Patientengruppe mit Stoffwechseldefekten waren die TZR-Spectratypes vor Transplantation größtenteils normalverteilt (Anteil polyklonal gaussian: 92%).

Zwei Monate nach HSZT (Tag 30, 60) waren die TZR-Spectratypes aller Patienten mit Stoffwechseldefekten abnormal, überwiegend oligoklonal verteilt (Anteil Tag 30: 52%, Tag 60: 57%). Drei Monate nach Transplantation nahm die Diversität des TZR-Repertoires zu (Anteil Vβ-Familien polyklonal verzerrt: 46%). Ein halbes Jahr nach HSZT erschienen die TZR-Spectratypes größtenteils als polyklonal verteilt (Anteil polyklonal gaussian: 38%; polyklonal verzerrt: 50%) nur noch 13% waren abnormal (oligoklonal). (Abb. 17)

Dabei zeigten vier Patienten eine Normalisierung des TZR-Repertoires für mindestens eine Vβ-Familie (38% der Vβ-Familien polyklonal gaussian).

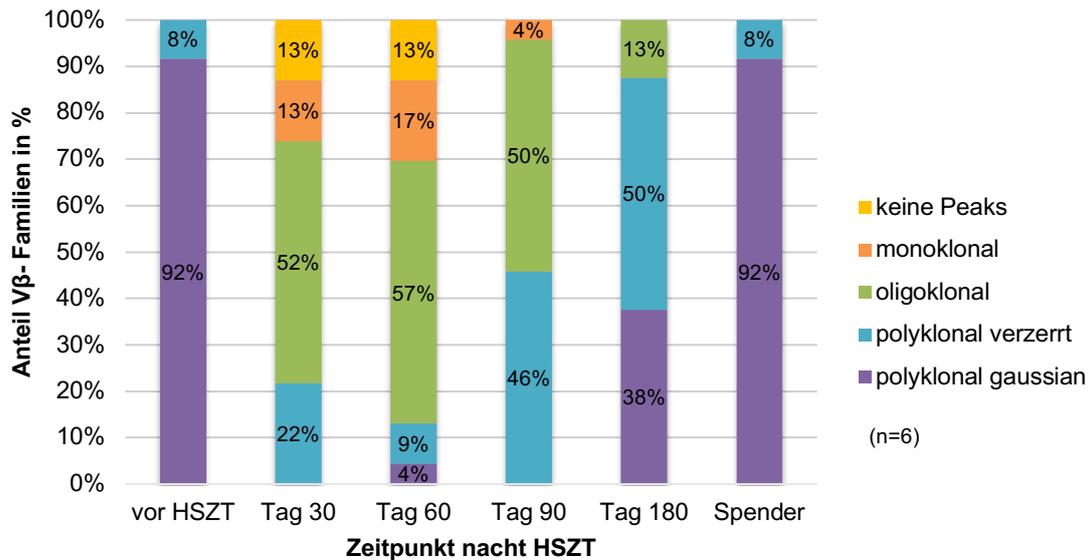


Abbildung 17: Vergleich der Klonalität des TZR-Repertoires in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten mit Stoffwechseldefekten

Vor Transplantation war die Anzahl der Peaks in allen V β -Familien mit denen der Stammzellspender vergleichbar (V β 2: 12 Peaks vs. 9; V β 5.1: 14 Peaks vs. 12; V β 6a: 11,5 Peaks vs. 10; V β 8a: 12 Peaks vs. 10,5).

Innerhalb der Tage 90 bis 180 nach HSZT war in allen V β -Familien ein Anstieg der Anzahl an Peaks festzustellen. Ein halbes Jahr nach HSZT erreichte die Hälfte der V β -Familien (V β 5.1 und V β 6a) der Patienten mit einem Stoffwechseldefekt durchschnittlich eine ähnlich hohe Anzahl an Peaks wie die Stammzellspender (V β 5.1: 13 Peaks vs. 12; V β 6a: 9,5 Peaks vs. 10) – die andere Hälfte (V β 2 und V β 8a) eine durchschnittlich niedrigere Anzahl an Peaks (V β 2: 7 Peaks vs. 9; V β 8a: 9 Peaks vs. 10,5). (Abb. 18)

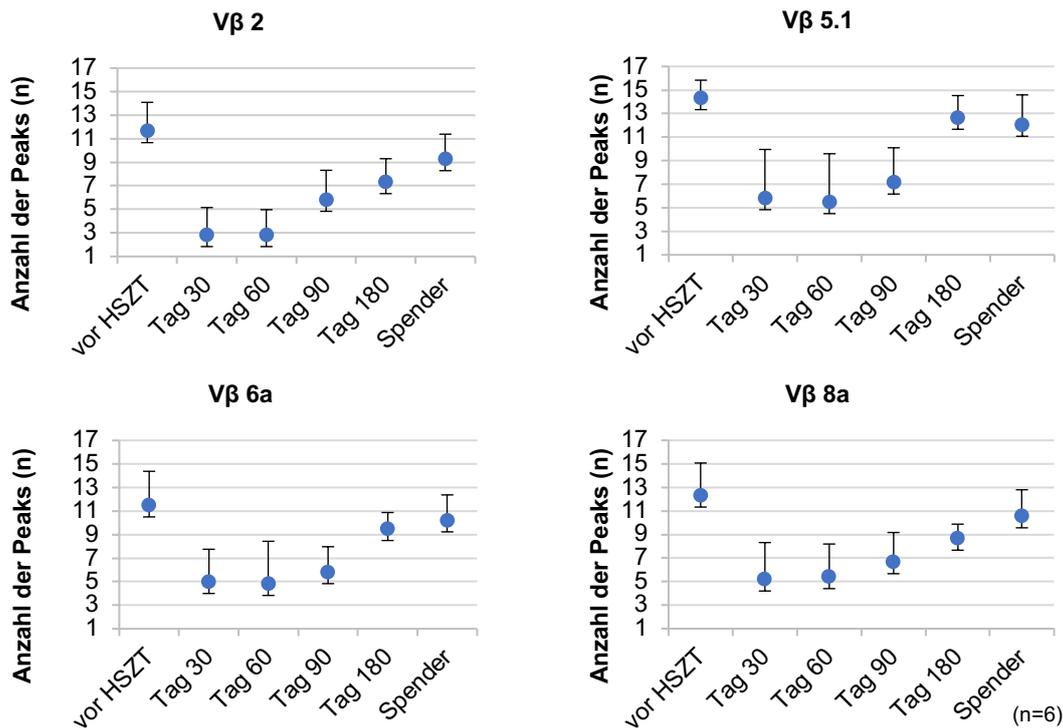


Abbildung 18: Vergleich der Anzahl der erreichten Peaks der jeweiligen Vβ-Familien (2, 5.1, 6a, 8a) in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten mit Stoffwechseldefekten

7.1.3 TZR-Repertoire Anämien/Hämoglobinopathien

Vor Stammzelltransplantation erwiesen sich die TZR-Spectratypes der Kinder mit einer Anämie/Hämoglobinopathie größtenteils als normalverteilt (Anteil polyklonal gaussian: 83%).

Innerhalb der ersten drei Monate (Tage 30, 60, 90) nach HSZT waren die TZR-Spectratypes der Patienten mit einer Anämie/Hämoglobinopathie abnormal, überwiegend oligoklonal verteilt (Tag 30: 52%, Tag 60: 75%, Tag 90: 63%) sowie ein kleinerer Anteil polyklonal verzerrt (Tag 30: 35%, Tag 60: 17%, Tag 90: 29%). Ein halbes Jahr nach HSZT stieg die Diversität der TZR-Spectratypes. Dabei erschien mit 46% die Hälfte der Spectratypes als polyklonal verteilt (Anteil polyklonal gaussian: 17%; polyklonal verzerrt: 29%) und 54% waren abnormal verteilt (Anteil oligoklonal: 50%; monoklonal: 4%). Insgesamt zeigte die Hälfte der Patienten (n=3) ein normalverteiltes TZR-Repertoire für mindestens eine Vβ-Familie (17% der Vβ-Familien polyklonal gaussian). (Abb. 19)

Dennoch ließ sich bei zwei Patienten ein weiterhin abnormales oligoklonales Repertoire für alle Vβ-Familien feststellen.

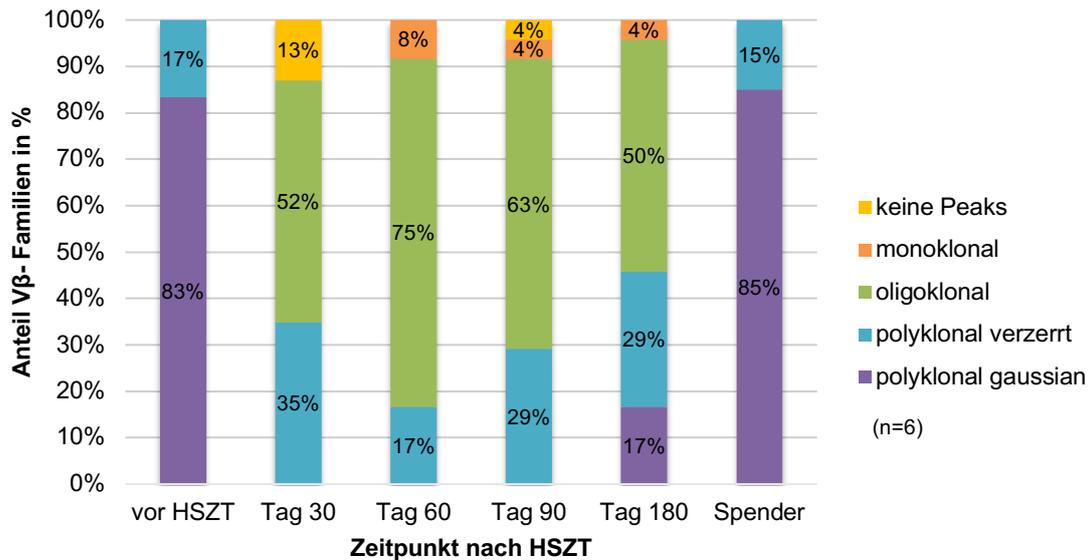


Abbildung 19: Vergleich der Klonalität des TZR-Repertoires in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten mit Anämien/Hämoglobinopathien

Vor Transplantation war die Anzahl der Peaks in allen V β -Familien mit derjenigen der Stammzellspendern vergleichbar (V β 2: 11,5 Peaks vs. 9; V β 5.1: 14 Peaks vs. 12; V β 6a: 11 Peaks vs. 10; V β 8a: 14 Peaks vs. 10,5).

Im Verlauf der Tage 90 bis 180 nach HSZT stieg die Anzahl der Peaks in den V β -Familien 5.1 und 6a an, in den V β -Familien 2 und 8a konnte nur ein geringerer Anstieg der Anzahl an Peaks festgestellt werden. Ein halbes Jahr nach HSZT erreichten die meisten V β -Familien (V β 2; V β 5.1, V β 8a) der Patienten mit einer Anämie/Hämoglobinopathie eine niedrigere Anzahl an Peaks als die Spender (V β 2: 5,5 Peaks vs. 9; V β 5.1: 8 Peaks vs. 12; V β 8a: 7,5 Peaks vs. 10,5) – die V β -Familie 6a erzielte eine ähnliche hohe Anzahl an Peaks im Vergleich zu denen den Spendern (V β 6a: 9 Peaks vs. 10). (Abb. 20)

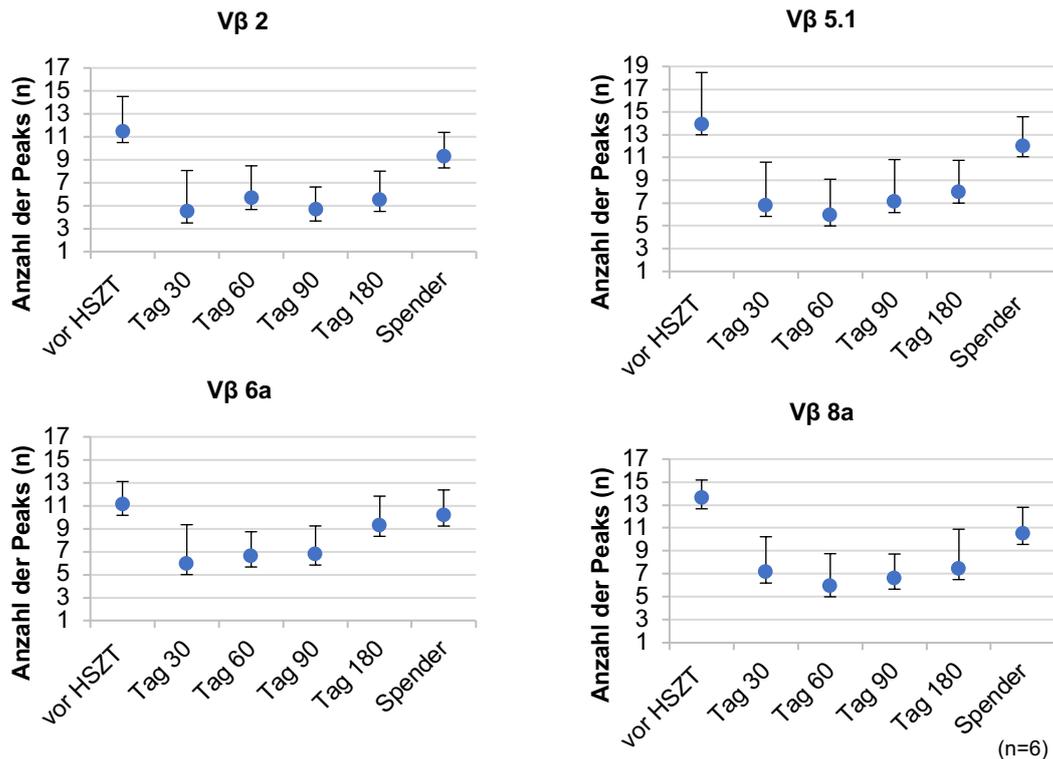


Abbildung 20: Vergleich der Anzahl der erreichten Peaks der jeweiligen Vβ-Familien (2, 5.1, 6a, 8a) in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten mit Anämien/Hämoglobinopathien

7.1.4 TZR-Repertoire Leukämien

Vor Stammzelltransplantation waren die TZR-Spectratypes der Kinder mit einer Leukämie größtenteils abnormal (Anteil oligoklonal: 29%, monoklonal: 17%, keine Vβ-Ketten nachweisbar: 21%).

Innerhalb der ersten drei Monate (Tage 30, 60, 90) nach HSZT zeigten alle Patienten mit einer Leukämie (n=6) eine geringe Diversität des TZR-Repertoires (Anteil Vβ-Familien größtenteils oligoklonal: Tag 30: 42%, Tag 60: 57%, Tag 90: 67%). Für einen Anteil der Patienten konnten für einige Vβ-Familien bis einschließlich Tag 90 nach HSZT keine Vβ-Ketten nachgewiesen werden. Ein halbes Jahr nach HSZT waren die TZR-Spectratypes weiterhin reduziert. Dabei ließen 78% der Spectratypes ein stark eingeschränktes Repertoire (70% oligoklonal) erkennen, während 21% polyklonal verteilt waren (Anteil polyklonal gaussian: 4%, polyklonal verzerrt: 17%). (Abb. 21)

Ausschließlich bei einem Patienten wurde ein normalisiertes TZR-Repertoire für eine Vβ-Familie festgestellt.

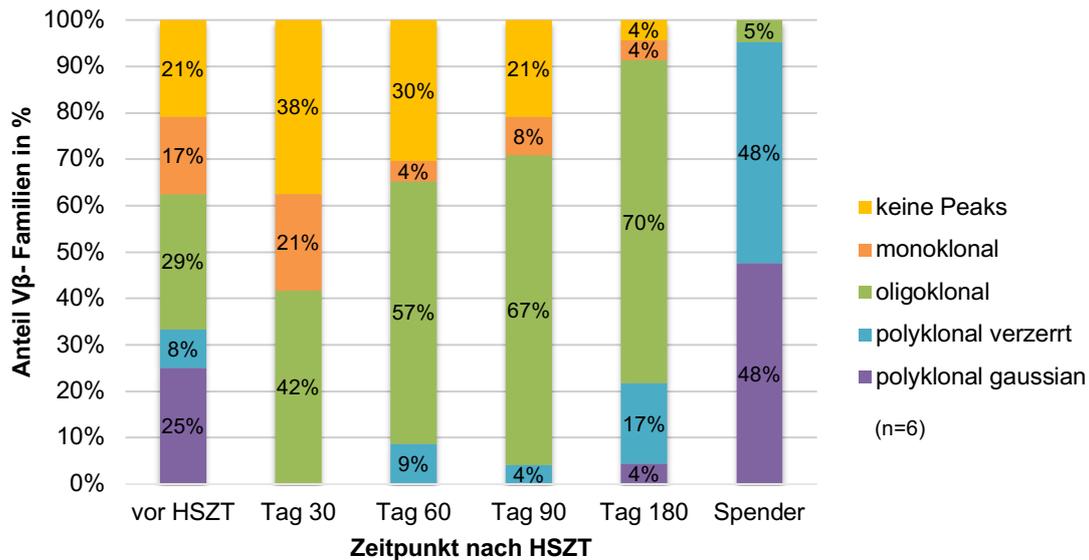


Abbildung 21: Vergleich der Klonalität des TZR-Repertoires in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten mit Leukämien

Vor Transplantation wurde in allen V β -Familien eine deutlich geringere Anzahl an Peaks im Vergleich zu den Spendern festgestellt (V β 2: 4 Peaks vs. 9; V β 5.1: 5 Peaks vs. 12; V β 6a: 5 Peaks vs. 10; V β 8a: 5 Peaks vs. 10,5).

Zwischen den Tagen 30 bis 180 nach Transplantation wurde in allen V β -Familien ein Anstieg der Anzahl an Peaks bemerkt. Ein halbes Jahr nach HSZT erzielten alle V β -Familien der Patienten mit einer Leukämie eine durchschnittlich niedrigere Anzahl an Peaks als die Stammzellspender (V β 2: 6 Peaks vs. 9; V β 5.1: 8 Peaks vs. 12; V β 6a: 6 Peaks vs. 10; V β 8a: 6 Peaks vs. 10,5). (Abb. 22)

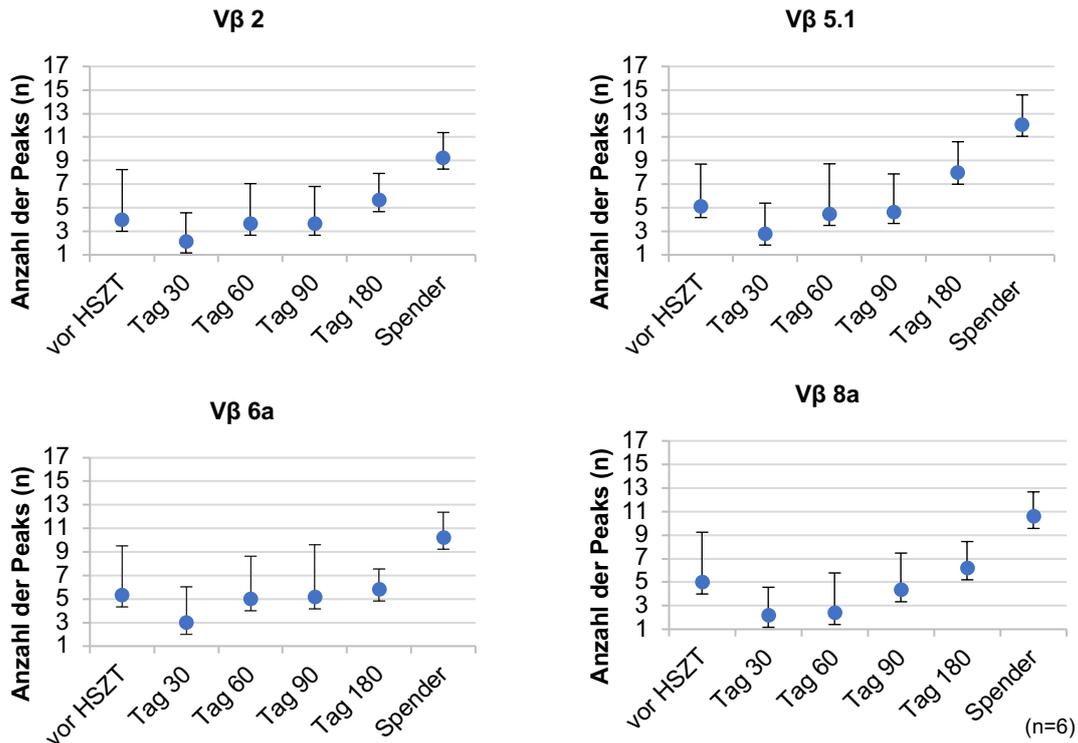


Abbildung 22: Vergleich der Anzahl der erreichten Peaks der jeweiligen V β -Familien (2, 5.1, 6a, 8a) in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten mit Leukämien

7.2 Rekonstitution der T-Zellen

Im Verlauf der ersten sechs Monate nach Stammzelltransplantation wurde die Rekonstitution der T-Zellen (CD3⁺-T-Zellen) sowie deren Subpopulationen, der T-Helfer-Zellen (CD4⁺-T-Zellen) und der zytotoxischen-T-Zellen (CD8⁺-T-Zellen) für alle Patientengruppen (Immundefekte, Anämien/Hämoglobinopathien, Stoffwechseldefekte, Leukämien) untersucht.

7.2.1 T-Zell-Rekonstitution Immundefekte

In der Gruppe der Immundefekte (n=14) wurde der Altersmedian von drei Jahren (0 bis 16 Jahre) als Normwert festgelegt. Die altersabhängigen Absolutwerte der T-Zellen liegen im Median bei 2300 Zellen/ μ l (5-95er Perzentilen: 900-4500 Zellen/ μ l), für CD4⁺-T-Zellen bei 1300 Zellen/ μ l (5-95er Perzentilen: 500-2400 Zellen/ μ l) und für CD8⁺-T-Zellen bei 800 Zellen/ μ l (5-95er Perzentilen: 300-1600 Zellen/ μ l).

Die absolute T-Zellzahl lag im ersten Monat nach HSZT bei 651 Zellen/ μ l, somit unter dem Normbereich. Erst ein halbes Jahr nach HSZT befanden sich die T-Zellen mit 1514 Zellen/ μ l im unteren Normbereich. Die zytotoxischen CD8⁺-T-Zellen regenerierten mit 318 Zellen/ μ l bereits nach 30 Tagen, was dem unteren Normbereich entspricht. Nach sechs Monaten konnten 870 Zellen/ μ l nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu waren die CD4⁺-T-Helfer-

Zellen bis 90 Tage nach HSZT mit 193 Zellen/ μ l deutlich erniedrigt. Ein halbes Jahr nach Transplantation stiegen die T-Helfer-Zellen mit 481 Zellen/ μ l bis knapp unter den unteren Normbereich an. (Abb. 23)

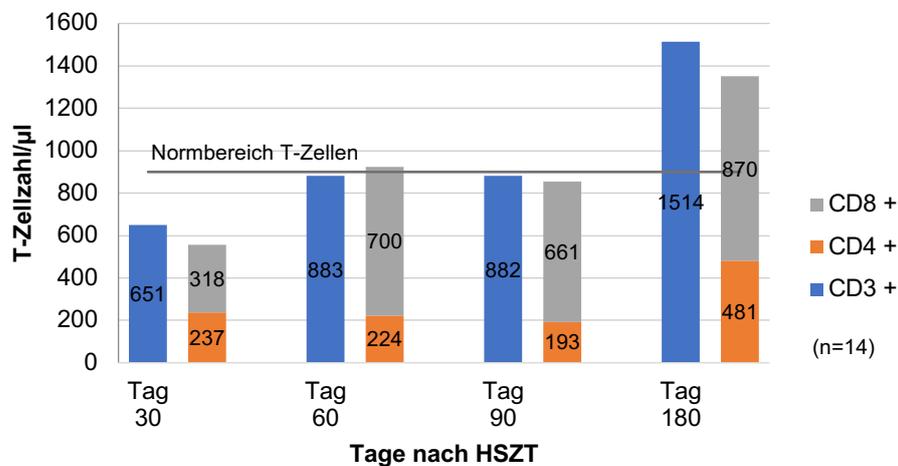


Abbildung 23: Darstellung der T-Zell-Rekonstitution nach HSZT bei Patienten mit Immundefekten

7.2.2 T-Zell-Rekonstitution Stoffwechseldefekte

In der Gruppe der Stoffwechseldefekte (n=6) wurde der Altersmedian von zwei Jahren (0 bis 4 Jahre) als Normwert festgelegt. Die altersabhängigen Absolutwerte der T-Zellen liegen im Median bei 2300 Zellen/ μ l (5-95er Perzentilen: 900-4500 Zellen/ μ l), für CD4⁺-T-Zellen bei 1300 Zellen/ μ l (5-95er Perzentilen: 500-2400 Zellen/ μ l) und für CD8⁺-T-Zellen bei 800 Zellen/ μ l (5-95er Perzentilen: 300-1600 Zellen/ μ l).

Die absolute T-Zell-Zahl lag im ersten Monat nach HSZT bei 202 Zellen/ μ l, also unter dem Normbereich. Erst ein halbes Jahr nach Transplantation waren die T-Zellen mit 1402 Zellen/ μ l im Normbereich. Die zytotoxischen CD8⁺-T-Zellen regenerierten sich mit 515 Zellen/ μ l ab dem zweiten Monat nach HSZT und gelangten damit in den Normbereich. Sechs Monate nach HSZT konnten 522 Zellen/ μ l nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu waren die CD4⁺-T-Zellen erst sechs Monate nach HSZT mit 548 Zellen/ μ l im unteren Normbereich feststellbar. (Abb. 24)

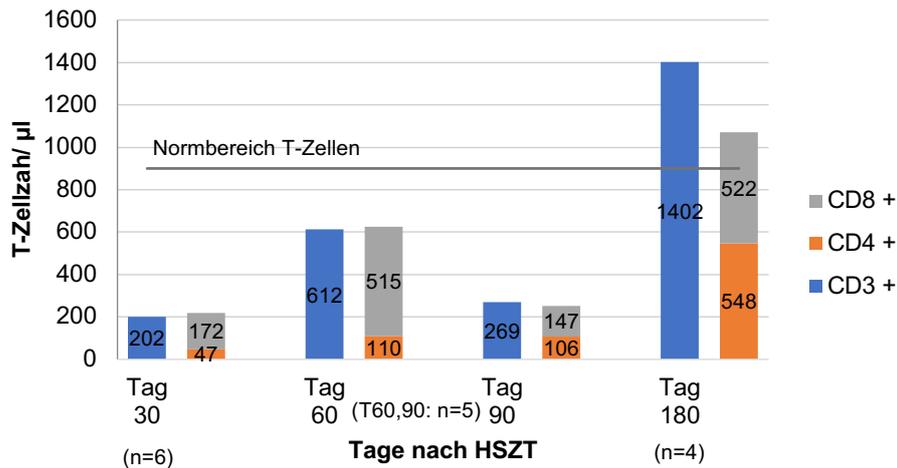


Abbildung 24: Darstellung der T-Zell-Rekonstitution nach HSZT bei Patienten mit Stoffwechseldefekten

7.2.3 T-Zell-Rekonstitution Anämien/Hämoglobinopathien

In der Gruppe der Anämien/Hämoglobinopathien (n=6) wurde der Altersmedian von 9,5 Jahren (2 bis 17 Jahre) als Normwert festgelegt. Die altersabhängigen Absolutwerte der T-Zellen liegen im Median bei 1900 Zellen/ μ l (5-95er Perzentilen: 700-4200 Zellen/ μ l), für CD4⁺-T-Zellen bei 1000 Zellen/ μ l (5-95er Perzentilen: 300-2000 Zellen/ μ l) und für CD8⁺-T-Zellen bei 800 Zellen/ μ l (5-95er Perzentilen: 300-1800 Zellen/ μ l).

Die absolute T-Zell-Zahl lag im ersten Monat nach HSZT bei 429 Zellen/ μ l und war somit unter dem Normbereich. Bereits zwei Monate nach Transplantation lagen die T-Zellen mit 756 Zellen/ μ l im unteren Normbereich. Ein halbes Jahr nach HSZT wurden 858 Zellen/ μ l nachgewiesen. Die CD8⁺-T-Zellen regenerierten mit 596 Zellen/ μ l ab dem zweiten Monat nach HSZT und gelangten so in den Normbereich. Ein halbes Jahr nach HSZT konnten 660 Zellen/ μ l nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu waren die CD4⁺-T-Zellen bis einschließlich ein halbes Jahr nach HSZT mit 184 Zellen/ μ l weiterhin deutlich erniedrigt. (Abb. 25)

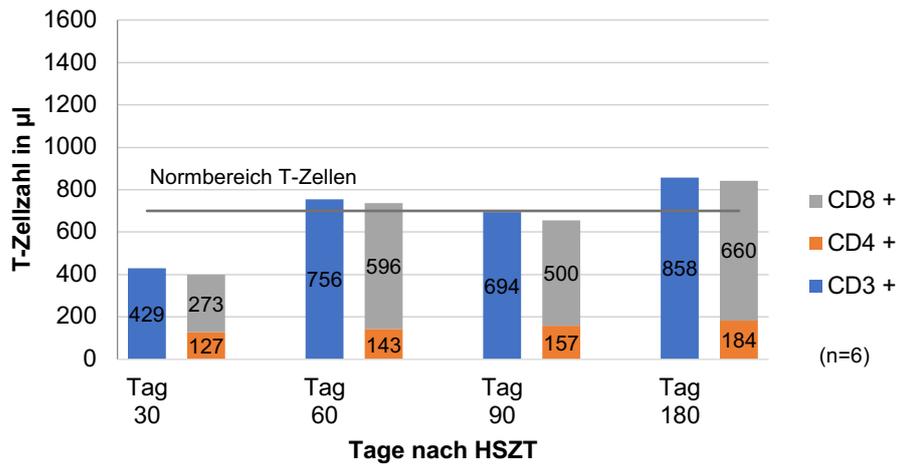


Abbildung 25: Darstellung der T-Zell-Rekonstitution nach HSZT bei Patienten mit Anämien/Hämoglobinopathien

7.2.4 T-Zell-Rekonstitution Leukämien

In der Gruppe der Leukämien (n=6) wurde der Altersmedian von 13 Jahren (6 bis 16 Jahre), als Normwert festgelegt. Die altersabhängigen Absolutwerte der T-Zellen liegen im Median bei 1500 Zellen/ μ l (5-95er Perzentilen: 800-3500 Zellen/ μ l), für CD4⁺-T-Zellen bei 800 Zellen/ μ l (5-95er Perzentilen: 400-2100 Zellen/ μ l) und für CD8⁺-T-Zellen bei 400 Zellen/ μ l (5-95er Perzentilen: 200-1200 Zellen/ μ l).

Die absolute T-Zell-Zahl betrug im ersten Monat nach HSZT 55 Zellen/ μ l und war somit unter dem Normbereich. Ein halbes Jahr nach HSZT waren die T-Zellen mit 670 Zellen/ μ l weiterhin unter dem Normbereich. Die Regeneration der CD8⁺-T-Zellen erfolgte ab dem zweiten Monat nach Transplantation und lag mit 351 Zellen/ μ l im Normbereich. Ein halbes Jahr nach HSZT konnten 484 Zellen/ μ l nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu waren die CD4⁺-T-Zellen bis einschließlich ein halbes Jahr nach HSZT mit 143 Zellen/ μ l weiterhin deutlich erniedrigt. (Abb. 26)

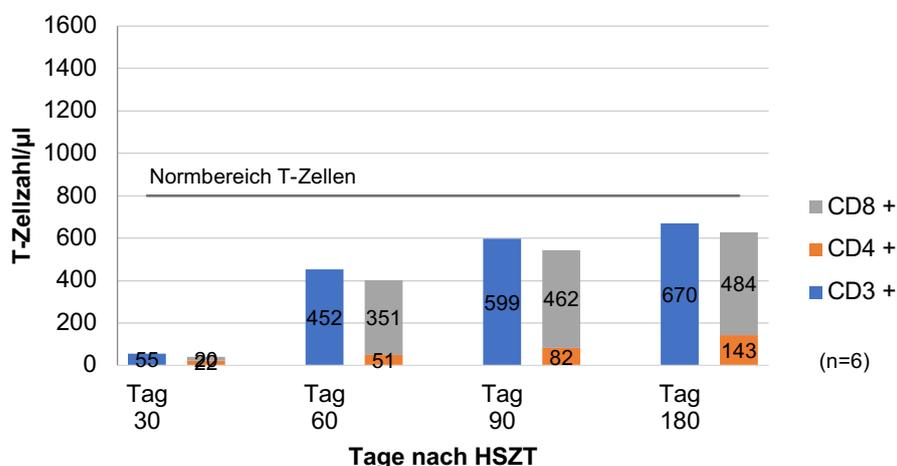


Abbildung 26: Darstellung der T-Zell-Rekonstitution nach HSZT bei Patienten mit Leukämien

7.3 Rekonstitution des TZR Repertoires bei unterschiedlicher Konditionierung

Die Patienten wurden anhand der erhaltenen Konditionierungsbehandlung vor HSZT in zwei Gruppen eingeteilt. Mittels V β -Spectratyping wurde bei 23 Patienten, die eine toxizitätsreduzierte Konditionierung und bei fünf Patienten, die eine myeloablative Konditionierung erhalten haben, das T-Zell-Rezeptor-Repertoire vor Stammzelltransplantation und an vier Zeitpunkten (Tag 30, 60, 90, 180) nach Transplantation untersucht. Um den Einfluss der Konditionierungsbehandlung auf die Immunrekonstitution nach HSZT zu eruieren, wurde die Rekonstitution des TZR-Repertoires beider Gruppen einander gegenübergestellt.

Vor Stammzelltransplantation waren die TZR-Spectratypes der Patientengruppe mit RIC größtenteils normalverteilt (Anteil polyklonal gaussian: 83%) und die TZR-Spectratypes der Patientengruppe mit MAC überwiegend abnormal (oligoklonal: 35%, monoklonal: 10%, keine V β -Ketten nachweisbar: 15%).

Innerhalb der ersten beiden Monate (Tage 30, 60) nach HSZT waren die TZR-Spectratypes beider Gruppen reduziert. In der Gruppe mit MAC zeigte sich das TZR-Repertoire überwiegend als oligoklonal verteilt (Tag 30: 50%, Tag 60: 68%), bei einem Anteil der Patienten konnten die untersuchten V β - Ketten nicht nachgewiesen werden. Innerhalb der Gruppe mit RIC waren die TZR-Spectratypes weniger abnormal, größtenteils oligoklonal (Tag 30: 52%, Tag 60: 53%) sowie polyklonal verzerrt (Tag 30 und 60: 26%) verteilt. Drei Monate nach HSZT wurde in der Patientengruppe mit RIC eine Zunahme der Diversität des TZR-Repertoires beobachtet (40% V β -Familien polyklonal verzerrt, 4%- polyklonal gaussian). Innerhalb der Patientengruppe, die eine MAC erhielt, blieb das TZR-Repertoire weitgehend reduziert (75% V β -Familien oligoklonal). Ein halbes Jahr nach HSZT waren die TZR-Spectratypes in der Gruppe mit RIC mit 68% überwiegend polyklonal verteilt (Anteil polyklonal gaussian: 26%, polyklonal verzerrt: 42%), während sie in der Gruppe mit MAC weiterhin größtenteils oligoklonal (63%) blieben. (Abb. 27)

Dabei wiesen bereits 11 Patienten mit RIC ein teilweise normalisiertes TZR-Repertoire auf (26% der V β -Familien polyklonal gaussian). In der Gruppe mit MAC zeigte ausschließlich ein Patient ein normales TZR-Repertoire für eine V β -Familie (5% der V β -Familien polyklonal gaussian).

Insgesamt erwies sich der Anteil an V β -Familien mit normalverteiltem TZR-Repertoire (polyklonal gaussian) in der Patientengruppe, die eine RIC erhielt höher als in der Gruppe, die mit MAC behandelt wurde (RIC: 26% vs. MAC: 5%). Dieser Unterschied zeigte einen Trend, jedoch ohne Signifikanz (Exakter Test nach Fisher: $p = 0,068$).

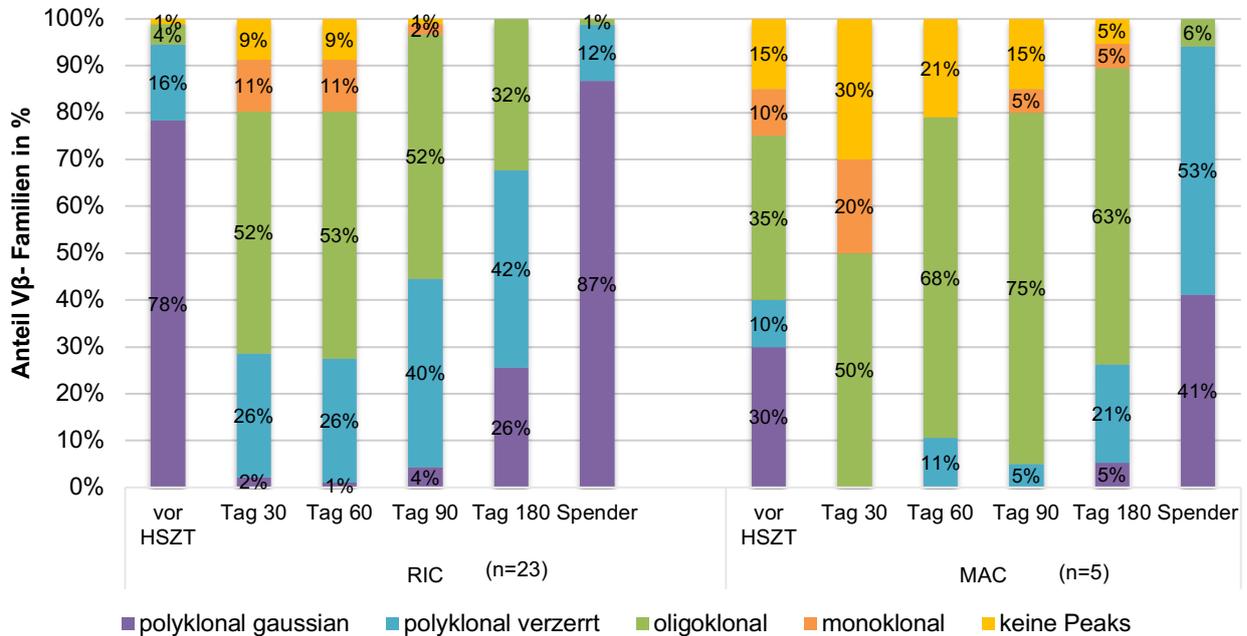


Abbildung 27: Vergleich der Klonalität des TZR-Repertoires in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten nach Konditionierungsbehandlung mit RIC vs. MAC [RIC (Reduced Intensity Conditioning): Treosulfan/Fludarabin/Thiotepa/Thymoglobulin; MAC (Myeloablative Conditioning): TBI/Etoposid oder Fludarabine/Antithymozytenglobulin]

Vor Transplantation erzielte die Gruppe mit RIC eine vergleichbare Anzahl an Peaks für fast alle V β -Familien (außer V β 2) wie die Stammzellspender, während die Gruppe mit MAC eine geringere Anzahl an Peaks für alle V β -Familien erreichte.

Ein halbes Jahr nach HSZT erzielten alle V β -Familien der Patienten mit RIC eine statistisch signifikant höhere Anzahl an Peaks, als Patienten die eine Konditionierungsbehandlung mit MAC erhalten hatten (t -Test: $p < 0,001$). (V β 5.1: 10 Peaks vs.8; V β 6a: 9 Peaks vs. 6; V β 2: 6 Peaks vs. 6; V β 8a: 9 Peaks vs. 6). (Abb. 28)

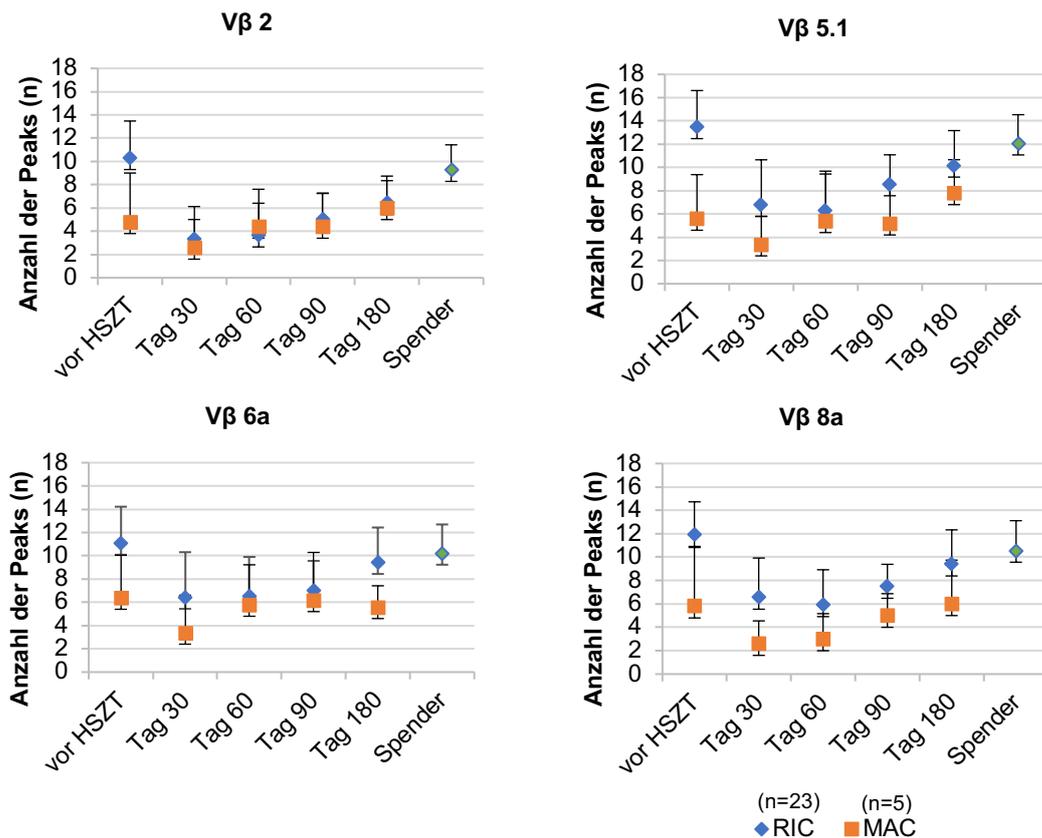


Abbildung 28: Vergleich der Anzahl der erreichten Peaks der jeweiligen Vβ-Familien (2, 5.1, 6a, 8a) in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten nach Konditionierungsbehandlung mit RIC vs. MAC
 [RIC (Reduced Intensity Conditioning): Treosulfan/Fludarabin/Thiotepa/Thymoglobulin; MAC (Myeloablative Conditioning): TBI/Etoposid oder Fludarabine/Antithymozytenglobulin]

7.4 Faktoren die die Immunrekonstitution beeinflussen

7.4.1 Infektionen

Innerhalb der vier Erkrankungsgruppen (Immundefekt, Stoffwechseldefekt, Anämie/Hämoglobinopathie und Leukämie) wurde die Rate an Infektionen im Verlauf des ersten halben Jahres nach HSZT ermittelt. Die Infektionen wurden in Untergruppen (virale/bakterielle Infektion, Mykose) eingeteilt.

Im Verlauf von sechs Monaten nach HSZT trat bei insgesamt 21 Patienten (66%) eine Infektion auf, während 11 Patienten (34%) nicht erkrankten. In der Patientengruppe mit einer Anämie/Hämoglobinopathie kamen bei 83% (n=5) der Kinder mindestens eine oder mehr Infektionen im Verlauf eines halben Jahres nach HSZT vor – in der Gruppe der Immundefekte bei 71% (n=10), in der Gruppe der Leukämien bei 67% (n=4) und in der Gruppe der Stoffwechseldefekte bei 33% (n=2) der Kinder. In der Mehrzahl der Fälle traten eine oder mehrere Infektionen an den Tagen 0 bis 30 nach HSZT auf (50%). In der gesamten Kohorte handelte es sich insgesamt am häufigsten um virale Infektionen (75%),

gefolgt von bakteriellen Infektionen (17%), Mykose (4%) und einmalig Fieber unklarer Genese (4%).

Bei Kindern mit Immundefekten waren insgesamt 73% (n=16) der Infektionen viraler Genese, bei Kindern mit einem Stoffwechseldefekt war dies zu 66% (n=2), mit einer Anämie/Hämoglobinopathie zu 100% (n=12) und mit einer Leukämie zu 55% (n=6) der Fall. Dabei handelte es sich insgesamt um Infektionen verursacht durch CMV (n=13), Adenovirus (n=7), BK-Virus (n=4), EBV (n=3), HHV-6 (n=2), HSV (n=1), Rhinovirus (n=1), Enterovirus (n=1), Rotavirus (n=1), Coronavirus (n=1) sowie um virale Infektionen mit unklarem Erreger (n=2).

Bakterielle Infektionen traten ausschließlich in den Gruppen Immundefekte mit 18% (n=4) und Leukämie mit 36% (n=4) auf. Dabei handelte es sich um bakterielle Infektionen mit unklarem Erreger (n=6) und Infektionen mit einem gramnegativen Erreger (n=2). Am seltensten traten Mykosen auf (*Candida* spp. (n=1); *Aspergillus* (n=1)) und einmalig Fieber unklarer Genese in der Gruppe der Kinder mit Immundefekten. (Tab. 23)

Tabelle 23: Vergleich der Infektionshäufigkeit in den ersten sechs Monaten nach HSZT in der gesamten Kohorte und innerhalb der vier Erkrankungsgruppen (Immundefekt, Stoffwechseldefekt, Anämie/Hämoglobinopathie, Leukämie)

Einteilung nach Anzahl der erkrankten Patienten an den jeweiligen Zeitpunkten nach HSZT sowie Anzahl der Ereignisse nach Art der Infektion (viral, bakteriell, Mykose, unklar).

| | Zeitraum nach HSZT | Anzahl Patienten erkrankt | Anzahl Ereignisse gesamt | Viral | Bakteriell | Mykose | Unklar |
|---|--------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------|----------------|---------------|---------------|
| Gesamte Kohorte | gesamt | 21 (66%) | 48 (100%) | 36 (75%) | 8 (17%) | 2 (4%) | 2 (4%) |
| Immundefekt (n=14) | gesamt | 10 (71%) | 22 (100%) | 16 (73%) | 4 (18%) | 1 (4%) | 1 (4%) |
| | Tag 0-30 | 8 (57%) | 11 | 9 (82%) | 0 | 1 (9%) | 1 (9%) |
| | Tag 31-60 | 5 (36%) | 8 | 4 (50%) | 4 (50%) | 0 | 0 |
| | Tag 61-90 | 2 (14%) | 2 | 2 (100%) | 0 | 0 | 0 |
| | Tag 91-180 | 1 (7%) | 1 | 1 (100%) | 0 | 0 | 0 |
| Stoffwechseldefekt (n=6) | gesamt | 2 (33%) | 3 (100%) | 2 (66%) | 0 | 0 | 1 (33%) |
| | Tag 0-30 | 1 (17%) | 2 | 1 (50%) | 0 | 0 | 1 (50%) |
| | Tag 31-60 | 1 (17%) | 1 | 1 (100%) | 0 | 0 | 0 |
| | Tag 61-90 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Tag 91-180 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Anämie/ Hämoglobinopathie (n=6) | gesamt | 5 (83%) | 12 (100%) | 12 (100%) | 0 | 0 | 0 |
| | Tag 0-30 | 3 (50%) | 4 | 4 (100%) | 0 | 0 | 0 |
| | Tag 31-60 | 3 (50%) | 4 | 4 (100%) | 0 | 0 | 0 |
| | Tag 61-90 | 1 (17%) | 1 | 1 (100%) | 0 | 0 | 0 |
| | Tag 91-180 | 2 (33%) | 3 | 3 (100%) | 0 | 0 | 0 |
| Leukämie (n=6) | gesamt | 4 (67%) | 11 (100%) | 6 (55%) | 4 (36%) | 1 (9%) | 0 |
| | Tag 0-30 | 4 (67%) | 7 | 4 (57%) | 2 (29%) | 1 (14%) | 0 |
| | Tag 31-60 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Tag 61-90 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Tag 91-180 | 2 (33%) | 4 | 2 (50%) | 2 (50%) | 0 | 0 |

7.4.2 Einfluss viraler Infektionen auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires

Die Patienten wurden nach dem Auftreten/Nichtauftreten einer viralen Infektion in zwei Gruppen eingeteilt. Mittels V β -Spectratyping wurde bei 19 Patienten mit viraler Infektion und bei 13 Patienten ohne Auftreten einer viralen Infektion das T-Zell-Rezeptor-Repertoire sechs Monate nach Transplantation untersucht.

Ein halbes Jahr nach HSZT wiesen die TZR-Spectratypes in der Gruppe der Patienten mit Virusinfektion eine etwas geringere Diversität auf. Sie waren zu beinahe gleichen Anteilen oligoklonal (47%) sowie polyklonal (51%) verteilt (Anteil polyklonal gaussian: 19%; polyklonal verzerrt: 32%). Innerhalb der Gruppe ohne Virusinfektion erschienen die

Spectratypes als überwiegend polyklonal (68%) verteilt (Anteil polyklonal gaussian: 25%; polyklonal verzerrt: 43%). Somit zeigten Patienten ohne virale Infektion einen etwas größeren Anteil an V β -Familien mit normalisiertem TZR-Repertoire (polyklonal gaussian) als Patienten mit einer viralen Infektion (mit Virusinfektion: 19% vs. ohne Virusinfektion: 25%). Dieser Unterschied konnte nicht als signifikant nachgewiesen werden (Chi-Quadrat-Test: $p = 0,380$). (Abb. 29)

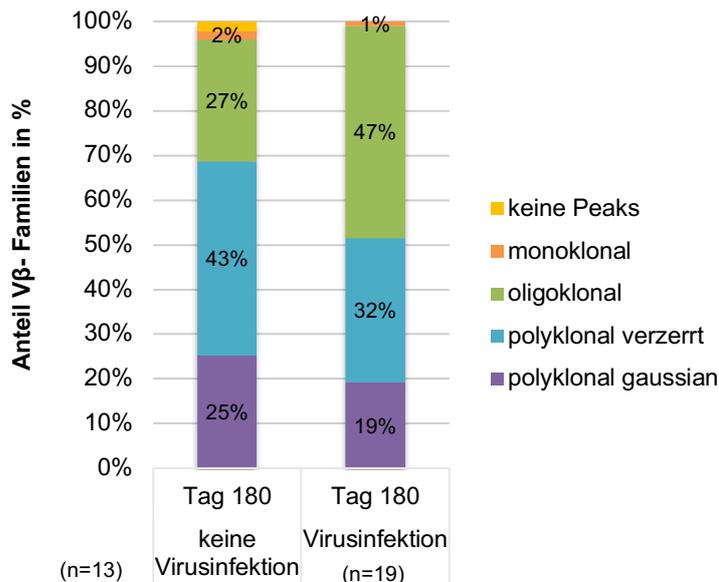


Abbildung 29: Vergleich der Klonalität des TZR-Repertoires sechs Monate nach HSZT von Patienten ohne und mit Auftreten einer Virusinfektion

Sechs Monate nach HSZT war für beide Gruppen eine geringere Anzahl an Peaks als in der Gruppe der Stammzellspender feststellbar. Die Gruppe ohne virale Infektion erreichte eine nur gering höhere Anzahl an Peaks für die meisten V β -Familien im Vergleich zur Gruppe mit einer viralen Infektion (V β 2: 7 Peaks vs. 6; V β 5.1: 10 Peaks vs. 9; V β 6a: 9 Peaks vs. 8), jedoch ohne statistische Signifikanz (t -Test: $p = 0,103$). (Abb. 30)

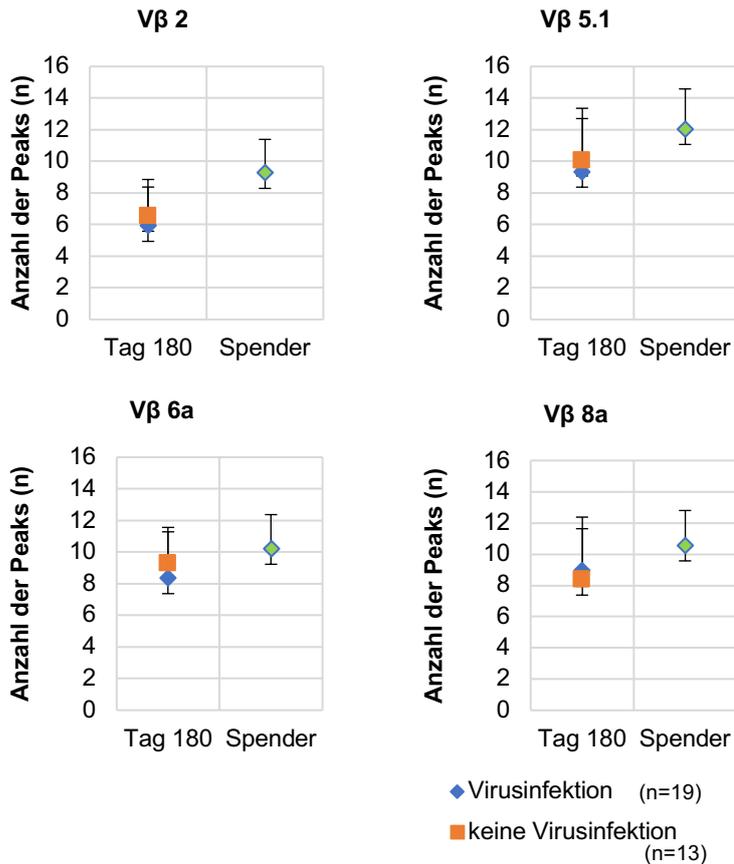


Abbildung 30: Vergleich der Anzahl der erreichten Peaks der jeweiligen Vβ-Familien (2, 5.1, 6a, 8a) ein halbes Jahr nach HSZT von Patienten ohne und mit Auftreten einer Virusinfektion

7.4.3 GvHD

Innerhalb der vier Erkrankungsgruppen (Immundefekt, Stoffwechseldefekt, Anämie/Hämoglobinopathie und Leukämie) wurde die Rate an GvHD im Verlauf des ersten halben Jahres nach HSZT ermittelt. Die GvHD wurde in Schweregrade (I-IV) nach den Glucksberg-Kriterien untergliedert.

Im Verlauf von sechs Monate nach HSZT kam innerhalb der gesamten Patientenkohorte bei 15 Patienten (47%) eine GvHD vor, während bei 17 Patienten (53%) keine GvHD auftrat. Bei der Hälfte der Kinder mit einem Immundefekt (50%; n=7), mit einer Leukämie (50%; n=3) und mit einer Anämie/Hämoglobinopathie (50%; n=3) trat eine GvHD innerhalb des ersten halben Jahres nach HSZT auf. Bei Kindern mit einem Stoffwechseldefekt wurde eine GvHD bei einem Drittel der Kinder nach HSZT festgestellt (33%; n=2). Es kamen ausschließlich akute GvHD vor. In der Mehrzahl der Fälle war eine GvHD an den Tagen 0 bis 30 nach HSZT vorhanden (63%). Die Inzidenz einer GvHD der Schweregrade I und II lag bei jeweils 16%, eine GvHD des Schweregrades III kam zu 9% und eine GvHD Grad IV zu 9% vor. Die gravierendste Ausprägung einer GvHD (Grad IV) zeigte sich bei jeweils

einem Patienten in den Gruppen: Immundefekt, Stoffwechseldefekt und Anämie/Hämoglobinopathie. Ein Kind mit Immundefekt war erst von einer GvHD Grad II und später von einer GvHD Grad IV betroffen. (Tab. 24)

Tabelle 24: Vergleich des Auftretens einer GvHD in den ersten sechs Monaten nach HSZT in der gesamten Kohorte und innerhalb der vier Erkrankungsgruppen (Immundefekt, Stoffwechseldefekt, Anämie/Hämoglobinopathie, Leukämie)

Einteilung nach Anzahl der Patienten mit GvHD an den jeweiligen Zeitpunkten und nach Schweregraden (I, II, III, IV)

* 15 Kinder mit Auftreten einer GvHD aber insgesamt 16 Ereignisse; ** Ein Patient hatte zwei Ereignisse: GvHD II und IV

| | Zeitraum nach HSZT | Anzahl Patienten mit GvHD | I | II | III | IV |
|---|--------------------|---------------------------|----------------|----------------|---------------|---------------|
| Gesamte Kohorte | gesamt | 15 (47%)* | 5 (16%) | 5 (16%) | 3 (9%) | 3 (9%) |
| Immundefekt (n=14) | gesamt | 7 (50%)** | 2 (14%) | 4 (29%) | 1 (7%) | 1 (7%) |
| | Tag 0-30 | 5 (36%) | 2 (14%) | 3 (21%) | 0 | 0 |
| | Tag 31-60 | 1 (7%) | 0 | 1 (7%) | 0 | 0 |
| | Tag 61-90 | 1 (7%) | 0 | 0 | 1 (7%) | 0 |
| | Tag 91-180 | 1 (7%) | 0 | 0 | 0 | 1 (7%) |
| Stoffwechseldefekt (n=6) | gesamt | 2 (33%) | 0 | 1 (17%) | 0 | 1 (17%) |
| | Tag 0-30 | 2 (33%) | 0 | 1 (17%) | 0 | 1 (17%) |
| | Tag 31-60 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Tag 61-90 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Tag 91-180 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Anämie/ Hämoglobinopathie (n=6) | gesamt | 3 (50%) | 2 (33%) | 0 | 0 | 1 (17%) |
| | Tag 0-30 | 1 (17%) | 1 (17%) | 0 | 0 | 0 |
| | Tag 31-60 | 1 (17%) | 0 | 0 | 0 | 1 (17%) |
| | Tag 61-90 | 1 (17%) | 1 (17%) | 0 | 0 | 0 |
| | Tag 91-180 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Leukämie (n=6) | gesamt | 3 (50%) | 1 (17%) | 0 | 2 (33%) | 0 |
| | Tag 0-30 | 2 (33%) | 1 (17%) | 0 | 1 (17%) | 0 |
| | Tag 31-60 | 1 (17%) | 0 | 0 | 1 (17%) | 0 |
| | Tag 61-90 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Tag 91-180 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

7.4.4 Einfluss einer GvHD auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires

Die Patienten wurden nach dem Auftreten/Nichtauftreten einer GvHD in zwei Gruppen eingeteilt. Mittels V β -Spectratyping wurde bei 15 Patienten mit GvHD und bei 17 Patienten ohne Auftreten einer GvHD das T-Zell-Rezeptor-Repertoire sechs Monate nach Transplantation untersucht.

Sechs Monate nach HSZT waren die TZR-Spectratypes in beiden Gruppen größtenteils polyklonal verteilt (Anteil mit GvHD: 57%; ohne GvHD: 60%). Dabei erwies sich der Anteil an V β -Familien mit normalverteiltem TZR-Repertoire (polyklonal gaussian) in der Patientengruppe ohne GvHD signifikant höher (30%) als in der Gruppe mit GvHD (12%) (Chi-Quadrat-Test: $p < 0,016$). (Abb. 31)

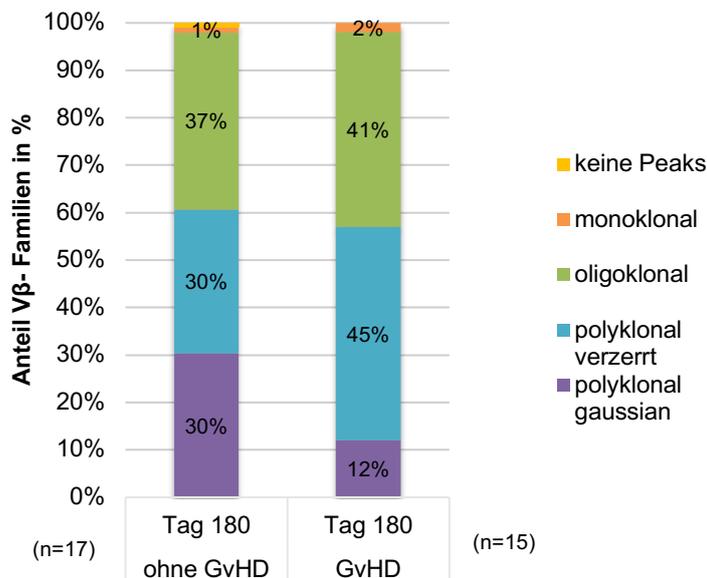


Abbildung 31: Vergleich der Klonalität des TZR-Repertoires sechs Monate nach HSZT von Patienten ohne und mit Auftreten einer GvHD
[GvHD=Graft-versus-Host-Disease]

Insgesamt erzielten beide Gruppen ein halbes Jahr nach HSZT eine geringere Anzahl an Peaks als die Stammzellspender. Die Gruppe ohne GvHD erreichte eine höhere Anzahl an Peaks für V β 6a (9 Peaks vs. 8) und V β 8a (9 Peaks vs. 8) im Vergleich zur Gruppe mit einer GvHD. Für V β 2 und V β 5.1 war die Anzahl der erreichten Peaks vergleichbar (V β 2: 6 Peaks vs. 6; V β 5.1: 10 Peaks vs. 10). Hier zeigte sich keine Signifikanz (t -Test: $p = 0,071$). (Abb. 32)

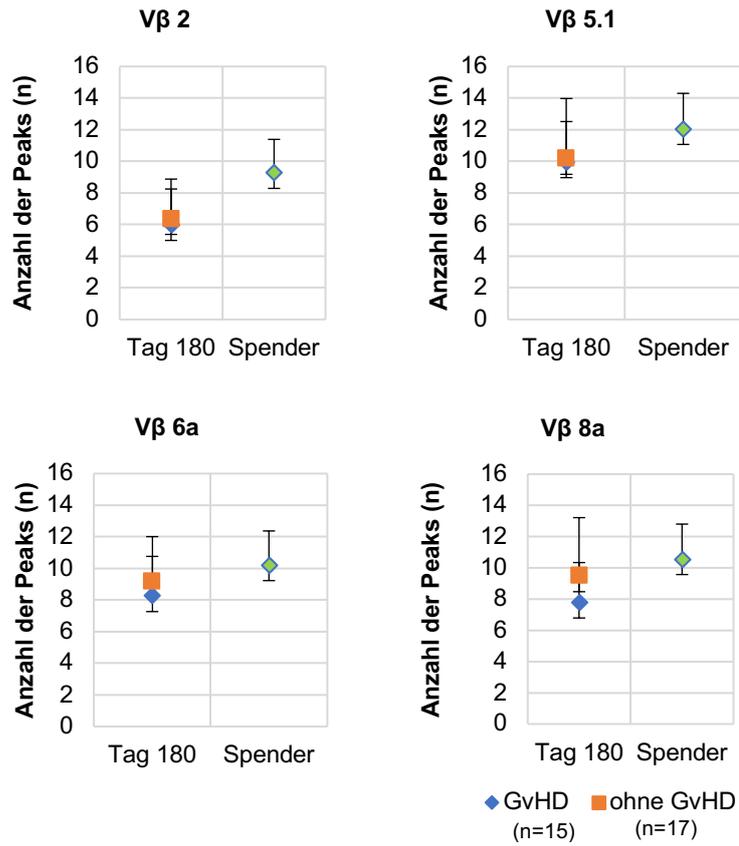


Abbildung 32: Darstellung der Anzahl der erreichten Peaks der jeweiligen Vβ-Familien (2, 5.1, 6a, 8a) ein halbes Jahr nach HSZT von Patienten ohne und mit Auftreten einer GvHD

8 Diskussion Teil 1

Der erste Teil der vorliegenden Arbeit beschäftigte sich vornehmlich mit der klinischen Diagnosestellung eines Immundefekts. Immundefekte frühzeitig zu entdecken ist bedeutsam, da zahlreiche Immundefekte bei verzögerter Diagnostik und anschließender rechtzeitiger Therapie zu lebensbedrohlichen Komplikationen führen können (De Vries and Driessen, 2011, Jyothi et al., 2013). In dieser Arbeit wurde ermittelt, ob anhand der aktuellen Warnzeichen-Sets zur klinischen Diagnosestellung die Immundefekte erkannt werden und ob eine ausreichende Differenzierung zu Immungesunden möglich ist.

8.1 Prävalenz definierter Immundefekte

Eines der Ziele dieser Arbeit war es die Prävalenz von Immundefekten in der Immundefektambulanz des Kinder-UKE zu ermitteln. Bei einem Drittel der Patienten mit Verdacht auf einen Immundefekt wurde die Diagnose bestätigt. Folglich wiesen 37% der Patienten einen Immundefekt auf, während bei 63% der Patienten kein Immundefekt diagnostiziert wurde. Den größten Anteil machten autoinflammatorische Syndrome aus (40%). Die hohe Prävalenz in dieser Studie war durch ein bereits vorselektiertes Patientenkollektiv zu erwarten. Dabei lassen sich die Ergebnisse mit denen einer amerikanischen Studie vergleichen. Diese untersuchte in einer immunologischen Ambulanz 141 Kinder auf das Vorhandensein eines PID, wobei 23% (32 Patienten) einen PID hatten (Macginnitie et al., 2011). Die meisten Kinder dort litten an einem humoralen Immundefekt. Die Verteilung der Immundefekte in der hier durchgeführten Studie stimmte nicht mit dem Vorkommen in der Gesamtbevölkerung überein. Im Register der ESID sind Antikörpermangelsyndrome mit 57% am häufigsten, während autoinflammatorische Syndrome mit 3% gemeldet werden (El-Helou et al., 2019). Autoinflammatorische Erkrankungen werden vermutlich untererfasst, da diese häufig rheumatologisch gesehen werden und somit in anderen Registern gemeldet werden. Zudem werden im ESID-Register größtenteils genetische Erkrankungen erfasst – da PFAPA erworben wird und nicht genetisch bedingt ist, ist der geringe Anteil an autoinflammatorischen Erkrankungen vermutlich darauf zurückzuführen.

8.2 Evaluation der vier Warnzeichen-Sets zur Diagnostik von Immundefekten

8.2.1 Warnzeichen der DSAI

Die Warnzeichen der DSAI konzentrieren sich auf die Infektionsanfälligkeit bei Kindern mit Immundefekten. Darunter erfasst sind vor allem rezidivierende Infektionen (u. a. Otitiden, Sinusitiden, Pneumonien, Abszesse, Pilzinfektionen). Weitere Kriterien sind eine

Gedeihstörung, Impfkomplikationen sowie spezifische Warnzeichen wie Infektionen mit atypischen Mykobakterien und eine Graft-versus-Host-Reaktion (Wahn, 2000a).

Ein Gegenstand dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob die schon länger bestehenden erweiterten Jeffrey Modell Warnzeichen der DSAI in der Lage sind, Immundefekte zu erkennen.

Die Warnzeichen der DSAI reichten zur klinischen Diagnosestellung von Kindern mit Immundefekten nicht aus. Die Kriterien wurden von Kindern mit einem Immundefekt insgesamt selten erfüllt (24%), wodurch die Mehrheit der Kinder mit einem Immundefekt nicht diagnostiziert wurde (76%). Dabei erfüllten Kinder ohne Immundefekt paradoxerweise sogar häufiger positive Warnzeichen (30%), was zu einer unzureichenden Unterscheidung zwischen Immungesunden und Immunkranken führte. Die Warnzeichen der DSAI sollten dazu dienen möglichst keinen erkrankten Patienten zu übersehen. Hierfür ist als Gütekriterium eine hohe Sensitivität erwünscht – auf Kosten einer meist geringeren Spezifität. In der vorliegenden Arbeit zeigten die Warnzeichen hingegen eine unbefriedigende Sensitivität von 24% bei höherer Spezifität von 70%. Durch die hohe Spezifität wurde relativ selten fälschlicherweise der Verdacht auf einen Immundefekt anhand der DSAI-Warnzeichen gestellt.

Die Ergebnisse sind mit denen einer deutschen Studie vergleichbar, die u. a. die Warnzeichen der DSAI bei einer ähnlichen Kohortengröße untersuchte. Dabei zeigte sich ebenfalls eine unzureichende Sensitivität von 47% (Lankisch et al., 2015). Weitere amerikanische Studien erwiesen ebenfalls eine ungenügende Sensitivität von 63% (Macginnitie et al., 2011) bzw. 64% (Bjelac et al., 2019). Die höhere Sensitivität lässt sich in den genannten Studien im Vergleich zu dieser Arbeit durch die Zusammensetzung des untersuchten Patientenkollektivs erklären. Die Studien von Lankisch et al. und MacGinnitie et al. analysierten überwiegend Patienten mit Antikörperdefekten, die anhand der Warnzeichen der DSAI besser erkannt wurden, während das hier vorliegende Kollektiv von Patienten mit autoinflammatorischen Syndromen geprägt ist.

Dennoch wird deutlich, dass viele Patienten mit einem Immundefekt anhand der Warnzeichen der DSAI nicht ausreichend erkannt wurden.

Dies betrifft hauptsächlich Immundefekte, die mit einer Störung der Immunregulation einhergehen, wie autoinflammatorische Syndrome und Immundefekte mit Immundysregulation, die zu 6% bzw. 45% erfasst wurden. Die Symptome dieser Patienten äußern sich weniger durch eine Infektionsneigung und wurden in den Warnzeichen der DSAI größtenteils nicht aufgeführt. Patienten mit autoinflammatorischen Syndromen leiden vornehmlich unter Fieberepisoden unklarer Genese (Kastner et al., 2010, Sag et al., 2017).

In der Gruppe der Patienten mit einer Immundysregulation hatten die meisten Patienten (4/11) eine FHL, die überwiegend durch protrahiertes Fieber, Hepatosplenomegalie und Zytopenien auffallen (Janka, 2012, Janka and Lehmborg, 2014, Esteban et al., 2017). Weitere Immundefekte aus dieser Gruppe, u. a. das IPEX-Syndrom, präsentiert sich durch Autoimmunerkrankungen (Gambineri et al., 2008) - eine XIAP-Defizienz durch Lymphoproliferation oder durch eine chronisch entzündliche Darmerkrankung (Aguilar and Latour, 2015).

Die autoinflammatorischen Syndrome machten 40% des Gesamtkollektivs aus, wodurch sich die geringe Diagnoserate der DSAI-Warnzeichen erklären lässt. Lediglich eine Erweiterung der Warnzeichen, um das Kriterium „rezidivierendes Fieber“, würde die Diagnoserate dieser Patienten von 6% auf 100% erhöhen. Zudem würde einer Erweiterung der Warnzeichen, um Zeichen einer Immundysregulation (u. a. Autoimmunität) dazu verhelfen zahlreiche weitere Immundefekte zu entdecken, die nicht mit einer Infektionsanfälligkeit einhergehen.

Die schon länger bekannten Warnzeichen der DSAI konzentrieren sich vornehmlich auf die Infektionsanfälligkeit. Dadurch sollten Patienten mit humoralen Immundefekten und Komplementdefekten erkannt werden, da diese vor allem durch rezidivierende bakterielle Infektionen der Atemwege (Otitis media, Sinusitis, Pneumonie) auffallen (Ballow, 2002, Wood et al., 2007, Heitzeneder et al., 2012). Dennoch konnten in unserer Kohorte humorale Immundefekte nur teilweise erfasst werden (33%). Dies ist auf den hohen Anteil an Kindern mit transienter Hypogammaglobulinämie (4/12) und IgA-Mangel (2/12) zurückzuführen, die wenige Warnzeichen der DSAI erfüllten. Diese Patienten sowie Kinder mit einem MBL-Mangel fielen teilweise durch rezidivierende Minorinfektionen auf, die nicht in den Warnzeichen der DSAI aufgeführt waren, wie rezidivierende Bronchitiden, Tonsillitiden, oder erfüllten die angegebene Anzahl an Infektionen/Jahr in den Warnzeichen der DSAI nicht. Die starre Einteilung spezifischer Infektionen in den DSAI-Warnzeichen könnte dazu führen, dass auch Kinder mit Infektionsneigung übersehen werden. Vielmehr sollte eine pathologische Infektionsanfälligkeit wie Infektionen mit schwerem Verlauf, Residualschäden, opportunistischen Erregern, sowie rezidivierende Infektionen als Hinweis auf einen Immundefekt gewertet werden (Wahn, 2000b). Zudem weisen viele Patienten mit einem IgA-Mangel Autoimmunerkrankungen und Patienten mit einer transienten Hypogammaglobulinämie Nahrungsmittelunverträglichkeiten auf (Yazdani et al., 2017, Ameratunga et al., 2019). Patienten mit einer MBL-Defizienz präsentierten sich unter anderem mit Zeichen einer Atopie (v. a. atopische Dermatitis). Eine Erweiterung der Warnzeichen um Autoimmunität könnte auch hier dazu verhelfen einen Immundefekt zu diagnostizieren.

Außerdem konnten Patienten mit zellulären Immundefekten nur zur Hälfte (43%) diagnostiziert werden. Dabei blieben innerhalb der Gruppe der zellulären Immundefekte überwiegend Patienten mit Mikrodeletionssyndrom 22q11 und alleiniger T-Zell-Verminderung ohne klinische Symptomatik unentdeckt. In einer anderen Studie fiel das vorliegende Problem ebenfalls auf und empfiehlt eine Erweiterung der Warnzeichen um „syndromale Erkrankungen“ (Subbarayan et al., 2011). Dadurch könnte möglicherweise die Diagnoserate von asymptomatischen Kindern erhöht werden.

Zudem wurde untersucht welche Warnzeichen der DSAI auf einen Immundefekt hindeuten können. Insgesamt wurden die meisten Warnzeichen der DSAI selten gezeigt. Am ehesten konnte das Warnzeichen „Gedeihstörung“ mit 12% auf einen Immundefekt hinweisen und kam überwiegend bei Immundefekten mit Immundysregulation (27%), zellulären (21%) und humoralen Immundefekte (25%) vor. Diese Beobachtung korrelierte mit einer anderen Arbeit in der die Gedeihstörung als einer der höchsten Prädiktoren für Immundefekte beschrieben wurde (Subbarayan et al., 2011). Hiermit präsentieren sich unter anderem Kinder mit einem Immundefekt, die im ersten Lebensjahr aufgrund des vorhandenen Nestschutzes noch keine Infektionsanfälligkeit erkennen lassen (O'sullivan and Cant, 2012).

Zudem traten Majorinfektionen, die unter den Warnzeichen „ ≥ 2 Majorinfektionen/Jahr“ und „ ≥ 2 Pneumonien/Jahr“ zusammengefasst sind, häufiger bei Kindern mit Immundefekten auf, vor allem unter den Komplement- und humoralen Immundefekten und konnten somit auf einen Immundefekt hinweisen.

Das Warnzeichen „rezidivierende Abszesse“ tritt bei Immundefekten der Phagozyten oder dem Hyper-IgE-Syndrom auf. Jedoch wurde dieses Kriterium häufiger von Kindern ohne Immundefekt erfüllt (13% vs. 7%), da Hautabszesse auch bei gesunden Kindern/Jugendlichen auftreten können (Chandesris et al., 2012, Arnold and Heimall, 2017). Gleiches gilt für die Warnzeichen, die Minorinfektionen umfassen (≥ 8 Otitiden/Jahr und ≥ 2 Sinusitiden/Jahr). Diese können bei physiologischer Infektionsanfälligkeit ebenfalls häufig vorkommen, vor allem im Kleinkindalter, wenn der „Nestschutz“ nachgelassen hat und die Kinder beginnen sich mit Infektionserregern auseinanderzusetzen. Außerdem können andere bestehende Erkrankungen zu einer gehäuften Infektionsanfälligkeit prädisponieren, darunter chronische Erkrankungen, u. a. soll Asthma bronchiale zu einer Infektionsneigung der oberen Atemwege führen (Wahn, 2000b). Diese Warnzeichen differenzieren somit ungenügend zwischen physiologischer und pathologischer Infektionsanfälligkeit.

Andere Warnzeichen wie „ ≥ 2 zwei Monate antibiotische Therapie ohne Effekt“ sowie „Impfkomplikationen“ ließen sich bei keinem Patienten mit einem Immundefekt erkennen. Dabei war es unter anderem schwierig, retrospektiv die Länge einer antibiotischen Therapie zu beurteilen. Dennoch scheinen diese Warnzeichen wenig zielführend zu sein. Ebenfalls kam das Warnzeichen atypische Mykobakteriose nicht vor, wahrscheinlich weil die zugehörigen seltenen Krankheitsbilder im Untersuchungszeitraum im Kollektiv nicht auftraten (z. B. GATA-2 Defizienz oder IL-12-Rezeptor-Defizienz) (Spinner et al., 2014).

Schließlich wurde in den letzten Jahren deutlich, dass die DSAI-Warnzeichen nicht ausreichen, um Immundefekte zu diagnostizieren, da sie nicht in der Lage sind die Vielfaltigkeit der Immundefekte zu erfassen. Viele Immundefekte gehen mit nicht infektiösen Manifestationen einher, die von den Warnzeichen der DSAI nicht erkannt werden. Dennoch konnten sie dazu verhelfen auf die Immundefekte aufmerksam zu machen (Arkwright and Gennery, 2011, O'sullivan and Cant, 2012, Baumann, 2017).

8.2.2 AWMF-Warnzeichen

Die AWMF-Warnzeichen beinhalten neben einer erweiterten Erfassung der Infektionsanfälligkeit, auch Aspekte einer Immundysregulation. Infektionen werden unter dem Akronym „ELVIS“ anhand ihres Erregers, der Lokalisation, ihres Verlaufs, der Intensität und ihrer Häufigkeit zusammengefasst. Unter dem Akronym „GARFIELD“ werden die Bildung von Granulomen, Autoimmunerkrankungen, rezidivierendes Fieber, Ekzeme, Lymphoproliferation und chronische Darmentzündung erfasst. Des Weiteren werden eine auffällige Familienanamnese (u. a. Konsanguinität, Immundefekt, Immundysregulation) sowie veränderte Laborwerte (Hypogammaglobulinämie, Lymphopenie, Neutropenie, Thrombozytopenie) aufgeführt (Farmand et al., 2017).

Ein Ziel dieser Arbeit bestand darin zu untersuchen, wie hilfreich die aktuellen Warnzeichen der AWMF-Leitlinie im klinischen Alltag sind, um Immundefekte zu diagnostizieren.

Durch die Warnzeichen der AWMF-Leitlinie wurden beinahe alle Kinder mit einem Immundefekt (98%) unabhängig von der Art des Immundefekts erkannt, was einer sehr hohen Sensitivität entspricht. Gleichzeitig sank die Spezifität (11%) der Warnzeichen. Ein positives Kriterium beweist also nicht das Vorliegen eines Immundefekts, da positive Warnzeichen auch bei gesunden Kindern auftreten. Jedoch konnte ein negatives Testergebnis bei einem hohen NPV von 90% die Erkrankung an einem Immundefekt mit hoher Wahrscheinlichkeit ausschließen.

Die Ergebnisse lassen sich mit einer deutschen Studie vergleichen, die die Warnzeichen der AWMF-Leitlinie bei einer ähnlichen Kohortengröße untersuchte. Dabei zeigte sich ebenfalls eine gute Sensitivität von 69% bei einer niedrigen Spezifität von 37%. Der PPV

lag bei 19%, während der NPV 86% betrug (Lankisch et al., 2015). Im Vergleich fielen in unserer Kohorte eine höhere Sensitivität und etwas niedrigere Spezifität auf, wobei dieses Ergebnis vermutlich auf eine unterschiedliche Kohortenzusammensetzung zurückzuführen ist. Die Kohorte von Lankisch et al. bestand überwiegend aus Patienten mit Antikörperdefekten (61%), gefolgt von zellulären Immundefekten (11%), während das hier vorliegende Kollektiv vorwiegend aus Patienten mit autoinflammatorischen Syndromen (40%), gefolgt von Komplementdefekten (16%) und zellulären Defekten (15%) zusammengesetzt ist und nur zu 13% Patienten mit humoralen Immundefekten vertreten sind.

Die niedrige Spezifität führt dazu, dass viele immungesunden Kinder fälschlicherweise als Immunkrank erkannt werden. In einem Review Artikel erkannte Baumann et al. die Problematik, dass bei umfangreichen Katalogen an Warnzeichen die Sensitivität zur klinischen Diagnose von Immundefekten zunahm, jedoch auf Kosten der Spezifität (Baumann, 2017). Im hiesigen Patientenkollektiv könnte das niedrige mediane Alter einen Einfluss darauf haben (31% der Kinder zwischen 0-3 Jahren). Kinder verlieren innerhalb des ersten Lebensjahres ihre Leihimmunität, wodurch es aufgrund des unreifen Immunsystems zu einer gesteigerten Infektionsanfälligkeit kommt (Jyothi et al., 2013). Aufgrund dessen wird oftmals fälschlicherweise der Verdacht auf einen Immundefekt gestellt.

Eine weitere Ursache, die zu diesen Ergebnissen führen konnte, war die große Bandbreite an aufgeführten Kriterien in der AWMF-Leitlinie, die ebenfalls bei anderen Erkrankungen auftreten können, u. a. bei chronischen Erkrankungen, Autoimmun- und Infektionserkrankungen (Baumann, 2017). Es sind somit für bestehende Symptome anderweitige häufigere Ursachen auszuschließen, bevor der Verdacht auf einen Immundefekt gestellt wird, um die Rate an falsch-positiven zu verringern.

Die AWMF-Warnzeichen zeichneten sich dennoch durch eine hohe Sensitivität aus (98%). Die hohe Diagnoserate ist auf die Erweiterung der Warnzeichen zurückzuführen, die neben einer pathologischen Infektionsanfälligkeit auch Zeichen einer Immunsyregulation (Autoimmunität, Autoinflammation) und auffällige Laborwerte miteinbeziehen.

Zudem wurde untersucht welche Warnzeichen auf einen Immundefekt hinweisen können. Werden die einzelnen Warnzeichen der AWMF-Leitlinie betrachtet, kamen die ELVIS-Kriterien (für pathologische Infektionsanfälligkeit) bei Kindern mit einem Immundefekt am häufigsten vor. Dadurch wurde die „pathologische Infektionsanfälligkeit“ als Leitsymptom bei Immundefekten bestätigt (De Vries and Driessen, 2011, Jyothi et al., 2013). Die Warnzeichen unter dem Akronym „GARFIELD“ für eine Störung der Immunregulation

wurden seltener gezeigt als die ELVIS-Kriterien, konnten jedoch dazu verhelfen zahlreiche Immundefekte zu erkennen, die weniger mit einer klassischen Infektionsanfälligkeit einhergehen, sondern vielmehr mit Zeichen einer Autoimmunität oder Autoinflammation, darunter die autoinflammatorischen Syndrome und Immundefekte mit Immunsyregulation. Führend war das Warnzeichen „rezidivierendes Fieber“, welches überwiegend bei Kindern mit autoinflammatorischem Syndrom (46%) vorkam, bekannt als Leitsymptom bei periodischen Fiebersyndromen (Kastner et al., 2010, Sag et al., 2017). Anhand des Warnzeichens „Lymphoproliferation“ (Splénomegalie oder Lymphadenopathie) konnten 55% der Kinder mit einer Immundysregulation erkannt werden, darunter vor allem Patienten mit einer HLH. Bereits in anderen Arbeiten wurde eine Hepatosplenomegalie als eines der Kardinalsymptome einer FHL beschrieben (Janka, 2012, Janka and Lehmsberg, 2014, Esteban et al., 2017). Außerdem kann eine chronisch entzündliche Darmerkrankung der erste Hinweis auf einen Immundefekt sein (Uhlig et al., 2014, Hartono et al., 2019) und verhalf vor allem zur Diagnose von Patienten mit einer early-Onset-IBD. Die Ergänzung auffälliger Laborbefunde konnte bei Kindern ohne hinweisende klinische Symptomatik den Verdacht auf einen Immundefekt wecken, unter anderem bei Säuglingen mit transientser Hypogammaglobulinämie, bei denen eine Verminderung der Immunglobuline festgestellt wurde sowie bei Kindern mit Knochenmarkversagen, die durch Zytopenien (Thrombozytopenie, Neutropenie) auffielen. Diese Annahme stimmte mit anderen Studien von Patienten mit Knochenmarkversagen überein (Myers et al., 2011, Spinner et al., 2014, Germeshausen et al., 2018).

Schließlich traf „positive Familienanamnese“ als einziges Kriterium häufiger bei Kindern ohne Immundefekt als mit Immundefekt (30% vs. 24%) zu. Dies lässt sich durch eine ausführliche Erhebung der Familienanamnese erklären, indem außer Immundefekte auch Konsanguinität, Immundysregulation (u. a. Autoimmunerkrankungen), Lymphome und pathologische Infektionsanfälligkeit erhoben wurden. Dabei kamen vor allem Autoimmunerkrankungen vor, die auch bei Immungesunden häufig auftreten können. Laut Wang et al. sind bei 3-5% der Bevölkerung Autoimmunerkrankungen feststellbar, dabei machen autoimmune Schilddrüsenerkrankungen den größten Anteil aus (Wang et al., 2015). Es sollte erwogen werden die Erhebung einer auffälligen Familienanamnese auf das Vorhandensein eines Immundefekts zu beschränken, um die Rate an falsch-positiven zu senken.

Insgesamt konnten die Warnzeichen der AWMF-Leitlinie die Häufigkeit der Diagnose eines Immundefekts erhöhen, indem die Vielfältigkeit der Symptome eines Immundefekts erfasst wurden, neben Infektionsanfälligkeit auch Zeichen einer Immundysregulation. Zu berücksichtigen ist die hohe Anzahl an gesunden Kindern, die dadurch fälschlicherweise

erkannt werden. Dabei weist die AWMF-Leitlinie ausdrücklich darauf hin, für bestehende Symptome eine anderweitige Ursachen auszuschließen, da viele andere Erkrankungen mit einer pathologischen Infektionsanfälligkeit einhergehen können und von Immundefekten differenziert werden sollen (Farmand et al., 2017).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit konnten mit einer einzigen verfügbaren Studie verglichen werden und bedürfen weiterer Vergleiche.

8.2.3 Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem NPV

Anhand der JMF-, DSAI-, und AWMF-Warnzeichen wurde von Lankisch et al. eine Kombination von Warnzeichen mit dem höchsten negativ prädiktiven Wert entwickelt. Darunter erfasst werden: Gedeihstörung, rezidivierende Abszesse, Gabe von i. v. Antibiotika, Lymphopenie und Hypogammaglobulinämie (Lankisch et al., 2015).

Ein Gegenstand dieser Arbeit war zu untersuchen, ob die kürzlich erstellten Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem NPV in der Lage sind, Immundefekte zu diagnostizieren und von gesunden Kindern zu unterscheiden.

Die Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem NPV führten zu einer nicht ausreichenden klinischen Diagnosestellung bei Kindern mit Immundefekten. Die Warnzeichen zeigten eine begrenzte Sensitivität und Spezifität. Die Hälfte der Kinder mit Immundefekten wurde bei einer Sensitivität von 50% erfasst. Ebenso wurde bei einer Spezifität von 53% knapp bei der Hälfte der immungesunden Kinder fälschlicherweise der Verdacht auf einen Immundefekt gestellt.

Die erzielten Ergebnisse stimmten nur bedingt mit den Resultaten von Lankisch et al. überein, die eine gute Sensitivität von 75% bei einer Spezifität von 51% aufwiesen. Außerdem zeichneten sich die erstellten Düsseldorfer Warnzeichen besonders durch einen hohen NPV von 91% aus (Lankisch et al., 2015). Im Gegensatz dazu betrug in der vorliegenden Arbeit der NPV 64%: es konnte kein besserer Wert als die anderen getesteten Warnzeichen-Sets erzielt werden.

Die unterschiedliche Kohortenzusammensetzung könnte die abweichenden Resultate erklären. Einerseits muss die niedrigere Prävalenz an Immundefekten in der Studie von Lankisch et al. im Vergleich zu unserer Studie berücksichtigt werden (17% vs. 37%), die die prädiktiven Werte maßgeblich beeinflusst. Bei abnehmender Prävalenz wird der NPV größer, da weniger Personen erkrankt sind und somit die Rate an falsch-negativen Ergebnissen abnimmt (Scott et al., 2008). Andererseits ist die höhere Sensitivität in der zitierten Arbeit auf die Zusammensetzung des Patientenkollektivs und der ausgewählten Warnzeichen zurückzuführen. Lediglich durch das Kriterium „Hypogammaglobulinämie“ konnte vermutlich ein Großteil der Patienten mit humoralen Immundefekten erfasst werden (Ballou, 2002). Die humoralen Immundefekte machten 61% des Kollektivs in der

Düsseldorfer Studie aus, während Antikörperdefekte in unserer Studie mit einem Anteil von 13% seltener vertreten waren. Vielmehr war die Sensitivität innerhalb unserer Kohorte von der größten Gruppe, den autoinflammatorischen Syndromen geprägt, die nur zu 19% positive Warnzeichen erfüllten, da keine Zeichen einer Autoinflammation (rezidivierendes Fieber, abdominale Beschwerden, Muskel- und Gelenkschmerzen) (Kastner et al., 2010, Sag et al., 2017) in den Warnzeichen aufgeführt waren.

Innerhalb der Gruppe der Immundefekte mit Immundysregulation führten die Düsseldorfer Warnzeichen zu guten Resultaten, indem annähernd alle Kinder (91%) erfasst wurden. Vor allem das Kriterium „Gabe von i. v. Antibiotika“, das in dieser Gruppe zu 82% erfüllt wurde, führte am häufigsten zum Verdacht auf einen Immundefekt, vermutlich aufgrund der rezidivierenden schweren Infektionen bei Kindern mit einem Immundefekt, die häufig einer intravenösen Antibiotikagabe bedürfen (Farmand et al., 2017). Dadurch konnten auch viele Kinder mit einem Komplementdefekt (40%) und zellulären Immundefekt (36%) erkannt werden. Anhand des Warnzeichens Gedeihstörung ließen sich weitere Kinder (12%) diagnostizieren, da insbesondere in den ersten Lebensjahren dies der erste Hinweis auf einen Immundefekt sein kann (Subbarayan et al., 2011, O'sullivan and Cant, 2012).

Hingegen wurden Kindern in der Gruppe der zellulären Immundefekte, die aufgrund abweichender Laborwerte oder vermehrter Infektneigung auffallen würden, nicht erkannt. Darunter befanden sich Kinder mit einer Autoimmunneutropenie und mit Mikrodeletionsyndrom 22q11, die einerseits aufgrund einer Neutropenie bzw. T-Zell-Verminderung oder Infektionsanfälligkeit auffallen würden (Gennery, 2012, Farruggia and Dufour, 2015, Morsheimer et al., 2017). Ebenso wurden Kinder mit einem MBL-Mangel in der Gruppe der Komplementdefekte seltener diagnostiziert (47%), die durch eine vermehrte Infektionsanfälligkeit hervortreten würden (Schroder-Braunstein and Kirschfink, 2019). Dagegen fiel auf, dass rezidivierende Abszesse weniger für Immundefekte spezifisch waren, indem Abszesse häufiger bei Kindern ohne Immundefekt auftraten (13% vs. 7%).

Schließlich gelang es in der vorliegenden Arbeit nicht, einige Immundefektgruppen ausreichend zu erkennen, da die Düsseldorfer Kriterien stark eingrenzend wirkten und die Warnzeichen von einem bestimmten Patientenkollektiv abhängig waren. In der Gesamtbevölkerung würden die Warnzeichen vermutlich dazu beitragen, einen Großteil der Immundefekte zu diagnostizieren, da humorale Immundefekte mit einem Anteil von 57% am häufigsten registriert werden (El-Helou et al., 2019). Dennoch wurden 10 von 12 Patienten mit schwerem angeborenem Immundefekt und Stammzelltransplantationsindikation in der vorliegenden Arbeit erfasst. Somit könnten die

Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalen NPV dazu beitragen, die hohe Mortalität schwerer Immundefekte zu reduzieren.

8.2.4 Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem Youden-Index

Von Lankisch et al. wurde ebenfalls eine Kombination von Warnzeichen mit dem höchsten Youden-Index entwickelt, indem Warnzeichen mit bestmöglicher Sensitivität und Spezifität ausgewählt wurden: ≥ 8 Otitis media/Jahr, ≥ 2 Pneumonien/Jahr, Lymphopenie und Gedeihstörung. Während die Düsseldorfer Warnzeichen mit max. NPV verhelfen sollten, nur bei begründetem klinischem Verdacht eine immunologische Abklärung auf einen Immundefekt einzuleiten, sollen die Warnzeichen mit max. Youden-Index eine möglichst hohe Sensitivität und Spezifität aufweisen, um zwischen gesunden und kranken Kindern möglichst gut zu unterscheiden (Lankisch et al., 2015).

An dieser Stelle wurde evaluiert wie hilfreich die kürzlich erstellten Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem Youden-Index sind, um Immundefekte rechtzeitig zu erkennen und von Immungesunden abzugrenzen.

Die Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem Youden-Index eigneten sich nicht, um Kinder mit einem Immundefekt klinisch zu diagnostizieren. Ziel dieser Warnzeichen war es, eine möglichst hohe Spezifität bei guter Sensitivität zu erreichen (Lankisch et al., 2015). Einerseits erzielten diese Kriterien eine hohe Spezifität von 84%, wodurch die meisten immungesunden Kinder (84%) richtig diagnostiziert wurden. Andererseits geschah dies auf Kosten der Immunkranken Kinder, die bei einer geringen Sensitivität von 22% überwiegend (78%) unerkant blieben. In der Studie von Lankisch et al. erzielten diese Warnzeichen eine ebenfalls hohe Spezifität von 76% bei einer Sensitivität von 56% (Lankisch et al., 2015). Demgegenüber fiel in unserer Studie eine geringere Diagnosestellung auf.

Ursächlich für die unzureichende Sensitivität waren vermutlich die unterschiedliche Zusammensetzung des hier untersuchten Patientenkollektivs sowie die Zusammensetzung der Düsseldorfer Warnzeichen. Aufgrund der starken Eingrenzung der Warnzeichen wurde lediglich eine geringe Bandbreite der vorhandenen Immundefekte erfasst.

Analog zu den Düsseldorfer Warnzeichen mit max. NPV wurden Immundefekte mit Autoinflammation, die eine große Rolle in der vorliegenden Kohorte spielten, selten erfasst (3%). Dies führte zu einer geringen Diagnoserate innerhalb dieses Patientenkollektivs. Im Vergleich zu den Düsseldorfer Warnzeichen mit max. NPV wurden anhand der Düsseldorfer Warnzeichen mit max. Youden-Index auch alle weiteren Immundefektgruppen seltener erfasst.

Sowohl in den Düsseldorfer Warnzeichen mit max. Youden-Index also auch mit max. NPV wurden die Warnzeichen „Lymphopenie“ sowie „Gedeihstörung“ aufgeführt. Im Gegensatz

dazu wurden in den Düsseldorfer Warnzeichen mit max. Youden-Index mehr Warnzeichen, die eine Infektionsanfälligkeit widerspiegeln („ ≥ 8 Otitiden/Jahr“ und „ ≥ 2 Pneumonien/Jahr“), erfasst. Dennoch ließ sich dadurch nur ein geringer Anteil der Kinder mit Immundefekten erkennen, vornehmlich humorale Immundefekte sowie Komplementdefekte.

Um einen größeren Anteil der Patienten zu diagnostizieren, sollten die Warnzeichen einer Infektionsanfälligkeit um pathologische Anzeichen einer Infektionsneigung erweitert werden, da außer dem Auftreten einer Pneumonie auch andere Majorinfektionen oder rezidivierende Minorinfektionen ein Zeichen eines Immundefektes sein können. Zudem kommen Zeichen einer Immundysregulation, die auch das einzige Symptom eines Immundefekts sein können, hier nicht vor (Baumann, 2017).

Generell fiel auf, dass es nur eingeschränkt möglich war diese Kriterien auf eine andere Patientenkohorte zu übertragen und ein solches Vorgehen dazu führte zahlreiche Immundefekte schlechter zu erkennen. Außerdem wurden anhand der Eingrenzung dieser Warnzeichen nur wenige Kinder mit schwerem Immundefekt diagnostiziert (5/12). Schwere Immundefekte zu übersehen kann fatal sein (Slatter and Gennery, 2008). Schließlich reichte diese Konstellation der Warnzeichen in der aufgeführten Kohorte nicht aus, um die Vielfältigkeit der Symptome eines Immundefekts ausreichend zu erkennen.

8.3 Vergleich der Warnzeichen

Für die klinische Diagnostik von Immundefekten hatten die Warnzeichen gemäß der AWMF-Leitlinie die höchste Sensitivität (98%) und konnten somit den größten Anteil an Patienten mit Immundefekten erkennen, jedoch auf Kosten einer niedrigen Spezifität (11%). Nachteilig ist, dass ein Test mit unzureichender Spezifität dazu führt, dass viele gesunde Patienten (89%) einer weiterführenden Diagnostik unterzogen werden (Kommission Methoden Und Qualitätssicherung in Der Umweltmedizin, 2008, Scott et al., 2008). Dennoch ist eine hohe Sensitivität gewünscht, um möglichst keine Immundefekte zu übersehen. Vor allem Immundefekte, die mit Zeichen einer Immundysregulation wie Autoinflammation, oder Autoimmunität einhergehen, wurden ausschließlich durch die AWMF-Warnzeichen erfasst und durch die anderen Warnzeichen-Sets kaum adressiert. Folglich vermochten die weiteren Warnzeichen-Sets nur einen geringen Anteil der Kinder mit Immundefekten zu diagnostizieren (DSAI: 24%, Düsseldorfer Warnzeichen mit max. NPV: 50% und max. Youden-Index: 22%) und waren somit als diagnostisches Instrument in der vorliegenden Patientenkohorte weniger geeignet.

8.4 Labordiagnostik bei spezifischen Immundefekten

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit bestand darin, bestimmte Laborwerte zu untersuchen, die auf die Art des Immundefekts hinweisen können.

Bei autoinflammatorischen Syndromen wies ein erhöhter Calprotectin Wert in 60% der Fälle auf die Erkrankung hin. Diese Ergebnisse korrelierten mit einer Publikation von Pepper et al. in der eine Erhöhung des Serum Calprotectins (S100A8/A9) als Marker einer Autoinflammation bei Patienten mit FMF beschrieben wurde (Pepper et al., 2015). Eine Erhöhung des Wertes wurde ebenso bei Patienten mit PFAPA erwähnt (Wekell et al., 2016). Im Gegensatz dazu war ein erhöhtes Serum Amyloid A (SAA) in über zwei Dritteln der Fälle nicht vorhanden (76%). Bei Patienten mit PFAPA kann die geringe Anzahl durch eine Normalisierung des SAA zwischen den Episoden erklärt werden (Wekell et al., 2016). In der vorliegenden Studie ist es unklar, welche Messungen in den symptomatischen Episoden erfolgt sind.

Bei Kindern mit einer Immundysregulation waren verschiedene Laborwerte je nach Art des Immundefekts auffällig. Dabei führte eine Erhöhung des Serum-IgE dazu ein Hyper-IgE-Syndrom und IPEX zu diagnostizieren. Andere Publikationen konnten diese Beobachtung bestätigen (Gambineri et al., 2008, Chandesris et al., 2012). Ebenso ließen sich für einige Immundefekte eine Lymphopenie (HLH, XIAP-Defizienz) und Thrombozytopenie (HLH, XIAP-Defizienz, IPEX) beobachten. HLH und XIAP-Defizienz können mit Zytopenien einhergehen (Janka and Lehmborg, 2014, Aguilar and Latour, 2015).

Kinder mit zellulärem Immundefekt konnten größtenteils (Mikrodeletionssyndrom 22q11, MHC-Klasse-II Defekt, SCID) aufgrund einer verminderten Gesamt-T-Zell-Zahl (36%) sowie verringerter Subpopulationen (CD4⁺- und CD8⁺-T-Zellen) (50% und 29%) erfasst werden. Diese Ergebnisse stimmen mit Beobachtungen aus der Literatur überein (Hanna and Etzioni, 2014, Cirillo et al., 2015, Morsheimer et al., 2017).

Weitere Immundefekte konnte durch Abweichungen im Blutbild festgestellt werden. Bei 8% der Kinder mit einer Neutropenie war einer Autoimmunneutropenie vorhanden, bei 12% ein Knochenmarkversagen - 21% der Patienten mit einer Thrombozytopenie hatten eine Immundysregulation, 21% ein Knochenmarkversagen.

Kinder mit Knochenmarksagen fielen somit vor allem durch Abweichungen im Differentialblutbild, aber auch durch eine Verminderung der B-Zell-Zahl auf. Diese Beobachtungen korrelieren mit den Studien von Germeshausen et al., Spinner et al. und Myers et al. (Myers et al., 2011, Spinner et al., 2014, Germeshausen et al., 2018).

Insgesamt fiel auf, dass alle Immundefekte Abweichungen in der Labordiagnostik aufwiesen, diese jedoch von der Art des Immundefekts abhängig waren. Daher wurde meistens eine umfangreiche Labordiagnostik durchgeführt.

8.5 Schwächen der Studie

Für alle Warnzeichen gilt es, das vorselektierte Patientenkollektiv dieser Studie zu beachten, da sich in der Immundefektambulanz nur Kinder nach kinderärztlicher Überweisung zur weiteren Abklärung befanden. Werden die Warnzeichen in einer nicht vorselektierten Patientengruppe oder anderen Immundefektambulanz erhoben, können sich andere Ergebnisse sowie u. a. eine unterschiedliche Sensitivität und Spezifität zeigen. Außerdem sind die retrospektive Erhebung dieser Studie sowie die Datenerhebung anhand digitalisierter Patientenakten zu berücksichtigen. Dadurch wurden möglicherweise bei einigen Patienten aufgrund fehlender oder fehlerhafter Dokumentation die Warnzeichen nur eingeschränkt eingeteilt. Abgesehen davon können die Daten dieser Studie einen Einblick in die Wertigkeit der Warnzeichen-Sets geben.

Zukünftig sind weitere Studien mit größerem und nicht vorselektiertem Patientenkollektiv nötig, um die Warnzeichen für Immundefekte weiter zu untersuchen. Vor allem die AWMF- und Düsseldorfer-Warnzeichen konnten mit einer einzigen verfügbaren Studie verglichen werden und bedürfen weiterer Vergleiche.

9 Diskussion Teil 2

Die hämatopoetische Stammzelltransplantation stellt für hämatoonkologische Erkrankungen wie akute Leukämien sowie für eine Reihe nicht maligner Erkrankungen, wie Immundefekte, Stoffwechseldefekte und Anämien/Hämoglobinopathien oft die einzige kurative Therapieoption dar (Gyurkocza et al., 2010, Sureda et al., 2015). Ein Ziel dieser Arbeit lautete die Rekonstitution des TZR-Repertoires nach HSZT bei pädiatrischen Patienten mittels V β -Spectratypings zu untersuchen. In diesem Zusammenhang wurde ebenfalls die Rekonstitution der T-Zellen ermittelt. Dabei wurden verschiedene Einflussfaktoren wie die Grunderkrankung (maligne vs. nicht maligne) und Faktoren, die die Immunrekonstitution verzögern können, etwa das Auftreten von Infektionen und GvHD, berücksichtigt. Ein weiterer Gegenstand dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob die Art der Konditionierungsbehandlung die Rekonstitution des TZR-Repertoires beeinflusst. Dabei wurde zwischen einer toxisitätsreduzierten und einer myeloablativen Konditionierung unterschieden.

9.1 Methode CDR3-Spectratyping

Der Befund des TZR-Repertoires wurde anhand der Methode des V β -Spectratypings von vier Ketten (V β 2, V β 5.1, V β 6a, V β 8a) generiert. Dies ist eine kostengünstige Methode, die eine qualitative und quantitative Analyse ermöglicht, indem das Repertoire der einzelnen Ketten genauer betrachtet werden kann. Somit ist diese Methode geeignet, um das TZR-Repertoire nach HSZT zu untersuchen.

Alternativ kann die Durchflusszytometrie mit V β -spezifischen Antikörpern angewandt werden, um das TZR-Repertoire zu analysieren. Diese Methode ermöglicht eine eingeschränkte Beurteilung des Repertoires, da ausschließlich das Vorhandensein und der relative Anteil eines Teils (70%) aller V β -Familien erfasst werden (Jacobsen and Hönig, 2019). Eine weitere Möglichkeit bestünde darin, die V β -Ketten mittels NGS zu sequenzieren. Diese Methode ermöglicht die präziseste Analyse bestimmter Abschnitte der DNA, in diesem Fall des TZR-Repertoires. Nachteilig sind allerdings die hohen Kosten, die damit einhergehen würden (Laydon et al., 2015).

9.2 TZR-Repertoire der Patienten mit PID vor HSZT

Ein Gegenstand dieser Arbeit war es darzustellen, ob Patienten mit einem Immundefekt vor Transplantation ein reduziertes TZR-Repertoire aufweisen.

In der vorliegenden Arbeit hatten 57% (n=8) der Patienten ein normalverteiltes TZR-Repertoire (polyklonal gaussian) in allen untersuchten V β -Ketten. 21% (n=3) hatte ein normalverteiltes TZR-Repertoire in mehr als der Hälfte bzw. in der Hälfte der V β -Ketten und 7% (n=1) in weniger als der Hälfte der V β -Ketten. Die übrigen V β -Ketten waren stets

polyklonal verzerrt. Jedoch stellte sich heraus, dass 14% (n=2) der Patienten ein verzerrtes Repertoire (polyklonal verzerrt, oligoklonal) für alle V β -Familien aufwiesen.

Dabei fiel ein Patient mit SCID durch ein abnormales, meist oligoklonales Repertoire für alle V β -Familien auf. Die nachgewiesenen T-Zellen stammten von der Mutter, somit lag ein maternales Engraftment vor. Ähnliche Veränderungen wurden bereits bei anderen T-Zell-Defekten beschrieben. Laut Wong et al. weisen Immundefekte, die mit einer T-Zell-Defizienz einhergehen, u. a. das Ommen-Syndrom, eine geringere Diversität des TZR-Repertoires auf (Wong et al., 2017).

Außerdem ließen drei Patienten mit einer HLH ein polyklonal verzerrtes Repertoire für die meisten V β -Familien erkennen. Zwei weitere Patienten, davon einer mit einer HLH und einer mit ADA2-Defizienz zeigten für eine V β -Familie ein polyklonal verzerrtes Repertoire. Insgesamt stellten sich die Veränderungen des TZR-Repertoires als verringerte Diversität oder als „Peaks“ im Sinne einer klonalen Expansion eines T-Zell-Klons dar. Ähnliche Veränderungen wurden bereits bei Patienten in einer HLH-Studie von Amann et al. beschrieben. Diese Studie zeigte, dass ein Anteil der Patienten mit familiärer HLH und sekundärer HLH mit viralem Trigger ein polyklonal verzerrtes TZR-Repertoire aufgrund starker antigenspezifischer Aktivierung von T-Zellen aufwies (Ammann et al., 2017). Zusätzlich können Autoimmunität und rezidivierende Infektionen, die bei Immundefekten auftreten, zur Restriktion des TZR beitragen (Wu et al., 2015).

Bei weiteren Immundefekten, die das myeloische Kompartiment betreffen, wie der septischen Granulomatose und einem Immundefekt mit MECOM-Mutation, wurden keine Veränderungen des Repertoires vor Transplantation beobachtet.

9.3 Rekonstitution des TZR-Repertoires nach HSZT bei unterschiedlicher Grunderkrankung

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war es, das TZR-Repertoire vor HSZT und die Rekonstitution des TZR-Repertoires nach HSZT bei unterschiedlichen Grunderkrankungen zu untersuchen.

Vor Transplantation wiesen Patienten mit einer malignen Erkrankung (Gruppe der Leukämien) eine reduzierte Diversität des TZR-Repertoires (25% aller untersuchten V β -Ketten polyklonal gaussian) sowie eine verringerte Anzahl der Peaks auf. Im Vergleich dazu waren bei Patienten mit einem Immundefekt, einer Anämie/Hämoglobinopathie oder einem Stoffwechseldefekt (nicht maligne Erkrankungen) die TZR-Spectratypes vor Transplantation überwiegend normalverteilt (polyklonal gaussian: Immundefekte: 73%, Stoffwechseldefekte: 92%, Anämien/Hämoglobinopathien: 83%). Bei einzelnen Patienten wurde ein polyklonal verzerrtes Repertoire nachgewiesen, das jedoch auch bei gesunden Spendern in einer anderen Studie bereits beschrieben wurde (Wu et al., 2000). Dennoch können Patienten mit Immundefekten ein reduziertes TZR-Repertoire aufweisen (Wu et al.,

2015, Ammann et al., 2017, Wong et al., 2017). Bei Patienten mit einer malignen Erkrankung ist die geringere Diversität des TZR-Repertoires durch die myeloablative chemotherapeutische Behandlung vor Transplantation bedingt, die zu einer Lymphozytopenie führt (Mackall et al., 1994).

Die Analysen zeigten, dass sich das TZR-Repertoire nach Transplantation je nach Grunderkrankung unterschiedlich regenerierte. Bei malignen Erkrankungen wurde in den ersten Monaten (Tage 30, 60, 90) nach Transplantation eine deutlich reduzierte Diversität des TZR-Repertoires (monoklonal, oligoklonal und keine V β -Ketten nachweisbar) nachgewiesen. Ähnliche Ergebnisse wurden zuvor von Eyrich et al. beschrieben. Dort verfügten Kinder mit malignen hämatologischen Erkrankungen im ersten halben Jahr nach Transplantation ebenfalls ein vermindertes TZR-Repertoire (Eyrich et al., 2002). Andere Studien berichteten ebenfalls von einem reduzierten TZR-Repertoire in den ersten Monaten nach Transplantation (Verfuerth et al., 2000, Wu et al., 2000).

Patienten mit einer nicht malignen Erkrankung hatten ebenfalls ein verändertes TZR-Repertoire, zeigten jedoch einen geringeren Anteil an stark reduzierten (monoklonal, keine V β -Ketten nachweisbar) TZR-Spectratypes. Bei einigen Patienten ließ sich bereits ein polyklonal verzerrtes Repertoire feststellen. Laut Roux et al. stammen die meisten T-Zellen in erster Zeit nach Transplantation aus transfundierten Spenderlymphozyten oder sind residuale Empfänger-T-Zellen, die durch die Konditionierungsbehandlung nicht eliminiert wurden (Roux et al., 1996). In der vorliegenden Arbeit erhielten Patienten mit nicht malignen Erkrankungen eine toxizitätsreduzierte Konditionierung. Folglich könnte, in den ersten Monaten nach Transplantation, die höhere Diversität des TZR-Repertoires der Patienten mit einer nicht malignen Erkrankung auf T-Zellen, die die Konditionierungsbehandlung überlebt haben, zurückzuführen sein.

Generell war das TZR-Repertoire in allen Gruppen in den ersten Monaten nach Transplantation reduziert. In den ersten Monaten nach Transplantation gehen die T-Zellen überwiegend thymusunabhängig durch periphere Expansion von transplantierten T-Zellen hervor. Die somit initial generierten T-Zellen weisen ein limitiertes und verzerrtes TZR-Repertoire auf (Wu et al., 2000, Klein et al., 2001, Hakim and Gress, 2002).

Ein halbes Jahr nach Stammzelltransplantation kommt es durch eine thymusabhängige Generierung naiver T-Zellen zu einer zunehmenden Normalisierung und Vervollständigung des TZR-Repertoires (Wu et al., 2000, Klein et al., 2001, Hakim and Gress, 2002). Ein Anteil der Patienten zeigte zu jenem Zeitpunkt eine beginnende Rekonstitution des TZR-Repertoires. Dabei ergaben sich Unterschiede zwischen den Gruppen. Im Vergleich zu den anderen Gruppen wiesen die Kinder mit einem Stoffwechseldefekt sechs Monate nach

HSZT, den größten Anteil an V β -Familien mit polyklonal gaussian verteiltem TZR-Repertoire (38%) auf – gefolgt von Kindern mit einem Immundefekt (24%) und Kindern mit einer Anämie/Hämoglobinopathie (17%). Den geringsten Anteil an normalverteilten TZR-Spectratypes erfüllte die Gruppe der Leukämien (Anteil polyklonal gaussian: 4%). In den Gruppen der nicht malignen Erkrankungen erreichten einige V β -Familien eine vergleichbare Anzahl an Peaks wie die Stammzellspender (Immundefekte: V β 6a, V β 8a; Stoffwechseldefekte: V β 5.1, V β 6a; Anämien/Hämoglobinopathien: V β 6a). Hingegen war in der Gruppe der Leukämien bis ein halbes Jahr nach Transplantation eine niedrigere Anzahl an Peaks für alle V β -Familien zu verzeichnen.

Insgesamt konnte eine beginnende, jedoch keine vollständige Rekonstitution des TZR-Repertoires beobachtet werden. Ähnliche Ergebnisse erzielte eine pädiatrische Studie mit malignen hämatologischen Erkrankungen, in der eine beginnende Normalisierung des TZR-Repertoires ein halbes Jahr nach Transplantation beobachtet wurde (Eyrich et al., 2002). Der Beobachtungszeitraum in der vorliegenden Studie war zu kurz, um eine vollständige Rekonstitution des TZR-Repertoires zu untersuchen. In der Literatur wurde nach einer Nabelschnurbluttransplantation bei Kindern mit malignen und nicht malignen Erkrankungen eine Normalisierung des TZR-Repertoires erst nach ein bis zwei Jahren wahrgenommen (Klein et al., 2001).

Werden die Ergebnisse innerhalb der Erkrankungsgruppen verglichen, so wird deutlich, dass ein halbes Jahr nach HSZT eine schnellere Rekonstitution des TZR-Repertoires bei Kindern mit nicht malignen Erkrankungen (Immundefekte, Stoffwechseldefekte, Anämie/Hämoglobinopathie) als bei Kindern mit einer malignen Erkrankung (Leukämie) festgestellt werden konnte.

Dabei konnte die Konditionierungsbehandlung als wesentlicher Einflussfaktor auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires eruiert werden. Bei Patienten, die an einer Leukämie erkrankt sind, führt die myeloablative Konditionierungstherapie mit Ganzkörperbestrahlung zu einer langsameren Rekonstitution des Repertoires (Friedman et al., 2001, Glowala-Kosinska et al., 2016). Eine frühere Studie mit ähnlichen Konditionierungsregime zeigte, dass eine MAC mit TBI im Vergleich zu einer intensitätsreduzierten Therapie auf Fludarabin-Basis zu einer langsameren Rekonstitution des TZR-Repertoires führte (Friedman et al., 2001). Dabei sind im Vergleich zur vorliegenden Studie das erwachsene Patientenalter sowie die geringe Anzahl der Patienten (n=9) zu beachten. Jedoch konnten die Auswirkungen einer MAC mit TBI auf das TZR-Repertoire in einer weiteren Studie bestätigt werden. Ein Jahr nach autologer HSZT waren bei Patienten mit alleiniger Chemotherapie eine höhere Thymusaktivität und eine höhere Diversität des TZR-Repertoires feststellbar. Folglich führte eine Ganzkörperbestrahlung vermehrt zu

Thymusschädigung und zu abnormalem TZR-Repertoire nach Transplantation (Glowala-Kosinska et al., 2016).

Zudem ist unklar, ob die Grunderkrankung die Rekonstitution des TZR-Repertoires beeinflusst. Vielmehr kann die langsamere Rekonstitution des TZR-Repertoires bei Patienten mit einer malignen Erkrankung auf die Bekämpfung der Grunderkrankung vor Transplantation zurückzuführen sein. Maligne Erkrankungen, darunter Leukämien, erfordern eine intensive chemotherapeutische Behandlung, die aufgrund ihrer myelosuppressiven Wirkung zu einer Lymphozytendepletion und folglich zu einer reduzierten Diversität des TZR-Repertoires führen kann (Mackall et al., 1994). Dies könnte in der vorliegenden Arbeit für die verringerte Diversität des TZR-Repertoires bei Patienten mit einer Leukämie vor Transplantation ursächlich sein und den Verlauf der Rekonstitution des TZR-Repertoires beeinflussen.

Im Gegensatz dazu rekonstituierte bei Patienten mit Stoffwechseldefekten das TZR-Repertoire am schnellsten. Innerhalb dieser Gruppe wurde eine geringere Anzahl an Infektionen (33%) und GvHD (33%) im Vergleich zu den anderen Gruppen bemerkt.

Nur ein Drittel der Patienten (33%) mit Stoffwechseldefekten erkrankte an einer GvHD, während in den anderen Gruppen jeweils die Hälfte der Patienten (50%) von einer GvHD betroffen waren. Mehrere Studien konnten einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer GvHD und einer Verzögerung der Rekonstitution des TZR-Repertoires nachweisen (Liu et al., 2006, Du et al., 2007, Clave et al., 2009). Außerdem fiel auf, dass bei Patienten mit Stoffwechseldefekten weniger Infektionen auftraten (33%) als bei Patienten mit Immundefekten (71%), Anämien/Hämoglobinopathien (83%) und Leukämien (67%). Mit einem Anteil von 75% überwogen insgesamt Infektionen viraler Genese. Das Auftreten von Infektionen ist ebenso mit einer verzögerten Immunrekonstitution assoziiert (Mehta and Rezvani, 2016) und kann zu einer geringeren Diversität des TZR-Repertoires führen (Peggs et al., 2003). Dies würde innerhalb der Gruppen der nicht malignen Erkrankungen eine verzögerte Rekonstitution des TZR-Repertoires bei Patienten mit einer Anämie/Hämoglobinopathie erklären. Es fiel auf, dass diese Patienten die höchste Anzahl an Infektionen (83%) aufwiesen und dadurch möglicherweise das Repertoire langsamer rekonstituierte.

Insgesamt wurde in diesem Patientenkollektiv ein halbes Jahr nach Transplantation bei Patienten mit nicht malignen Erkrankungen eine beginnende Rekonstitution des TZR-Repertoires festgestellt, während die Patienten mit malignen Erkrankungen ein weiterhin reduziertes TZR-Repertoire hatten. Um den Zeitpunkt einer vollständigen Rekonstitution des TZR-Repertoires zu untersuchen, müsste dieses Patientenkollektiv über einen

längeren Zeitraum von ein bis zwei Jahren beobachtet werden. Zudem sollte das TZR-Repertoire weiterer Patienten mit malignen Erkrankungen ermittelt werden, um bessere Vergleiche anstellen zu können.

9.4 Rekonstitution der T-Zellen nach HSZT

Ein weiterer Gegenstand dieser Arbeit war es, die T-Zell-Rekonstitution innerhalb der unterschiedlichen Erkrankungsgruppen zu untersuchen und deren Korrelation mit dem TZR-Repertoire nach HSZT zu ermitteln.

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit wurde deutlich, dass die T-Zellen innerhalb der verschiedenen Gruppen ein halbes Jahr nach Transplantation unterschiedlich wiederhergestellt waren. In den Gruppen Immundefekte, Stoffwechseldefekte und Anämie/Hämoglobinopathie lagen ein halbes Jahr nach HSZT die Mediane der absoluten T-Zell-Zahlen im Normbereich. Im Gegensatz dazu wurde bei Kindern mit einer Leukämie eine T-Zellzahl unterhalb der altersentsprechenden Normwerte erfasst. Diese Ergebnisse lassen sich mit anderen pädiatrischen Studien mit malignen und nicht malignen Erkrankungen vergleichen, in denen die T-Zellen zwischen sechs und zwölf Monaten nach Transplantation vollständig rekonstituiert waren (Klein et al., 2001, Law et al., 2012).

Analog zur Rekonstitution des TZR-Repertoires fiel auf, dass bei Kindern mit einer Leukämie die T-Zellen langsamer rekonstituierten als bei Kindern mit einer nicht malignen Erkrankung. Insgesamt hängt die Schnelligkeit der Rekonstitution der T-Zellen wesentlich von der Thymusfunktion ab. Mehrere Studien konnten eine schädliche Auswirkung auf den Thymus nach myeloablativer Konditionierung mit Ganzkörperbestrahlung nachweisen (Jimenez et al., 2005, Glowala-Kosinska et al., 2016). In einer Studie von Jimenez et al. zeigten Patienten, die eine RIC erhalten hatten höhere TREC-Konzentrationen sechs Monate nach Transplantation im Vergleich zu Patienten die eine myeloablativ Konditionierung mit TBI bekommen hatten. Ebenso wurde eine höhere Anzahl an CD4⁺-T-Zellen nach RIC beobachtet (Jimenez et al., 2005). Eine eingeschränkte Thymusfunktion kann auch hier ursächlich für die langsamere T-Zell-Rekonstitution der Patienten mit einer Leukämie, die eine MAC erhielten, im Vergleich zu den Patienten mit einer nicht malignen Erkrankung, die ein RIC bekamen, sein.

Hinsichtlich der Thymusfunktion spielt auch das Alter eine ausschlaggebende Rolle. Bei Erwachsenen ist die thymusabhängige Generierung naiver T-Zellen im Vergleich zu Kindern verzögert (Hakim and Gress, 2002). Eine hohe Diversität des TZR-Repertoires kann bei Erwachsenen erst nach drei Jahren erzielt werden, während Kinder bereits nach einem Jahr ein diverses Repertoire aufweisen (Klein et al., 2001). Möglicherweise könnten die jüngeren Patienten mit einer nicht malignen Erkrankung, darunter vorrangig Patienten mit einem Stoffwechseldefekt (Altersmedian 1,5 Jahre), einen Vorteil bezüglich der T-Zell-

Rekonstitution gegenüber den durchschnittlichen Älteren Leukämiepatienten (Altersmedian: 13 Jahre) haben.

Außerdem soll die Stammzellart die Regeneration der thymusunabhängigen T-Zellen beeinflussen. In der Literatur führten periphere Blutstammzelltransplantate zu einer rascheren Immunrekonstitution als Knochenmarktransplantate (Champlin et al., 2000, Storek et al., 2001). Diese Beobachtungen konnten innerhalb der vorliegenden Kohorte nicht bestätigt werden, da fast alle Patienten mit einer Leukämie periphere Stammzellen erhielten und dennoch eine langsamere T-Zell-Rekonstitution gegenüber Patienten mit nicht malignen Erkrankungen aufwiesen, die überwiegend Knochenmarktransplantate erhalten hatten. Somit scheint die Stammzellquelle keinen wesentlichen Einfluss auf die T-Zell-Rekonstitution in der hier untersuchten Kohorte zu haben. Ebenso konnte der Einfluss einer GvHD innerhalb dieser Kohorte aufgrund eines ähnlichen Vorkommens innerhalb der Gruppen vernachlässigt werden.

Die zytotoxischen CD8⁺-T-Zellen regenerierten in allen Gruppen rasch. Bei den Kindern mit einem Immundefekt waren die zytotoxischen-T-Zellen bereits 30 Tage nach HSZT numerisch regeneriert. Bei den Gruppen Stoffwechseldefekt, Anämie/Hämoglobinopathie und Leukämie lagen die zytotoxischen T-Zellen ab dem zweiten Monat nach HSZT im Normbereich. Im Vergleich dazu wurde eine verzögerte Rekonstitution in der CD4⁺-T-Zell-Subpopulation festgestellt. Ausschließlich in der Gruppe der Stoffwechseldefekte wurden sechs Monate nach Transplantation altersentsprechende Normwerte der T-Helfer-Zellen im unteren Bereich gemessen. In den anderen Gruppen waren die CD4⁺-T-Zellen ein halbes Jahr nach HSZT noch nicht vollständig rekonstituiert.

In der Literatur wurde ebenso eine schnellere Rekonstitution der CD8⁺-T-Zellen als der CD4⁺-T-Zellen beschrieben (Wu et al., 2000, Fallen et al., 2003). Ursächlich für die langsamere Rekonstitution der CD4⁺-T-Zellen ist die thymusabhängige Regeneration, die erst später beginnt. Im Gegensatz regenerieren sich die CD8⁺-T-Zellen rasch in den ersten Monaten nach Transplantation (Hakim and Gress, 2002). Dabei wird eine thymusunabhängige Entwicklung der CD8⁺-T-Zellen angenommen (Kennedy et al., 1992, Holland et al., 2012). Kennedy et al. bestätigte, dass CD8⁺-T-Zellen in lymphatischen Organen (Milz und Lymphknoten) athymischer Mäuse nachgewiesen wurden (Kennedy et al., 1992). Ebenso wies Holland et al. eine extrathymische Reifung von T-Zellen bei athymischen Mäusen nach Knochenmarktransplantation nach (Holland et al., 2012).

Aufgrund des kurzen Beobachtungszeitraumes nach Transplantation konnte keine vollständige CD4⁺-T-Zellen Rekonstitution beobachtet werden. Laut Fallen et al. kommt es nach 12 Monaten zu einer Normalisierung der CD4⁺-T-Zellen (Fallen et al., 2003). Klein et

al. beschrieben eine Rekonstitution der CD4⁺-T-Zellen bei Kindern bereits zwischen sechs und zwölf Monaten nach Transplantation (Klein et al., 2001).

Schließlich korrelierte die T-Zell-Rekonstitution der verschiedenen Gruppen mit den Ergebnissen aus den TZR-Spectratypes, indem Kinder mit nicht malignen Erkrankungen eine schnellere Rekonstitution der T-Zellen sowie des TZR-Repertoires als Kinder mit malignen Erkrankungen aufwiesen. Dabei führte eine niedrige T-Zell-Zahl zu einer geringeren Diversität des TZR-Repertoires (Memon et al., 2012). Trotz Normalisierung der Gesamt-T-Zell-Zahl war das TZR-Repertoire in allen Gruppen noch nicht normalisiert. Vielmehr scheint das TZR-Repertoire mit der Rekonstitution der CD4⁺-T-Zellen zu korrelieren, die thymusabhängig generiert werden und ein halbes Jahr nach Transplantation noch nicht vollständig rekonstituiert waren (Hakim and Gress, 2002, Seggewiss and Einsele, 2010). Genauso wie die Differenzierung der T-Zellen zu CD4⁺-T-Zellen, findet die somatische Rekombination zur Entstehung des TZR im Thymus statt (Murphy and Weaver, 2018d).

9.5 Rekonstitution des TZR-Repertoires in Abhängigkeit der Konditionierung

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit bestand darin zu untersuchen, wie die Art einer Konditionierungsbehandlung die Rekonstitution des TZR-Repertoires beeinflusst.

In dieser Studie konnte ein Einfluss der Art der Konditionierungsbehandlung auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires gezeigt werden. Insgesamt wiesen die Patienten sechs Monate nach myeloablativer Konditionierung mit Ganzkörperbestrahlung eine langsamere Rekonstitution des TZR-Repertoires gegenüber Patienten nach einer toxizitätsreduzierten Konditionierung ohne TBI auf. Der Anteil an normalverteilten TZR-Spectratypes war in der Gruppe mit RIC mit 26% höher, als in der Gruppe mit MAC (5% polyklonal gaussian). Eine statistische Signifikanz wurde vermutlich aufgrund der geringen Größe der MAC-Gruppe (n=5) noch nicht erreicht ($p = 0,068$). Jedoch erreichte die Gruppe mit RIC eine statistisch signifikant höhere Anzahl an Peaks für alle V β -Familien als die Gruppe mit MAC ($p < 0,001$).

Es fiel auf, dass vor Transplantation das TZR-Repertoire der Gruppe mit einer myeloablativen Konditionierungsbehandlung bereits vermindert war, während bei den Patienten mit RIC ein größtenteils normalverteiltes TZR-Repertoire vorhanden war. Die Patienten in der Gruppe mit MAC litten sämtlich an einer akuten Leukämie und wurden vor Transplantation mit einer Chemotherapie behandelt, die aufgrund der myelosuppressiven Wirkung häufig zu einer Lymphopenie führt und folglich die Diversität des TZR-Repertoires reduziert (Mackall et al., 1994). Dies könnte vermutlich zu einer langsameren Immunrekonstitution nach Transplantation führen.

Darüber hinaus haben frühere Studien gezeigt, dass die Konditionierungstherapie die Schnelligkeit der Rekonstitution des TZR-Repertoires beeinflussen kann (Friedman et al., 2001, Glowala-Kosinska et al., 2016). In einer Studie von Friedman et al. konnte bei Patienten nach RIC eine schnellere Rekonstitution des TZR-Repertoires nach Transplantation nachgewiesen werden als bei Patienten die eine myeloablative Konditionierung mit TBI erhalten hatten (Friedman et al., 2001). Auch Glowala-Kosinska et al. konnten ähnliche Auswirkungen einer myeloablativen Konditionierungsbehandlung mit TBI auf das TZR-Repertoire nachweisen. Dabei zeigten Patienten, die mit TBI vorbehandelt worden waren, eine langsamere Rekonstitution des TZR-Repertoires im Vergleich zu Patienten, die ausschließlich eine Chemotherapie erhalten hatten. Ursächlich hierfür war eine vermehrte Thymusschädigung nach Ganzkörperbestrahlung (Glowala-Kosinska et al., 2016).

Insgesamt bestätigen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, die Beobachtungen aus der Literatur, indem Patienten mit myeloablativer Konditionierungsbehandlung mit TBI eine verzögerte Rekonstitution des TZR-Repertoires aufwiesen. Dabei erhielten ausschließlich Patienten mit einer Leukämie ein myeloablatives Konditionierungsprotokoll. Bei Patienten mit malignen Erkrankungen ist ein myeloablatives Regimen jedoch meist erwünscht, um zu verhindern, dass die Grunderkrankung durch residuale Tumorzellen erneut auftritt (Copelan, 2006, Gyurkocza et al., 2010). Insgesamt muss als limitierender Faktor die geringere Größe der Gruppe mit MAC (n=5) gegenüber der anderen Gruppe (n=23), berücksichtigt werden. Außerdem wurde in der vorliegenden Arbeit, im Vergleich zu den anderen Studien, Patienten mit unterschiedlichen Grunderkrankungen (nicht maligne und maligne) untersucht, die ebenso einen Einfluss auf die Immunrekonstitution haben können.

9.6 Einfluss viraler Infektionen auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires

Es wurde untersucht, inwieweit Infektionen nach HSZT auftreten und die Rekonstitution des TZR-Repertoires beeinflussen.

Im Verlauf von sechs Monaten nach Transplantation traten innerhalb der gesamten Patientenkohorte bei 21 Patienten (66%) Infektionen auf. Die Infektionshäufigkeit war innerhalb der vier Erkrankungsgruppen unterschiedlich verteilt und variierte zwischen 33-83%. Die niedrigste Infektionsrate hatten Patienten mit Stoffwechseldefekten (33%), während 83% der Patienten mit einer Anämie/Hämoglobinopathie an einer Infektion erkrankten. Die Häufigkeit korrelierte mit den von Srinivasan et al. publizierten Beobachtungen (Srinivasan et al., 2013). Im Vergleich zu unserer Studie traten dort jedoch mehr bakterielle als virale Infektionen auf.

In diesem Patientenkollektiv handelte es sich überwiegend um virale Infektionen (75% aller Ereignisse), am häufigsten kamen CMV-Infektionen vor. Diese können durch ein

Transplantat von seropositivem Spender oder durch eine Reaktivierung des latenten Virus bei seropositivem Empfänger bedingt sein (Ljungman, 2008).

In der Mehrzahl der Fälle traten die Infektionen im ersten Monat nach HSZT auf und korrelierten somit mit der Phase der Aplasie nach Transplantation. Die CMV-Virämien können aber bis mehrere Monate nach HSZT persistieren (Schuster and Laws, 2005, Mehta and Rezvani, 2016).

Darüber hinaus wurde der Einfluss einer viralen Infektion auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires untersucht. In der vorliegenden Arbeit zeigten Patienten mit einer viralen Infektion im Verlauf von sechs Monaten nach Transplantation eine etwas geringere Rekonstitution des TZR-Repertoires gegenüber Patienten, die keine virale Infektion hatten. Dabei war der Anteil an V β -Familien mit normalverteiltem TZR-Repertoire in beiden Gruppen vergleichbar (mit Virusinfektion: 19% polyklonal gaussian vs. ohne Virusinfektion: 25%). Hier zeigte sich keine Signifikanz ($p = 0,380$). Die Anzahl der Peaks war sechs Monate nach HSZT in der Gruppe ohne virale Infektion meistens gering höher, jedoch ohne statistische Signifikanz ($p = 0,103$).

Dennoch fiel ein höherer Anteil an abnormalen bzw. oligoklonal verteilten TZR-Spectratypes innerhalb der Patientengruppe mit Virusinfektion auf (mit Virusinfektion: 47% oligoklonal vs. ohne Virusinfektion 27%). Ein vermehrtes Auftreten oligoklonaler TZR-Spectratypes nach einer viralen Infektion wurde ebenfalls in einer Studie von Peggs et al. beobachtet. Darin wurde der Einfluss einer CMV-Infektion auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires nach autologer HSZT untersucht. Das Auftreten einer CMV-Infektion war mit geringerer Diversität des TZR-Repertoires assoziiert und korrelierte teilweise mit klonalen T-Zell-Expansionen, die in den Spectratypes als „Peak“ dargestellt wurden (Peggs et al., 2003). In der vorliegenden Arbeit traten klonale T-Zell-Expansionen in 12 von 13 Fällen mit einer CMV-Infektion auf. Schließlich ist die verzögerte Rekonstitution des TZR-Repertoires in dieser Studie vermutlich unter anderem auf klonal expandierte CD8⁺-T-Zellen im Rahmen von CMV-Infektionen zurückzuführen.

Insgesamt führte eine virale Infektion zu einer vergleichbaren Rekonstitution des TZR-Repertoires wie bei Patienten ohne Auftreten einer viralen Infektion. Dennoch wurde bei Patienten mit einer viralen Infektion ein vermehrtes Auftreten abnormaler bzw. oligoklonaler Spectratypes beobachtet.

9.7 Einfluss einer GvHD auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires

Es wurde ermittelt, wie häufig eine akute GvHD nach HSZT vorkam. In der vorliegenden Arbeit entwickelten im Verlauf von sechs Monate nach HSZT insgesamt 15 Patienten (47%) eine akute GvHD. Dabei trat eine GvHD zu ähnlichen Anteilen zwischen den vier Erkrankungsgruppen auf, am häufigsten lag eine GvHD der Schweregrade I und II vor (31%). Die Inzidenz ist mit denen anderer Studien vergleichbar (Ferrara et al., 2009, Burroughs et al., 2014). In einer Studie von Burroughs et al. entwickelten 62% der Patienten mit nicht malignen Erkrankungen nach toxisitätsreduzierter Konditionierung (Treosulfan, Fludarabin und Thymoglobulin) eine akute GvHD. Die etwas höhere Inzidenz soll in der Studie von Burroughs et al. auf einen höheren Anteil unverwandter Stammzellspender zurückzuführen sein (27/31) (Burroughs et al., 2014).

Zudem stellte sich die Frage, inwiefern das Auftreten einer akuten GvHD die Rekonstitution des TZR-Repertoires beeinflusst. In der vorliegenden Arbeit zeigten Patienten, die im Verlauf von sechs Monaten nach HSZT eine GvHD entwickelten, eine verzögerte Rekonstitution des TZR-Repertoires gegenüber Patienten ohne GvHD. Der Anteil an normalverteilten TZR-Spectratypes war bei Patienten ohne GvHD signifikant höher als bei Patienten mit akuter GvHD (30% vs. 12%) ($p < 0,016$). Zudem erreichte die Gruppe ohne GvHD eine höhere Anzahl an Peaks für zwei V β -Familien (V β 5.1 und V β 8a) als diejenige mit einer GvHD. Hier zeigte sich einen Trend, jedoch keine Signifikanz ($p = 0,071$). Zu beachten ist, dass die Beurteilung der Klonalität der Spectratypes aussagekräftiger als die Anzahl der Peaks ist, da eine polyklonale Gauß'sche Verteilung, die als normales TZR-Repertoire betrachtet wird, sich anhand der Verteilung des TZR-Repertoires besser beurteilen lässt.

Diese Ergebnisse lassen sich mit Beobachtungen aus anderen Studien vergleichen, in denen ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer akuten GvHD und einer Verzögerung der Rekonstitution des TZR-Repertoires beobachtet wurde (Liu et al., 2006, Du et al., 2007, Clave et al., 2009). In einer Studie von Liu et al. zeigten Patienten mit vorliegender GvHD nach HSZT eine geringere Diversität des TZR-Repertoires als Patienten die keine GvHD entwickelten (Liu et al., 2006). In einem Probandenkollektiv von 93 Patienten wiesen laut Clave et al. Patienten mit einer akuten GvHD ein halbes Jahr nach HSZT ein reduziertes TZR-Repertoire auf sowie eine geringere Anzahl an naiven CD4⁺-T-Zellen, im Vergleich zu gesunden Patienten. Dies war vermutlich auf eine vorübergehende Beeinträchtigung der Thymusfunktion nach akuter GvHD zurückzuführen (Clave et al., 2009). Laut Du et al. ließen Patienten mit akuter GvHD Grad II-IV ebenso eine geringere Diversität des TZR-Repertoires erkennen als Patienten ohne GvHD. Dabei sollen expandierte T-Zell-Klone das Repertoire verzerren (Du et al., 2007).

Eine direkte Korrelation zwischen einer veränderten V β -Familie mit der Klinik einer GvHD ließ sich im Gegensatz zur Studie von Du et al. in der vorliegenden Arbeit nur bedingt nachweisen, da nicht alle existierenden V β -Familien untersucht wurden, sondern nur vier. Es wurden oligoklonale T-Zell-Expansionsen zu gleichen Anteilen bei nachgewiesener GvHD und ohne GvHD beobachtet. Es müssten alle V β -Familien ermittelt werden, um zu einer besseren Beurteilung zu gelangen.

Insgesamt beeinflusste das Auftreten einer GvHD die Rekonstitution des TZR-Repertoires ein halbes Jahr nach HSZT, indem es zu einer reduzierten Diversität führte. Weitere Faktoren, die die Rekonstitution des TZR-Repertoires beeinträchtigen können, wie etwa eine myeloablative Konditionierungsbehandlung mit TBI und eine maligne Grunderkrankung, konnten hier ausgeschlossen werden, da die gleiche Anzahl an Patienten mit den genannten Faktoren in beiden Gruppen vorkam.

9.8 Schwächen der Studie

Bei der PCR muss eine allgemeine Fehleranfälligkeit berücksichtigt werden, u. a. mögliche Verunreinigungen der DNA, die auftreten können. Zudem wurden die Spectratypes visuell analysiert, indem die Anzahl der Peaks gezählt und die Klonalität der Spectratypes anhand gesunder Stammzellspender beurteilt wurde. Vor allem die Bestimmung der Klonalität ist subjektiv und kann fehleranfällig sein. Dabei wurden vier Primer zur Analyse ausgewählt, um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten.

Des Weiteren konnte aufgrund der relativ kurzen Nachbeobachtungszeit von einem halben Jahr nach Transplantation nicht der Zeitpunkt einer vollständigen Rekonstitution des TZR-Repertoires im Vergleich zu anderen Arbeiten festgestellt werden. Dennoch lässt sich die Schnelligkeit der TZR-Rekonstitution nach bestimmten Einflussfaktoren (Konditionierungsbehandlung, Infektionen und GvHD) in diesem Zeitraum durchaus beurteilen. Möglicherweise ist aufgrund der begrenzten Größe des untersuchten Patientenkollektivs die Aussagekraft eingeschränkt.

Prospektiv sollte eine Untersuchung des TZR-Repertoires in einem größeren Patientenkollektiv und über einen längeren Zeitraum von ein bis zwei Jahren erstrebt werden, um den Zeitpunkt einer vollständigen Rekonstitution des TZR-Repertoires festzustellen.

10 Zusammenfassung

Die klinische Diagnosestellung von Immundefekten stellt aufgrund des variablen Erscheinungsbildes eine Herausforderung dar. Hierfür wurden Warnzeichen entwickelt, die zur schnelleren Identifizierung von Patienten mit Immundefekten dienen sollen. Es stellt sich die Frage, ob anhand der aktuellen Warnzeichen-Sets (DSAI, AWMF, Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem negativ prädiktiven Wert (NPV) und maximalem Youden-Index), ein Immundefekt erkannt wird und ob eine ausreichende Differenzierung zu Immungesunden möglich ist.

Im ersten Teil dieser Arbeit erfolgte eine retrospektive Analyse der Daten von 243 Patienten der Immundefektambulanz des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf vom 01.12.2017 bis 31.11.2018. Bei 91 Kindern wurde ein Immundefekt nachgewiesen, 152 wiesen keinen Immundefekt auf. Die Patienten wurden auf das Vorliegen eines Immundefekts anhand der aktuellen Warnzeichen-Sets evaluiert.

Es zeigte sich eine unterschiedliche Wertigkeit der vier Warnzeichen Kataloge zur klinischen Diagnosestellung von Immundefekten innerhalb dieser Kohorte. Die AWMF-Warnzeichen wiesen die höchste Sensitivität auf (98%) und konnten somit den größten Anteil an Patienten mit einem Immundefekt erkennen, jedoch auf Kosten einer niedrigen Spezifität (11%). Die weiteren Warnzeichen-Sets vermochten nur einen geringen Anteil der Kinder mit einem Immundefekt zu diagnostizieren (DSAI: 24%, Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem NPV: 50% und maximalem Youden-Index: 22%) und waren somit als diagnostisches Instrument in der vorliegenden Patientenkohorte weniger geeignet. Vor allem Immundefekte, die mit einer Immundysregulation einhergehen wie Autoimmunität oder Autoinflammation, wurden fast ausschließlich durch die AWMF-Warnzeichen erfasst und durch die anderen Warnzeichen-Sets kaum adressiert. Zudem erlaubte die starke Eingrenzung der Düsseldorfer-Warnzeichen nicht die gesamte Bandbreite der Immundefekte zu erfassen.

Schließlich kann bei positiven AWMF-Warnzeichen der Verdacht auf einen Immundefekt gestellt werden. Dennoch muss berücksichtigt werden, dass dadurch auch viele immungesunde Patienten einer umfangreichen Diagnostik unterzogen werden. Um dies zu verhindern, soll für bestehende Symptome eine anderweitige häufigere Ursache vorab ausgeschlossen werden.

Zukünftig sind weitere Studien mit größerem Patientenkollektiv nötig, um die Warnzeichen für Immundefekte weiter zu untersuchen. Vor allem die AWMF- und Düsseldorfer-Warnzeichen konnten mit einer einzigen verfügbaren Studie verglichen werden und bedürfen weiterer Vergleiche.

Die Immunrekonstitution nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation (HSZT) kann anhand der Rekonstitution des T-Zell-Rezeptor (TZR)-Repertoires evaluiert werden. Bislang haben nur wenige Studien das TZR-Repertoire von Patienten vor und nach HSZT untersucht. Ziel dieser Arbeit ist es, mögliche Einflussfaktoren auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires zu analysieren.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde das TZR-Repertoire von 32 pädiatrischen Patienten vor und 1-6 Monate nach HSZT mittels V β -Spectratyping untersucht. In Abhängigkeit der Grunderkrankung wurde eine unterschiedliche Regeneration des TZR-Repertoires festgestellt. Vor Transplantation war bei Patienten mit einer nicht malignen Erkrankung (Immundefekt, Stoffwechseldefekt, Anämie/Hämoglobinopathie) das TZR-Repertoire größtenteils normalverteilt (>73% polyklonal gaussian), während Patienten mit einer malignen Erkrankung (Leukämie), vermutlich aufgrund der zytostatischen Therapie zur Bekämpfung der Grunderkrankung, eine verringerte Diversität zeigten (25% polyklonal gaussian). Ein halbes Jahr nach HSZT wiesen Patienten mit nicht malignen Erkrankungen eine beginnende Rekonstitution des TZR-Repertoires auf (24%, 38%, 17% polyklonal gaussian), während Patienten mit malignen Erkrankungen ein weiterhin reduziertes TZR-Repertoire hatten (4% polyklonal gaussian, 70% oligoklonal). Die Rekonstitution der T-Zellen korrelierte mit dem TZR-Repertoire und war mit der Rekonstitution der CD4⁺-T-Zellen vergleichbar.

Die Konditionierungsbehandlung konnte als Einflussfaktor auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires identifiziert werden. Dabei erhielten Patienten mit einer nicht malignen Erkrankung eine toxisitätsreduzierte Konditionierungsbehandlung (RIC) und Patienten mit einer malignen Erkrankung eine myeloablative Konditionierung (MAC). Die MAC bedingte eine langsamere Rekonstitution des TZR-Repertoires gegenüber Patienten nach RIC (Anteil polyklonal gaussian: 26% vs. 5%, $p = 0,068$; 34 Peaks vs. 26, $p < 0,001$). Virale Infektionen hatten keinen wesentlichen Einfluss auf die Rekonstitution des TZR-Repertoires (Anteil polyklonal gaussian: 25% vs. 19%, $p = 0,380$). Dennoch fiel ein höherer Anteil an oligoklonal verteilten TZR-Spectratypes bei Patienten mit einer viralen Infektion auf (47% vs. 27%). Bei Zytomegalieviren (CMV)-Infektionen wurden klonale T-Zell-Expansionen identifiziert, die das Repertoire verzerrten. Außerdem führte eine Spender-gegen-Wirt-Krankheit (engl. Graft-versus-Host Disease, GvHD) zu einer verzögerten Rekonstitution des TZR-Repertoires gegenüber Patienten ohne GvHD (polyklonal gaussian: 30% vs. 12%, $p < 0,016$).

Zusammenfassend konnte in dieser Arbeit die Rekonstitution des TZR-Repertoires unter Berücksichtigung verschiedener Einflussfaktoren nach HSZT beschrieben werden, trotz der relativ kleinen Kohorte.

The clinical diagnosis of immunodeficiencies is challenging due to the variable presentation of the disease. For this purpose, warning signs have been developed to help identify patients with immunodeficiency more quickly. The question arises, whether an immunodeficiency can be detected on the basis of the current warning sign sets (DSAI, AWMF, Düsseldorf Warning Signs with maximal negative predictive value (NPV) and maximal Youden-Index) and whether a sufficient differentiation from immune healthy individuals is possible.

In the first part of this work, a retrospective analysis of data from 243 patients of the immunodeficiency center of the University Medical Center Hamburg-Eppendorf from 01.12.2017 to 31.11.2018 was performed. 91 Children were found to have an immunodeficiency, 152 did not have an immunodeficiency. Patients were evaluated for the presence of an immunodeficiency using the current warning sign sets.

Different value of the four warning sign catalogs for clinical diagnosis of immunodeficiency was found within this cohort. The AWMF warning signs had the highest sensitivity (98%) and thus were able to detect the largest proportion of patients with immunodeficiency, but at the expense of a low specificity (11%). The other sets of warning signs were only able to diagnose a small proportion of children with an immunodeficiency (DSAI: 24%, Düsseldorf warning signs with maximal NPV: 50% and maximal Youden-Index: 22%) and were thus less suitable as a diagnostic tool in the present patient cohort. In particular, immunodeficiencies associated with immune dysregulation such as autoimmunity or autoinflammation were almost exclusively recognized by the AWMF warning signs and hardly addressed by the other warning sign sets. In addition, the strong limitation of the Düsseldorf warning signs did not allow to cover the whole range of immunodeficiencies.

Finally, positive AWMF warning signs may raise the suspicion of an immunodeficiency. Nevertheless, it must be considered that this also subjects many immune healthy patients to extensive diagnostics. In order to prevent this, another more common cause should be excluded in advance for existing symptoms.

In the future, further studies with a larger patient population are needed to further investigate the warning signs of immunodeficiency. Especially the AWMF und Düsseldorf warning signs could be compared with a single available study and require further comparison.

Immune reconstitution after hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) can be evaluated by the reconstitution of the T cell receptor (TCR) repertoire. To date, few studies have examined the TCR repertoire of patients before and after HSCT. The aim of this work is to analyze possible factors influencing the reconstitution of the TCR repertoire.

In the second part of this work, the TCR repertoire of 32 pediatric patients was examined before and 1-6 months after HSCT using V β -Spectratyping. Depending on the underlying disease, a different regeneration of the TCR repertoire was found. Before transplantation, patients with a nonmalignant disease (immunodeficiency, metabolic defect, anemia/hemoglobinopathy) had a mostly normal distribution of the TCR repertoire (>73% polyclonal gaussian), whereas patients with a malignant disease (leukemia) showed a reduced diversity (25% polyclonal gaussian), presumably due to the cytostatic therapy to treat the underlying disease. Six months after HSCT, patients with nonmalignant diseases showed an incipient reconstitution of the TCR repertoire (24%, 38%, 17% polyclonal gaussian), whereas patients with malignant diseases continued to have a reduced TCR repertoire (4% polyclonal gaussian, 70% oligoclonal). The T cell reconstitution correlated with the TCR repertoire and was comparable to CD4⁺ T cell reconstitution.

Conditioning treatment was identified as an influencing factor on the reconstitution of the TCR repertoire. Here, patients with a nonmalignant disease received a reduced intensity conditioning treatment (RIC) and patients with a malignant disease received a myeloablative conditioning (MAC). MAC caused slower reconstitution of the TCR repertoire compared with patients after RIC (polyclonal gaussian: 26% vs. 5%, $p = 0,068$; 34 Peaks vs. 26, $p < 0,001$). Viral infections did not significantly affect the reconstitution of the TCR repertoire (polyclonal gaussian: 25% vs. 19%, $p = 0,380$). Nevertheless, a higher proportion of oligoclonal distributed spectratypes was noticeable in patients with a viral infection (47% vs. 27%). Clonal T-cell expansions were identified in cytomegalovirus (CMV) infections, which skewed the repertoire. In addition, Graft-versus-Host Disease (GvHD) resulted in delayed reconstitution of the TCR repertoire compared to patients without GvHD (polyclonal gaussian: 30% vs. 12%, $p < 0,016$).

In conclusion, this work described the reconstitution of the TCR repertoire considering various influencing factors after HSCT, despite the relatively small cohort.

11 Abkürzungsverzeichnis

| | |
|----------------|--|
| AD-HIES | Autosomal dominantes Hyper-IgE-Syndrom |
| ADA2-Defizienz | Adenosin deaminase 2-Defizienz |
| ALL | Akute lymphatische Leukämie |
| AML | Akute myeloische Leukämie |
| ANAs | Antinukleäre Antikörper |
| AR-HIES | Autosomal rezessives Hyper-IgE-Syndrom |
| ATG | Antithymozytenglobulin |
| AWMF | Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften |
| BTK | Bruton-Tyrosinkinase |
| CAPS | Cryopyrin-assoziiertes periodisches Syndrom |
| CD3 | Cluster of Differentiation 3 |
| CDR3 | Complementarity-Determining Region 3 (komplementaritätsbestimmende Region 3) |
| CED | Chronisch entzündliche Darmerkrankung (Inflammatory Bowel Disease, IBD) |
| CGD | Chronic Granulomatous Disease (septische Granulomatose) |
| CMV | Zytomegalievirus |
| CVID | Common Variable Immunodeficiency (variables Immundefektsyndrom) |
| Cy | Cytarabin |
| DBA | Diamond-Blackfan-Anämie |
| dNTP | Desoxyribonukleosidtriphosphate |
| DSAI | Deutsche Selbsthilfe Angeborene Immundefekte e.V. |
| EBV | Epstein-Barr-Virus |
| ESID | European Society for Immunodeficiency (Europäisches Patientenregister für Immundefekte) |
| FHL | Familiäre hämophagozytische Lymphohistiozytose |
| Flu | Fludarabin |
| FMF | Familiäres Mittelmeerfieber |
| FOXP3 | Forkhead-Box-P3 |
| G-CSF | Granulocyte-Colony Stimulating Factor (Granulozyten-Kolonie- stimulierende Faktor) |
| GATA2 | GATA-binding Protein 2 |
| GvHD | Graft-versus-Host Disease (Spender-gegen-Wirt-Krankheit) |

| | |
|-------------|---|
| GvL | Graft-versus-Leukämie |
| Gy | Gray |
| HHV-6 | Humanes Herpesvirus 6 |
| HIV | Humanes Immundefizienz-Virus |
| HLA | Humanes Leukozyten-Antigen |
| HLH | Hämophagozytische Lymphohistiozytose |
| HPV | Humane Papillomviren |
| HSV | Herpes-simplex-Virus |
| HSZT | Hämatopoetische Stammzelltransplantation |
| i. v. | Intravenös |
| IgA | Immunglobulin A |
| IgE | Immunglobulin E |
| IgG | Immunglobulin G |
| IgM | Immunglobulin M |
| IPEX | Immundysregulation-Polyendokrinopathie-Enteropathie-X-chromosomal |
| JMF | Jeffrey Modell Foundation |
| jMLD | Juvenile Metachromatische Leukodystrophie |
| KM-Versagen | Knochenmarkversagen |
| MAC | Myeloablative Conditioning (myeloablative Konditionierung) |
| MBL | Mannose-bindendes Lektin |
| MDS | Myelodysplastisches Syndrom |
| MECOM | MDS1- and EVI1-Complex-Locus-Protein EVI1 |
| MEFV-Gen | Mediterranean-Fever-Gen |
| MHC | Major Histocompatibility Complex (Haupthistokompatibilitätskomplex) |
| MPS | Mukopolysaccharidose |
| MRD | Matched-Related-Donor (Familienspender) |
| MUD | Matched-Unrelated-Donor (Fremdspender) |
| NGS | Next Generation Sequencing |
| NK Zellen | Natürliche Killerzellen |
| NPV | Negative Predictive Value (negativ prädiktiver Wert) |
| NSAR | Nichtsteroidales Antirheumatikum |
| PCR | Polymerase-Kettenreaktion |
| PFAPA | Periodisches Fieber mit aphtöser Stomatitis, Pharyngitis und zervikale Lymphadenopathie |
| PID | Primärer Immundefekt |

| | |
|-------------|--|
| PPV | Positive Predictive Value (positiv prädiktiver Wert) |
| PRRs | Pattern Recognition Receptors |
| RIC | Reduced Intensity Conditioning (dosisreduzierte bzw. toxizitätsreduzierte Konditionierung) |
| RNA | Ribonukleinsäure |
| SCID | Severe Combined Immunodeficiency (schwerer kombinierter Immundefekt) |
| SAA | Serum Amyloid A |
| SLE | Systemischer Lupus erythematodes |
| TBI | Total Body Irradiation (Ganzkörperbestrahlung) |
| TDT | Terminale-Desoxynukleotidyltransferase |
| Thymo | Thymoglobulin |
| TLR3-Defekt | Toll-like-rezeptor 3-Defekt |
| TREC | T-Cell-Receptor-Excision-Circles (T-Zell-Rezeptor-Exzisionskreise) |
| Treo | Treosulfan |
| TT | Thiotepa |
| TZR | T-Zell-Rezeptor |
| VP-16 | Etoposid |
| VSAA | Very Severe Aplastic Anemia (sehr schwere aplastische Anämie) |
| VZV | Varizella-Zoster-Virus |
| XIAP | X-linked-Inhibitor-of-Apoptosis-Protein |
| XLA | X-chromosomal vererbte Agammaglobulinämie |
| XLP-2 | X-chromosomales lymphoproliferatives Syndrom 2 |

12 Tabellenverzeichnis

| | |
|---|-----|
| Tabelle 1: Warnzeichen anhand der Leitsymptome für Immundefekte..... | 27 |
| Tabelle 2: Vereinfachte Tel Hashomer-Kriterien..... | 48 |
| Tabelle 3: Vierfeldertafel..... | 52 |
| Tabelle 4: Darstellung der Patientencharakteristika der vier Erkrankungsgruppen..... | 54 |
| Tabelle 5: Einteilung der Konditionierung in Gruppen..... | 55 |
| Tabelle 6: Reagenzien Agarose-Gelelektrophorese | 56 |
| Tabelle 7: Primersequenzen Spectratyping..... | 57 |
| Tabelle 8: Diagnosen der 91 Patienten mit vorhandenem Immundefekt innerhalb des untersuchten Kollektivs | 62 |
| Tabelle 9: Anteil der Kinder mit und ohne Immundefekt nach den Testkriterien der DSAI eingeteilt nach der Art des Immundefekts | 64 |
| Tabelle 10: Vergleich der Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der Warnzeichen der DSAI innerhalb der unterschiedlichen Immundefektgruppen | 65 |
| Tabelle 11: Anteil der Kinder mit und ohne Immundefekt nach den Testkriterien der AWMF-Leitlinie eingeteilt nach der Art des Immundefekts | 68 |
| Tabelle 12: Vergleich der Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der Warnzeichen der AWMF-Leitlinie innerhalb der unterschiedlichen Immundefektgruppen | 69 |
| Tabelle 13: Anteil der Kinder mit und ohne Immundefekt nach den Düsseldorfer Testkriterien mit maximalen NPV eingeteilt nach Art des Immundefekts | 73 |
| Tabelle 14: Vergleich der Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalen NPV innerhalb der unterschiedlichen Immundefektgruppen | 74 |
| Tabelle 15: Anteil der Kinder mit und ohne Immundefekt nach den Düsseldorfer Testkriterien mit maximalem Youden-Index eingeteilt nach der Art des Immundefekts..... | 77 |
| Tabelle 16: Vergleich der Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV der Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem Youden-Index innerhalb der unterschiedlichen Immundefektgruppen..... | 78 |
| Tabelle 17: Auffällige Laborwerte bei Patienten mit autoinflammatorischen Syndromen | 81 |
| Tabelle 18: Auffällige Laborwerte bei Patienten mit Komplementdefekten..... | 81 |
| Tabelle 19: Auffällige Laborwerte bei Patienten mit zellulären Immundefekten..... | 82 |
| Tabelle 20: Auffällige Laborwerte bei Patienten mit humoralen Immundefekten | 83 |
| Tabelle 21: Auffällige Laborwerte bei Patienten mit Immundysregulation | 84 |
| Tabelle 22: Auffällige Laborwerte bei Patienten mit Knochenmarkversagen..... | 85 |
| Tabelle 23: Vergleich der Infektionshäufigkeit in den ersten sechs Monaten nach HSZT in der gesamten Kohorte und innerhalb der vier Erkrankungsgruppen (Immundefekt, Stoffwechseldefekt, Anämie/Hämoglobinopathie, Leukämie) | 102 |
| Tabelle 24: Vergleich des Auftretens einer GvHD in den ersten sechs Monaten nach HSZT in der gesamten Kohorte und innerhalb der vier Erkrankungsgruppen (Immundefekt, Stoffwechseldefekt, Anämie/Hämoglobinopathie, Leukämie) | 105 |

13 Abbildungsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Abbildung 1: Struktur des T-Zell-Rezeptors..... | 31 |
| Abbildung 2: T-Zell-Rezeptor-Komplex | 32 |
| Abbildung 3: Somatische Rekombination des TZR | 33 |
| Abbildung 4: Einteilung der Klonalität der Spectratypes | 58 |
| Abbildung 5: Verteilung der Altersklassen der untersuchten Patientenkohorte | 60 |
| Abbildung 6: Einteilung der Immundefekte in Gruppen, nach betroffenem immunologischem System..... | 61 |
| Abbildung 7: Vorkommen der Warnzeichen der DSAI bei Kindern mit und ohne Immundefekt | 66 |
| Abbildung 8: Vorkommen der Warnzeichen der DSAI innerhalb der Immundefektgruppen | 67 |
| Abbildung 9: Vorkommen der Warnzeichen der AWMF-Leitlinie bei Kindern mit und ohne Immundefekt | 70 |
| Abbildung 10: Vorkommen der Warnzeichen der AWMF-Leitlinie innerhalb der Immundefektgruppen | 72 |
| Abbildung 11: Vorkommen der Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem NPV bei Kindern mit und ohne Immundefekt | 75 |
| Abbildung 12: Vorkommen der Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem NPV innerhalb der Immundefektgruppen | 76 |
| Abbildung 13: Vorkommen der Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem Youden-Index bei Kindern mit und ohne Immundefekt | 79 |
| Abbildung 14: Vorkommen der Düsseldorfer Warnzeichen mit maximalem Youden-Index innerhalb der Immundefektgruppen | 80 |
| Abbildung 15: Vergleich der Klonalität des TZR-Repertoires in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten mit Immundefekten | 87 |
| Abbildung 16: Vergleich der Anzahl der erreichten Peaks der jeweiligen V β -Familien (2, 5.1, 6a, 8a) in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten mit Immundefekten | 88 |
| Abbildung 17: Vergleich der Klonalität des TZR-Repertoires in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten mit Stoffwechseldefekten | 89 |
| Abbildung 18: Vergleich der Anzahl der erreichten Peaks der jeweiligen V β -Familien (2, 5.1, 6a, 8a) in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten mit Stoffwechseldefekten | 90 |
| Abbildung 19: Vergleich der Klonalität des TZR-Repertoires in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten mit Anämien/Hämoglobinopathien | 91 |
| Abbildung 20: Vergleich der Anzahl der erreichten Peaks der jeweiligen V β -Familien (2, 5.1, 6a, 8a) in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten mit Anämien/Hämoglobinopathien | 92 |
| Abbildung 21: Vergleich der Klonalität des TZR-Repertoires in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten mit Leukämien | 93 |
| Abbildung 22: Vergleich der Anzahl der erreichten Peaks der jeweiligen V β -Familien (2, 5.1, 6a, 8a) in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten mit Leukämien | 94 |
| Abbildung 23: Darstellung der T-Zell-Rekonstitution nach HSZT bei Patienten mit Immundefekten | 95 |

| | |
|---|-----|
| Abbildung 24: Darstellung der T-Zell-Rekonstitution nach HSZT bei Patienten mit Stoffwechseldefekten | 96 |
| Abbildung 25: Darstellung der T-Zell-Rekonstitution nach HSZT bei Patienten mit Anämien/Hämoglobinopathien..... | 97 |
| Abbildung 26: Darstellung der T-Zell-Rekonstitution nach HSZT bei Patienten mit Leukämien | 97 |
| Abbildung 27: Vergleich der Klonalität des TZR-Repertoires in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten nach Konditionierungsbehandlung mit RIC vs. MAC..... | 99 |
| Abbildung 28: Vergleich der Anzahl der erreichten Peaks der jeweiligen V β -Familien (2, 5.1, 6a, 8a) in den ersten sechs Monaten nach HSZT von Patienten nach Konditionierungsbehandlung mit RIC vs. MAC | 100 |
| Abbildung 29: Vergleich der Klonalität des TZR-Repertoires sechs Monate nach HSZT von Patienten ohne und mit Auftreten einer Virusinfektion | 103 |
| Abbildung 30: Vergleich der Anzahl der erreichten Peaks der jeweiligen V β -Familien (2, 5.1, 6a, 8a) ein halbes Jahr nach HSZT von Patienten ohne und mit Auftreten einer Virusinfektion | 104 |
| Abbildung 31: Vergleich der Klonalität des TZR-Repertoires sechs Monate nach HSZT von Patienten ohne und mit Auftreten einer GvHD | 106 |
| Abbildung 32: Darstellung der Anzahl der erreichten Peaks der jeweiligen V β -Familien (2, 5.1, 6a, 8a) ein halbes Jahr nach HSZT von Patienten ohne und mit Auftreten einer GvHD..... | 107 |

14 Literaturverzeichnis

- Aguilar, C. & Latour, S. (2015) X-linked inhibitor of apoptosis protein deficiency: more than an X-linked lymphoproliferative syndrome. *J Clin Immunol*, 35, 331-338.
- Al-Shaikhly, T. & Ochs, H. D. (2019) Hyper IgE syndromes: clinical and molecular characteristics. *Immunol Cell Biol*, 97, 368-379.
- Alghamdi, M. (2017) Familial Mediterranean fever, review of the literature. *Clin Rheumatol*, 36, 1707-1713.
- Ameratunga, R., Ahn, Y., Steele, R. & Woon, S. T. (2019) Transient hypogammaglobulinaemia of infancy: many patients recover in adolescence and adulthood. *Clin Exp Immunol*, 198, 224-232.
- Ammann, S., Lehmborg, K., Zur Stadt, U., Janka, G., Rensing-Ehl, A., Klemann, C., Heeg, M., Bode, S., Fuchs, I. & Ehl, S. (2017) Primary and secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis have different patterns of T-cell activation, differentiation and repertoire. *European Journal of Immunology*, 47, 364-373.
- Angelucci, E., Matthes-Martin, S., Baronciani, D., Bernaudin, F., Bonanomi, S., Cappellini, M. D., Dalle, J. H., Di Bartolomeo, P., De Heredia, C. D., Dickerhoff, R., Giardini, C., Gluckman, E., Hussein, A. A., Kamani, N., Minkov, M., Locatelli, F., Rocha, V., Sedlacek, P., Smiers, F., Thuret, I., Yaniv, I., Cavazzana, M., Peters, C., Error, E. I. & Parties, E. P. W. (2014) Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia major and sickle cell disease: indications and management recommendations from an international expert panel. *Haematologica*, 99, 811-820.
- Arkwright, P. D., Abinun, M. & Cant, A. J. (2002) Autoimmunity in human primary immunodeficiency diseases. *Blood*, 99, 694-702.
- Arkwright, P. D. & Gennery, A. R. (2011) Ten warning signs of primary immunodeficiency: a new paradigm is needed for the 21st century. *Ann N Y Acad Sci*, 1238, 7-14.
- Arnold, D. E. & Heimall, J. R. (2017) A Review of Chronic Granulomatous Disease. *Adv Ther*, 34, 2543-2557.
- Atilla, E., Atilla, P. A., Bozdog, S. C. & Demirel, T. (2017) A review of infectious complications after haploidentical hematopoietic stem cell transplantations. *Infection*, 45, 403-411.
- Aydin, S. E., Freeman, A. F., Al-Herz, W., Al-Mousa, H. A., Amaout, R. K., Aydin, R. C., Barlogis, V., Belohradsky, B. H., Bonfim, C., Bredius, R. G., Chu, J. I., Ciocarlie, O. C., Dogu, F., Gaspar, H. B., Geha, R. S., Gennery, A. R., Hauck, F., Hawwari, A., Hickstein, D. D., Hoenig, M., Ikinciogullari, A., Klein, C., Kumar, A., Ifversen, M. R. S., Matthes, S., Metin, A., Neven, B., Pai, S. Y., Parikh, S. H., Picard, C., Renner, E. D., Sanal, O., Schulz, A. S., Schuster, F., Shah, N. N., Shereck, E. B., Slatter, M. A., Su, H. C., Van Montfrans, J., Woessmann, W., Ziegler, J. B. & Albert, M. H. (2019) Hematopoietic Stem Cell Transplantation as Treatment for Patients with DOCK8 Deficiency. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 7, 848-855.
- Bacchetta, R., Barzaghi, F. & Roncarolo, M. G. (2018) From IPEX syndrome to FOXP3 mutation: a lesson on immune dysregulation. *Ann N Y Acad Sci*, 1417, 5-22.

- Ballou, M. (2002) Primary immunodeficiency disorders: antibody deficiency. *J Allergy Clin Immunol*, 109, 581-591.
- Barzaghi, F., Passerini, L. & Bacchetta, R. (2012) Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, x-linked syndrome: a paradigm of immunodeficiency with autoimmunity. *Front Immunol*, 3, 211.
- Batu, E. D. (2019) Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis (PFAPA) syndrome: main features and an algorithm for clinical practice. *Rheumatol Int*, 39, 957-970.
- Baumann, U. (2017) Klinische Warnzeichen für Immundefekte. *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 165, 1063-1081.
- Bemark, M., Holmqvist, J., Abrahamsson, J. & Mellgren, K. (2012) Translational Mini-Review Series on B cell subsets in disease. Reconstitution after haematopoietic stem cell transplantation - revelation of B cell developmental pathways and lineage phenotypes. *Clin Exp Immunol*, 167, 15-25.
- Ben-Chetrit, E. & Touitou, I. (2009) Familial mediterranean Fever in the world. *Arthritis Rheum*, 61, 1447-1453.
- Berkun, Y. & Eisenstein, E. M. (2014) Diagnostic criteria of familial Mediterranean fever. *Autoimmun Rev*, 13, 388-390.
- Bjelac, J. A., Yonkof, J. R. & Fernandez, J. (2019) Differing Performance of the Warning Signs for Immunodeficiency in the Diagnosis of Pediatric Versus Adult Patients in a Two-Center Tertiary Referral Population. *J Clin Immunol*, 39, 90-98.
- Booty, M. G., Chae, J. J., Masters, S. L., Remmers, E. F., Barham, B., Le, J. M., Barron, K. S., Holland, S. M., Kastner, D. L. & Aksentijevich, I. (2009) Familial Mediterranean fever with a single MEFV mutation: where is the second hit? *Arthritis Rheum*, 60, 1851-1861.
- Botto, L. D., May, K., Fernhoff, P. M., Correa, A., Coleman, K., Rasmussen, S. A., Merritt, R. K., O'leary, L. A., Wong, L. Y., Elixson, E. M., Mahle, W. T. & Campbell, R. M. (2003) A population-based study of the 22q11.2 deletion: phenotype, incidence, and contribution to major birth defects in the population. *Pediatrics*, 112, 101-107.
- Boyle, J. M. & Buckley, R. H. (2007) Population prevalence of diagnosed primary immunodeficiency diseases in the United States. *J Clin Immunol*, 27, 497-502.
- Burroughs, L. M., Nemecek, E. R., Torgerson, T. R., Storer, B. E., Talano, J. A., Domm, J., Giller, R. H., Shimamura, A., Delaney, C., Skoda-Smith, S., Thakar, M. S., Baker, K. S., Rawlings, D. J., Englund, J. A., Flowers, M. E., Deeg, H. J., Storb, R. & Woolfrey, A. E. (2014) Treosulfan-based conditioning and hematopoietic cell transplantation for nonmalignant diseases: a prospective multicenter trial. *Biol Blood Marrow Transplant*, 20, 1996-2003.
- Castagnoli, R., Delmonte, O. M., Calzoni, E. & Notarangelo, L. D. (2019) Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Primary Immunodeficiency Diseases: Current Status and Future Perspectives. *Front Pediatr*, 7, 295.
- Champlin, R. E., Schmitz, N., Horowitz, M. M., Chapuis, B., Chopra, R., Cornelissen, J. J., Gale, R. P., Goldman, J. M., Loberiza, F. R., Jr., Hertenstein, B., Klein, J. P., Montserrat, E., Zhang, M. J., Ringden, O., Tomany, S. C., Rowlings, P. A., Van Hoef, M. E. & Gratwohl, A. (2000) Blood stem cells compared with bone marrow

as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation. IBMTR Histocompatibility and Stem Cell Sources Working Committee and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Blood*, 95, 3702-3709.

- Chandesris, M. O., Melki, I., Natividad, A., Puel, A., Fieschi, C., Yun, L., Thumerelle, C., Oksenhendler, E., Boutboul, D., Thomas, C., Hoarau, C., Lebranchu, Y., Stephan, J. L., Cazorla, C., Aladjidi, N., Micheau, M., Tron, F., Baruchel, A., Barlogis, V., Palenzuela, G., Mathey, C., Dominique, S., Body, G., Munzer, M., Fouyssac, F., Jaussaud, R., Bader-Meunier, B., Mahlaoui, N., Blanche, S., Debre, M., Le Bourgeois, M., Gandemer, V., Lambert, N., Grandin, V., Ndaga, S., Jacques, C., Harre, C., Forveille, M., Alyanakian, M. A., Durandy, A., Bodemer, C., Suarez, F., Hermine, O., Lortholary, O., Casanova, J. L., Fischer, A. & Picard, C. (2012) Autosomal dominant STAT3 deficiency and hyper-IgE syndrome: molecular, cellular, and clinical features from a French national survey. *Medicine (Baltimore)*, 91, e1-19.
- Chandrakasan, S., Chandra, S., Davila Saldana, B. J., Torgerson, T. R. & Buchbinder, D. (2019) Primary immune regulatory disorders for the pediatric hematologist and oncologist: A case-based review. *Pediatr Blood Cancer*, 66, e27619.
- Chiriaco, M., Salfa, I., Di Matteo, G., Rossi, P. & Finocchi, A. (2016) Chronic granulomatous disease: Clinical, molecular, and therapeutic aspects. *Pediatr Allergy Immunol*, 27, 242-253.
- Cirillo, E., Giardino, G., Gallo, V., D'assante, R., Grasso, F., Romano, R., Di Lillo, C., Galasso, G. & Pignata, C. (2015) Severe combined immunodeficiency--an update. *Ann N Y Acad Sci*, 1356, 90-106.
- Clave, E., Busson, M., Douay, C., Peffault De Latour, R., Berrou, J., Rabian, C., Carmagnat, M., Rocha, V., Charron, D., Socie, G. & Toubert, A. (2009) Acute graft-versus-host disease transiently impairs thymic output in young patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 113, 6477-6484.
- Comans-Bitter, W. M., De Groot, R., Van Den Beemd, R., Neijens, H. J., Hop, W. C., Groeneveld, K., Hooijkaas, H. & Van Dongen, J. J. (1997) Immunophenotyping of blood lymphocytes in childhood. Reference values for lymphocyte subpopulations. *J Pediatr*, 130, 388-393.
- Copelan, E. A. (2006) Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *New England Journal of Medicine*, 354, 1813-1826.
- Crooks, G. M., Weinberg, K. & Mackall, C. (2006) Immune reconstitution: from stem cells to lymphocytes. *Biol Blood Marrow Transplant*, 12, 42-6.
- Cunningham-Rundles, C. (2019) Common variable immune deficiency: case studies. *Blood*, 134, 1787-1795.
- Cunningham-Rundles, C. & Bodian, C. (1999) Common Variable Immunodeficiency: Clinical and Immunological Features of 248 Patients. *Clinical Immunology*, 92, 34-48.
- D'souza, A., Lee, S., Zhu, X. & Pasquini, M. (2017) Current Use and Trends in Hematopoietic Cell Transplantation in the United States. *Biol Blood Marrow Transplant*, 23, 1417-1421.
- Dale, D. C. (2017) How I manage children with neutropenia. *Br J Haematol*, 178, 351-363.

- De Vries, E. (2006) Patient-centred screening for primary immunodeficiency: a multi-stage diagnostic protocol designed for non-immunologists. *Clin Exp Immunol*, 145, 204-214.
- De Vries, E. & Driessen, G. (2011) Educational paper: Primary immunodeficiencies in children: a diagnostic challenge. *Eur J Pediatr*, 170, 169-177.
- Dickinson, A. M., Norden, J., Li, S., Hromadnikova, I., Schmid, C., Schmetzer, H. & Jochem-Kolb, H. (2017) Graft-versus-Leukemia Effect Following Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Leukemia. *Front Immunol*, 8, 496.
- Du, J. W., Gu, J. Y., Liu, J., Cen, X. N., Zhang, Y., Ou, Y., Chu, B. & Zhu, P. (2007) TCR spectratyping revealed T lymphocytes associated with graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma*, 48, 1618-1627.
- Ehl, S. & Speckmann, C. (2014c) T-zelluläre und kombinierte Immundefekte. In: *Pädiatrie - Grundlagen und Praxis*. Hoffmann, G. F., Lentze, M. J., Spranger, J. & Zepp, F. (Hrsg.) 4 Aufl., Bd. 1, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 704-709.
- El-Helou, S. M., Biegner, A. K., Bode, S., Ehl, S. R., Heeg, M., Maccari, M. E., Ritterbusch, H., Speckmann, C., Rusch, S., Scheible, R., Warnatz, K., Atschekzei, F., Beider, R., Ernst, D., Gerschmann, S., Jablonka, A., Mielke, G., Schmidt, R. E., Schurmann, G., Sogkas, G., Baumann, U. H., Klemann, C., Viemann, D., Von Bernuth, H., Kruger, R., Hanitsch, L. G., Scheibenbogen, C. M., Wittke, K., Albert, M. H., Eichinger, A., Hauck, F., Klein, C., Rack-Hoch, A., Sollinger, F. M., Avila, A., Borte, M., Borte, S., Fasshauer, M., Hauenherm, A., Kellner, N., Muller, A. H., Ulzen, A., Bader, P., Bakhtiar, S., Lee, J. Y., Hess, U., Schubert, R., Wolke, S., Zielen, S., Ghosh, S., Laws, H. J., Neubert, J., Oommen, P. T., Honig, M., Schulz, A., Steinmann, S., Schwarz, K., Duckers, G., Lamers, B., Langemeyer, V., Niehues, T., Shai, S., Graf, D., Muglich, C., Schmalzing, M. T., Schwaneck, E. C., Tony, H. P., Dirks, J., Haase, G., Liese, J. G., Morbach, H., Foell, D., Hellige, A., Wittkowski, H., Masjosthusmann, K., Mohr, M., Geberzahn, L., Hedrich, C. M., Muller, C., Rosen-Wolff, A., Roesler, J., Zimmermann, A., Behrends, U., Rieber, N., Schauer, U., Handgretinger, R., Holzer, U., Henes, J., Kanz, L., Boesecke, C., Rockstroh, J. K., Schwarze-Zander, C., Wasmuth, J. C., Dilloo, D., Hulsman, B., Schonberger, S., Schreiber, S., Zeuner, R., Ankermann, T., Von Bismarck, P., et al. (2019) The German National Registry of Primary Immunodeficiencies (2012-2017). *Front Immunol*, 10, 1272.
- El-Sayed, Z. A., Abramova, I., Aldave, J. C., Al-Herz, W., Bezrodnik, L., Boukari, R., Bousfiha, A. A., Cancrini, C., Condino-Neto, A., Dbaibo, G., Derfalvi, B., Dogu, F., Edgar, J. D. M., Eley, B., El-Owaidy, R. H., Espinosa-Padilla, S. E., Galal, N., Haerynck, F., Hanna-Wakim, R., Hossny, E., Ikinciogullari, A., Kamal, E., Kanegane, H., Kechout, N., Lau, Y. L., Morio, T., Moschese, V., Neves, J. F., Ouederni, M., Paganelli, R., Paris, K., Pignata, C., Plebani, A., Qamar, F. N., Qureshi, S., Radhakrishnan, N., Rezaei, N., Rosario, N., Routes, J., Sanchez, B., Sediva, A., Seppanen, M. R., Serrano, E. G., Shcherbina, A., Singh, S., Siniah, S., Spadaro, G., Tang, M., Vinet, A. M., Volokha, A. & Sullivan, K. E. (2019) X-linked agammaglobulinemia (XLA): Phenotype, diagnosis, and therapeutic challenges around the world. *World Allergy Organ J*, 12, 100018.
- Esteban, Y. M., De Jong, J. L. O. & Teshler, M. S. (2017) An Overview of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Pediatr Ann*, 46, 309-313.

- European Society for Immunodeficiencies (2016) *ESID Registry - Working Definitions for Clinical Diagnosis of PID*. [Online im Internet] URL: <https://esid.org/Working-Parties/Registry-Working-Party/Diagnosis-criteria> [Stand 16.10.2019].
- Eyrich, M., Croner, T., Leiler, C., Lang, P., Bader, P., Klingebiel, T., Niethammer, D. & Schlegel, P. G. (2002) Distinct contributions of CD4(+) and CD8(+) naive and memory T-cell subsets to overall T-cell-receptor repertoire complexity following transplantation of T-cell-depleted CD34-selected hematopoietic progenitor cells from unrelated donors. *Blood*, 100, 1915-1918.
- Fallen, P. R., Mcgreavey, L., Madrigal, J. A., Potter, M., Ethell, M., Prentice, H. G., Guimaraes, A. & Travers, P. J. (2003) Factors affecting reconstitution of the T cell compartment in allogeneic haematopoietic cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant*, 32, 1001-14.
- Farmand, S., Baumann, U., Von Bernuth, H., Borte, M., Borte, S., Boztug, K., Förster-Waldl, E., Franke, K., Habermehl, P., Hauck, F., Kapaun, P., Klock, G., Liese, J., Marks, R., Müller, R., Niehues, T., Sack, U., Schulze, I., Schuster, V., Schwarz, K., Renz, H., Warnatz, K., Welte, T., Witte, T. & Ehl, S. (2017) *Interdisziplinäre S2k Leitlinie zur Diagnostik von primären Immundefekten*. Deutschland [Online im Internet] URL: https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/112-001I_S2k_Primaere_Immundefekte_PID_2017-11_verlaengert.pdf [Stand 12.02.2021].
- Farruggia, P. & Dufour, C. (2015) Diagnosis and management of primary autoimmune neutropenia in children: insights for clinicians. *Ther Adv Hematol*, 6, 15-24.
- Ferrara, J. L. M., Levine, J. E., Reddy, P. & Holler, E. (2009) Graft-versus-host disease. *The Lancet*, 373, 1550-1561.
- Filipovich, A. H., Weisdorf, D., Pavletic, S., Socie, G., Wingard, J. R., Lee, S. J., Martin, P., Chien, J., Przepiorka, D., Couriel, D., Cowen, E. W., Dinndorf, P., Farrell, A., Hartzman, R., Henslee-Downey, J., Jacobsohn, D., McDonald, G., Mittleman, B., Rizzo, J. D., Robinson, M., Schubert, M., Schultz, K., Shulman, H., Turner, M., Vogelsang, G. & Flowers, M. E. (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. *Biol Blood Marrow Transplant*, 11, 945-956.
- Fischer, A., Provot, J., Jais, J. P., Alcais, A., Mahlaoui, N. & Members of The, C. F. P. I. D. S. G. (2017) Autoimmune and inflammatory manifestations occur frequently in patients with primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol*, 140, 1388-1393
- Forsvoll, J., Kristoffersen, E. K. & Oymar, K. (2013) Incidence, clinical characteristics and outcome in Norwegian children with periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and cervical adenitis syndrome; a population-based study. *Acta Paediatr*, 102, 187-192.
- Friedman, T. M., Varadi, G., Hopely, D. D., Filicko, J., Wagner, J., Ferber, A., Martinez, J., Brunner, J., Grosso, D., McGuire, L., Korngold, R. & Flomenberg, N. (2001) Nonmyeloablative conditioning allows for more rapid T-cell repertoire reconstitution following allogeneic matched unrelated bone marrow transplantation compared to myeloablative approaches. *Biol Blood Marrow Transplant*, 7, 656-664.
- Gambineri, E., Perroni, L., Passerini, L., Bianchi, L., Doglioni, C., Meschi, F., Bonfanti, R., Sznajer, Y., Tommasini, A., Lawitschka, A., Junker, A., Dunstheimer, D.,

- Heidemann, P. H., Cazzola, G., Cipolli, M., Friedrich, W., Janic, D., Azzi, N., Richmond, E., Vignola, S., Barabino, A., Chiumello, G., Azzari, C., Roncarolo, M. G. & Bacchetta, R. (2008) Clinical and molecular profile of a new series of patients with immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome: inconsistent correlation between forkhead box protein 3 expression and disease severity. *J Allergy Clin Immunol*, 122, 1105-1112
- Garderet, L., Dulphy, N., Douay, C., Chalumeau, N., Schaeffer, V., Zilber, M. T., Lim, A., Even, J., Mooney, N., Gelin, C., Gluckman, E., Charron, D. & Toubert, A. (1998) The umbilical cord blood alphabeta T-cell repertoire: characteristics of a polyclonal and naive but completely formed repertoire. *Blood*, 91, 340-346.
- Gary S. Marshall, M. D. K. M. E., M.D. Joseph Butler, M.D. Alexander R. Lawton (1987) Syndrome of periodic fever, pharyngitis, and aphthous stomatitis. *J Pediatr.*, 110 43-46.
- Gathmann, B., Goldacker, S., Klima, M., Belohradsky, B. H., Notheis, G., Ehl, S., Ritterbusch, H., Baumann, U., Meyer-Bahlburg, A., Witte, T., Schmidt, R., Borte, M., Borte, S., Linde, R., Schubert, R., Bienemann, K., Laws, H. J., Dueckers, G., Roesler, J., Rothoef, T., Krüger, R., Scharbatke, E. C., Masjosthusmann, K., Wasmuth, J. C., Moser, O., Kaiser, P., Groß-Wieltsch, U., Classen, C. F., Horneff, G., Reiser, V., Binder, N., El-Helou, S. M., Klein, C., Grimbacher, B. & Kindle, G. (2013) The German national registry for primary immunodeficiencies (PID). *Clin Exp Immunol*, 173, 372-380.
- Gavrilova, T. (2019) Considerations for hematopoietic stem cell transplantation in primary immunodeficiency disorders. *World J Transplant*, 9, 48-57.
- Gennery, A. R. (2012) Immunological aspects of 22q11.2 deletion syndrome. *Cell Mol Life Sci*, 69, 17-27.
- Gennery, A. R. & Cant, A. J. (2001) Diagnosis of severe combined immunodeficiency. *Journal of Clinical Pathology*, 54, 191-195.
- Germeshausen, M., Ancliff, P., Estrada, J., Metzler, M., Ponstingl, E., Rutschle, H., Schwabe, D., Scott, R. H., Unal, S., Wawer, A., Zeller, B. & Ballmaier, M. (2018) MECOM-associated syndrome: a heterogeneous inherited bone marrow failure syndrome with amegakaryocytic thrombocytopenia. *Blood Adv*, 2, 586-596.
- Glowala-Kosinska, M., Chwieduk, A., Smagur, A., Fidyk, W., Najda, J., Mitrus, I. & Giebel, S. (2016) Thymic Activity and T Cell Repertoire Recovery after Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation Preceded by Myeloablative Radiotherapy or Chemotherapy. *Biol Blood Marrow Transplant*, 22, 834-42.
- Glucksberg, H., Storb, R. & Fefer, A. (1974) Clinical manifestations of graft-versus-host-disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation*, 18, 295-304.
- Gorski, J., Yassai, M., Zhu, X., Kissela, B., Kissella, B., Keever, C. & Flomenberg, N. (1994) Circulating T cell repertoire complexity in normal individuals and bone marrow recipients analyzed by CDR3 size spectratyping. Correlation with immune status. *J Immunol*, 152, 5109-5119.
- Greystoke, B., Bonanomi, S., Carr, T. F., Gharib, M., Khalid, T., Coussons, M., Jagani, M., Naik, P., Rao, K., Goulden, N., Amrolia, P., Wynn, R. F. & Veys, P. A. (2008) Treosulfan-containing regimens achieve high rates of engraftment associated with

- low transplant morbidity and mortality in children with non-malignant disease and significant co-morbidities. *Br J Haematol*, 142, 257-262.
- Grimbacher, B., Holland, S. M., Gallin, J. I., Greenberg, F., Hill, S. C., Malech, H. L., Miller, J. A., O'connell, A. C. & Puck, J. M. (1999) Hyper-IgE syndrome with recurrent infections--an autosomal dominant multisystem disorder. *N Engl J Med*, 340, 692-702.
- Grumach, A. S. & Kirschfink, M. (2014) Are complement deficiencies really rare? Overview on prevalence, clinical importance and modern diagnostic approach. *Mol Immunol*, 61, 110-107.
- Gyurkocza, B., Rezvani, A. & Storb, R. F. (2010) Allogeneic hematopoietic cell transplantation: the state of the art. *Expert Rev Hematol*, 3, 285-299.
- Gyurkocza, B. & Sandmaier, B. M. (2014) Conditioning regimens for hematopoietic cell transplantation: one size does not fit all. *Blood*, 124, 344-353.
- Hakim, F. T. & Gress, R. E. (2002) Reconstitution of thymic function after stem cell transplantation in humans. *Curr Opin Hematol*, 9, 490-496.
- Hanna, S. & Etzioni, A. (2014) MHC class I and II deficiencies. *J Allergy Clin Immunol*, 134, 269-275.
- Hartono, S., Ippoliti, M. R., Mastroianni, M., Torres, R. & Rider, N. L. (2019) Gastrointestinal Disorders Associated with Primary Immunodeficiency Diseases. *Clin Rev Allergy Immunol*, 57, 145-165.
- Heitzeneder, S., Seidel, M., Forster-Waldl, E. & Heitger, A. (2012) Mannan-binding lectin deficiency - Good news, bad news, doesn't matter? *Clin Immunol*, 143, 22-38.
- Henig, I. & Zuckerman, T. (2014) Hematopoietic stem cell transplantation-50 years of evolution and future perspectives. *Rambam Maimonides Med J*, 5, e0028.
- Hentschke, P., Omazic, B., Mattsson, J., Nasman-Bjork, I., Lundkvist, I., Gigliotti, D., Barkholt, L., Ringden, O. & Remberger, M. (2005) T-cell receptor Vbeta repertoire after myeloablative and reduced intensity conditioning allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Scand J Immunol*, 61, 285-294.
- Holland, A. M., Zakrzewski, J. L., Tsai, J. J., Hanash, A. M., Dudakov, J. A., Smith, O. M., West, M. L., Singer, N. V., Brill, J., Sun, J. C. & Van Den Brink, M. R. (2012) Extrathymic development of murine T cells after bone marrow transplantation. *J Clin Invest*, 122, 4716-4726.
- Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie am UKE (2019) Diagnostischer Test, Formelkatalog.
- Jacobsen, E. & Hönig, M. (2019) TCR-Panel. Immunologielabor Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Ulm.
- Janka, G. E. (2012) Familial and acquired hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Annu Rev Med*, 63, 233-246.
- Janka, G. E. & Lehmborg, K. (2014) Hemophagocytic syndromes--an update. *Blood Rev*, 28, 135-142.

- Janssen, L. M. A., Bassett, P., Macken, T., Van Esch, J., Pruijt, H., Knoops, A., Skold, M., Parker, A., De Vries, J. & De Vries, E. (2018) Mild Hypogammaglobulinemia Can Be a Serious Condition. *Front Immunol*, 9, 2384.
- Janzi, M., Kull, I., Sjoberg, R., Wan, J., Melen, E., Bayat, N., Ostblom, E., Pan-Hammarstrom, Q., Nilsson, P. & Hammarstrom, L. (2009) Selective IgA deficiency in early life: association to infections and allergic diseases during childhood. *Clin Immunol*, 133, 78-85.
- Jeffrey Modell Foundation (2016) *10 Warning Signs of Primary Immunodeficiency*. USA [Online im Internet] URL: <http://downloads.info4pi.org/pdfs/10-Warning-Signs---Generic-Text--2-.pdf> [Stand 25.03.2020].
- Jesenak, M., Banovcin, P., Jesenakova, B. & Babusikova, E. (2014) Pulmonary manifestations of primary immunodeficiency disorders in children. *Front Pediatr*, 2, 77.
- Jimenez, M., Martinez, C., Ercilla, G., Carreras, E., Urbano-Ispizua, A., Aymerich, M., Villamor, N., Amezaga, N., Rovira, M., Fernandez-Aviles, F., Gaya, A., Martino, R., Sierra, J. & Montserrat, E. (2005) Reduced-intensity conditioning regimen preserves thymic function in the early period after hematopoietic stem cell transplantation. *Exp Hematol*, 33, 1240-1248.
- Jyothi, S., Lissauer, S., Welch, S. & Hackett, S. (2013) Immune deficiencies in children: an overview. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*, 98, 186-196.
- Kastner, D. L., Aksentijevich, I. & Goldbach-Mansky, R. (2010) Autoinflammatory disease reloaded: a clinical perspective. *Cell*, 140, 784-790.
- Keles, S., Artac, H., Kara, R., Gokturk, B., Ozen, A. & Reisli, I. (2010) Transient hypogammaglobulinemia and unclassified hypogammaglobulinemia: 'similarities and differences'. *Pediatr Allergy Immunol*, 21, 843-851.
- Kelsen, J. R. & Sullivan, K. E. (2017) Inflammatory Bowel Disease in Primary Immunodeficiencies. *Curr Allergy Asthma Rep*, 17, 57.
- Kennedy, J. D., Pierce, C. W. & Lake, J. P. (1992) Extrathymic T cell maturation. Phenotypic analysis of T cell subsets in nude mice as a function of age. *The Journal of Immunology*, 148, 1620-1629.
- Klein, A. K., Patel, D. D., Gooding, M. E., Sempowski, G. D., Chen, B. J., Liu, C., Kurtzberg, J., Haynes, B. F. & Chao, N. J. (2001) T-Cell recovery in adults and children following umbilical cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 7, 454-466.
- Kommission Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin (2008) Guidelines for diagnostic validity. Report on the Commission for Methods and Quality Assurance in Environmental Medicine. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 51, 1353-1356.
- Korbling, M. & Freireich, E. J. (2011) Twenty-five years of peripheral blood stem cell transplantation. *Blood*, 117, 6411-6416.
- Kroll, H., Bux, J. & Kiefel, V. (2005b) Immunreaktionen gegen Blutzellen. In: *Pädiatrische Allergologie und Immunologie*. Wahn, U., Seger, R., Wahn, V. & Holländer, G. A. (Hrsg.) 4 Aufl., Urban & Fischer Verlag, Elsevier, München, Jena, 879-880.

- Kwan, A., Abraham, R. S., Currier, R., Brower, A., Andruszewski, K., Abbott, J. K., Baker, M., Ballow, M., Bartoszesky, L. E., Bonilla, F. A., Brokopp, C., Brooks, E., Caggana, M., Celestin, J., Church, J. A., Comeau, A. M., Connelly, J. A., Cowan, M. J., Cunningham-Rundles, C., Dasu, T., Dave, N., De La Morena, M. T., Duffner, U., Fong, C. T., Forbes, L., Freedenberg, D., Gelfand, E. W., Hale, J. E., Hanson, I. C., Hay, B. N., Hu, D., Infante, A., Johnson, D., Kapoor, N., Kay, D. M., Kohn, D. B., Lee, R., Lehman, H., Lin, Z., Lorey, F., Abdel-Mageed, A., Manning, A., Mcghee, S., Moore, T. B., Naides, S. J., Notarangelo, L. D., Orange, J. S., Pai, S. Y., Porteus, M., Rodriguez, R., Romberg, N., Routes, J., Ruehle, M., Rubenstein, A., Saavedra-Matiz, C. A., Scott, G., Scott, P. M., Secord, E., Seroogy, C., Shearer, W. T., Siegel, S., Silvers, S. K., Stiehm, E. R., Sugerman, R. W., Sullivan, J. L., Tanksley, S., Tierce, M. L. T., Verbsky, J., Vogel, B., Walker, R., Walkovich, K., Walter, J. E., Wasserman, R. L., Watson, M. S., Weinberg, G. A., Weiner, L. B., Wood, H., Yates, A. B., Puck, J. M. & Bonagura, V. R. (2014) Newborn screening for severe combined immunodeficiency in 11 screening programs in the United States. *Jama*, 312, 729-738.
- Lambert, M. P., Arulsevan, A., Schott, A., Markham, S. J., Crowley, T. B., Zackai, E. H. & McDonald-McGinn, D. M. (2018) The 22q11.2 deletion syndrome: Cancer predisposition, platelet abnormalities and cytopenias. *Am J Med Genet A*, 176, 2121-2127.
- Lankisch, P., Schiffner, J., Ghosh, S., Babor, F., Borkhardt, A. & Laws, H. J. (2015) The Duesseldorf warning signs for primary immunodeficiency: is it time to change the rules? *J Clin Immunol*, 35, 273-279.
- Law, J., Cowan, M. J., Dvorak, C. C., Musick, L., Long-Boyle, J. R., Baxter-Lowe, L. A. & Horn, B. (2012) Busulfan, fludarabine, and alemtuzumab as a reduced toxicity regimen for children with malignant and nonmalignant diseases improves engraftment and graft-versus-host disease without delaying immune reconstitution. *Biol Blood Marrow Transplant*, 18, 1656-1663.
- Laydon, D. J., Bangham, C. R. & Asquith, B. (2015) Estimating T-cell repertoire diversity: limitations of classical estimators and a new approach. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 370.
- Lehman, H. K. (2015) Autoimmunity and Immune Dysregulation in Primary Immune Deficiency Disorders. *Curr Allergy Asthma Rep*, 15, 53.
- Li, Y. & Xu, L. (2015) Evaluation of TCR repertoire diversity in patients after hematopoietic stem cell transplantation. *Stem Cell Investig*, 2, 17.
- Lim, H. K., Seppanen, M., Hautala, T., Ciancanelli, M. J., Itan, Y., Lafaille, F. G., Dell, W., Lorenzo, L., Byun, M., Pauwels, E., Ronnelid, Y., Cai, X., Boucherit, S., Jouanguy, E., Paetau, A., Lebon, P., Rozenberg, F., Tardieu, M., Abel, L., Yildiran, A., Vergison, A., Roivainen, R., Etzioni, A., Tienari, P. J., Casanova, J. L. & Zhang, S. Y. (2014) TLR3 deficiency in herpes simplex encephalitis: high allelic heterogeneity and recurrence risk. *Neurology*, 83, 1888-1897.
- Liu, C., He, M., Rooney, B., Kepler, T. B. & Chao, N. J. (2006) Longitudinal analysis of T-cell receptor variable beta chain repertoire in patients with acute graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 12, 335-345.

- Livneh, A., Langevitz, P., Zemer, D., Zaks, N., Kees, S., Lidar, T., Migdal, A., Padeh, S. & Pras, M. (1997) Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum*, 40, 1879-1885.
- Ljungman, P. (2008) CMV infections after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 42 70-72.
- Lougaris, V., Soresina, A., Baronio, M., Montin, D., Martino, S., Signa, S., Volpi, S., Zecca, M., Marinoni, M., Baselli, L. A., Dellepiane, R. M., Carrabba, M., Fabio, G., Putti, M. C., Cinetto, F., Lunardi, C., Gazzurelli, L., Benvenuto, A., Bertolini, P., Conti, F., Consolini, R., Ricci, S., Azzari, C., Leonardi, L., Duse, M., Pulvirenti, F., Milito, C., Quinti, I., Cancrini, C., Finocchi, A., Moschese, V., Cirillo, E., Crescenzi, L., Spadaro, G., Marasco, C., Vacca, A., Cardinale, F., Martire, B., Trizzino, A., Licciardello, M., Cossu, F., Di Matteo, G., Badolato, R., Ferrari, S., Giliani, S., Pession, A., Ugazio, A., Pignata, C. & Plebani, A. (2020) Long term follow-up of 168 patients with X-linked agammaglobulinemia reveals increased morbidity and mortality. *J Allergy Clin Immunol*, 146, 429-437.
- Macginnitie, A., Aloï, F. & Mishra, S. (2011) Clinical characteristics of pediatric patients evaluated for primary immunodeficiency. *Pediatr Allergy Immunol*, 22, 671-675.
- Mackall, C. L., Fleisher, T. A., Brown, M. R., Magrath, I. T., Shad, A. T., Horowitz, M. E., Wexler, L. H., Adde, M. A., McClure, L. L. & Gress, R. E. (1994) Lymphocyte depletion during treatment with intensive chemotherapy for cancer. *Blood*, 84, 2221-2228.
- Mahlaoui, N., Jais, J. P., Brosselin, P., Mignot, C., Beaurain, B., Brito, C., Costes, L., Courteille, V., De Vergnes, N., Alcais, A., Fischer, A. & Collaborators, C. P. S. (2017) Prevalence of primary immunodeficiencies in France is underestimated. *J Allergy Clin Immunol*, 140, 1731-1733.
- Manthiram, K., Li, S. C., Hausmann, J. S., Amarilyo, G., Barron, K., Kim, H., Nativ, S., Lionetti, G., Zeff, A., Goldsmith, D., Kimberlin, D., Edwards, K., Dedeoglu, F. & Lapidus, S. (2017) Physicians' perspectives on the diagnosis and management of periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis (PFAPA) syndrome. *Rheumatol Int*, 37, 883-889.
- Marciano, B. E., Spalding, C., Fitzgerald, A., Mann, D., Brown, T., Osgood, S., Yockey, L., Darnell, D. N., Barnhart, L., Daub, J., Boris, L., Rump, A. P., Anderson, V. L., Haney, C., Kuhns, D. B., Rosenzweig, S. D., Kelly, C., Zelazny, A., Mason, T., Deravin, S. S., Kang, E., Gallin, J. I., Malech, H. L., Olivier, K. N., Uzel, G., Freeman, A. F., Heller, T., Zerbe, C. S. & Holland, S. M. (2015) Common severe infections in chronic granulomatous disease. *Clin Infect Dis*, 60, 1176-1183.
- Marcuzzi, A., Piscianz, E., Kleiner, G., Tommasini, A., Severini, G. M., Monasta, L. & Crovella, S. (2013) Clinical genetic testing of periodic fever syndromes. *Biomed Res Int*, 2013, 501305.
- Mccusker, C., Upton, J. & Warrington, R. (2018) Primary immunodeficiency. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 14, 61.
- Mcreynolds, L. J., Calvo, K. R. & Holland, S. M. (2018) Germline GATA2 Mutation and Bone Marrow Failure. *Hematol Oncol Clin North Am*, 32, 713-728.
- Mehta, R. S. & Rezvani, K. (2016) Immune reconstitution post allogeneic transplant and the impact of immune recovery on the risk of infection. *Virulence*, 7, 901-916.

- Memon, S. A., Sportès, C., Flomerfelt, F. A., Gress, R. E. & Hakim, F. T. (2012) Quantitative analysis of T cell receptor diversity in clinical samples of human peripheral blood. *Journal of immunological methods*, 375, 84-92.
- Morsheimer, M., Brown Whitehorn, T. F., Heimall, J. & Sullivan, K. E. (2017) The immune deficiency of chromosome 22q11.2 deletion syndrome. *Am J Med Genet A*, 173, 2366-2372.
- Mortaz, E., Adcock, I. M., Tabarsi, P., Darazam, I. A., Movassaghi, M., Garssen, J., Jamaati, H. & Velayati, A. (2017) Pattern recognitions receptors in immunodeficiency disorders. *Eur J Pharmacol*, 808, 49-56.
- Murphy, K. & Weaver, C. (2018a) Antigenerkennung durch B-Zell- und T-Zell-Rezeptoren. In: *Janeway Immunology*, 9 Aufl., Springer-Verlag, Berlin, 177-220.
- Murphy, K. & Weaver, C. (2018b) Die Antigenerkennung durch T-Zellen. In: *Janeway Immunology*, 9 Aufl., Springer-Verlag, Berlin, 195.
- Murphy, K. & Weaver, C. (2018c) Die Entstehung von Antigenrezeptoren in Lymphozyten. In: *Janeway Immunology*, 9 Aufl., Springer-Verlag, Berlin, 239.
- Murphy, K. & Weaver, C. (2018d) Die Entstehung von Antigenrezeptoren in Lymphozyten. In: *Janeway Immunology*, 9 Aufl., Springer-Verlag, Berlin, 237-242.
- Murphy, K. & Weaver, C. (2018e) Signalgebung durch Rezeptoren des Immunsystems. In: *Janeway Immunology*, 9 Aufl., Springer-Verlag Berlin, 340.
- Murphy, K. & Weaver, C. (2018f) Signalgebung durch Rezeptoren des Immunsystems. In: *Janeway Immunology*, 9 Aufl., Springer-Verlag Berlin, 340-343.
- Myers, K. C., Bleesing, J. J., Davies, S. M., Zhang, X., Martin, L. J., Mueller, R., Harris, R. E., Filipovich, A. H., Kovacic, M. B., Wells, S. I. & Mehta, P. A. (2011) Impaired immune function in children with Fanconi anaemia. *Br J Haematol*, 154, 234-40.
- Nassereddine, S., Rafei, H., Elbahesh, E. & Tabbara, I. (2017) Acute Graft Versus Host Disease: A Comprehensive Review. *Anticancer Res*, 37, 1547-1555.
- Niece, J. A., Rogers, Z. R., Ahmad, N., Langevin, A. M. & McClain, K. L. (2010) Hemophagocytic lymphohistiocytosis in Texas: observations on ethnicity and race. *Pediatr Blood Cancer*, 54, 424-428.
- Notarangelo, L. D. (2010) Primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol*, 125, 182-194.
- O'sullivan, M. D. & Cant, A. J. (2012) The 10 warning signs: a time for a change? *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 12, 588-594.
- Ogonek, J., Kralj Juric, M., Ghimire, S., Varanasi, P. R., Holler, E., Greinix, H. & Weissinger, E. (2016) Immune Reconstitution after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Frontiers in Immunology*, 7.
- Pannetier, C., Even, J. & Kourilsky, P. (1995) T-cell repertoire diversity and clonal expansions in normal and clinical samples. *Immunol Today*, 16, 176-181.
- Peggs, K. S. & Mackinnon, S. (2004) Immune reconstitution following haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol*, 124, 407-420.

- Peggs, K. S., Verfuether, S., Pizzey, A., Khan, N., Moss, P., Goldstone, A. H., Yong, K. & Mackinnon, S. (2003) Reconstitution of T-cell repertoire after autologous stem cell transplantation: influence of CD34 selection and cytomegalovirus infection. *Biol Blood Marrow Transplant*, 9, 198-205.
- Pepper, R., Hutchinson, M., Henderson, S., Rowczenio, D., Hawkins, P. & Lachmann, H. (2015) Calprotectin (S100A8/A9) in Familial Mediterranean Fever. *Pediatric Rheumatology*, 13.
- Renner, E. D., Puck, J. M., Holland, S. M., Schmitt, M., Weiss, M., Frosch, M., Bergmann, M., Davis, J., Belohradsky, B. H. & Grimbacher, B. (2004) Autosomal recessive hyperimmunoglobulin E syndrome: a distinct disease entity. *J Pediatr*, 144, 93-99.
- Roesler, J. & Rösen-Wolff, A. (2005a) Autoinflammatorische Syndrome. In: *Pädiatrische Allergologie und Immunologie*. Wahn, U., Seger, R., Wahn, V. & Holländer, G. A. (Hrsg.) 4 Aufl., Urban & Fischer Verlag, Elsevier, München, Jena, 888-893.
- Roux, E., Helg, C., Chapuis, B., Jeannet, M. & Roosnek, E. (1996) T-cell repertoire complexity after allogeneic bone marrow transplantation. *Human Immunology*, 48, 135-138.
- Sag, E., Bilginer, Y. & Ozen, S. (2017) Autoinflammatory Diseases with Periodic Fevers. *Curr Rheumatol Rep*, 19, 41.
- Sari, I., Birlik, M. & Kasifoglu, T. (2014) Familial Mediterranean fever: An updated review. *Eur J Rheumatol*, 1, 21-33.
- Schroder-Braunstein, J. & Kirschfink, M. (2019) Complement deficiencies and dysregulation: Pathophysiological consequences, modern analysis, and clinical management. *Mol Immunol*, 114, 299-311.
- Schussler, E., Beasley, M. B. & Maglione, P. J. (2016) Lung Disease in Primary Antibody Deficiencies. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 4, 1039-1052.
- Schuster, F. R. & Laws, H. J. (2005) [Infectious complications in the child undergoing hematopoietic stem cell transplantation]. *Klin Padiatr*, 217 Suppl 1, 143-149.
- Scott, I. A., Greenberg, P. B. & Poole, P. J. (2008) Cautionary tales in the clinical interpretation of studies of diagnostic tests. *Intern Med J*, 38, 120-129.
- Seger, R. (2014b) Phagozytendefekte. In: *Pädiatrie- Grundlagen und Praxis*. Hoffmann, G. F., Lentze, M. J., Spranger, J. & Zepp, F. (Hrsg.) 4 Aufl., Bd. 1, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 744-746.
- Seggewiss, R. & Einsele, H. (2010) Immune reconstitution after allogeneic transplantation and expanding options for immunomodulation: an update. *Blood*, 115, 3861-3868.
- Servais, S., Baron, F. & Beguin, Y. (2011) Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) after reduced intensity conditioning. *Transfus Apher Sci*, 44, 205-210.
- Shapiro, D. E. (1999) The interpretation of diagnostic tests. *Statistical Methods in Medical Research*, 8, 113-134.
- Shaw, P., Shizuru, J., Hoenig, M., Veys, P. & Iwpa, E. (2019) Conditioning Perspectives for Primary Immunodeficiency Stem Cell Transplants. *Front Pediatr*, 7, 434.

- Shearer, W. T., Dunn, E., Notarangelo, L. D., Dvorak, C. C., Puck, J. M., Logan, B. R., Griffith, L. M., Kohn, D. B., O'reilly, R. J., Fleisher, T. A., Pai, S. Y., Martinez, C. A., Buckley, R. H. & Cowan, M. J. (2014) Establishing diagnostic criteria for severe combined immunodeficiency disease (SCID), leaky SCID, and Omenn syndrome: the Primary Immune Deficiency Treatment Consortium experience. *J Allergy Clin Immunol*, 133, 1092-1098.
- Skattum, L., Van Deuren, M., Van Der Poll, T. & Truedsson, L. (2011) Complement deficiency states and associated infections. *Mol Immunol*, 48, 1643-1655.
- Skokowa, J., Dale, D. C., Touw, I. P., Zeidler, C. & Welte, K. (2017) Severe congenital neutropenias. *Nat Rev Dis Primers*, 3, 17032.
- Slatter, M. A. & Gennery, A. R. (2008) Clinical immunology review series: an approach to the patient with recurrent infections in childhood. *Clin Exp Immunol*, 152, 389-396.
- Slatter, M. A. & Gennery, A. R. (2018) Hematopoietic cell transplantation in primary immunodeficiency – conventional and emerging indications. *Expert Review of Clinical Immunology*, 14, 103-114.
- Slatter, M. A., Rao, K., Abd Hamid, I. J., Nademi, Z., Chiesa, R., Elfeky, R., Pearce, M. S., Amrolia, P., Worth, A., Flood, T., Abinun, M., Hambleton, S., Qasim, W., Gaspar, H. B., Cant, A. J., Gennery, A. R. & Veys, P. (2018) Treosulfan and Fludarabine Conditioning for Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children with Primary Immunodeficiency: UK Experience. *Biol Blood Marrow Transplant*, 24, 529-536.
- Smith, C. J. (2012a) Diagnostic tests (1) - sensitivity and specificity. *Phlebology*, 27, 250-251.
- Smith, C. J. (2012b) Diagnostic tests (2) - positive and negative predictive values. *Phlebology*, 27, 305-306.
- Sowerwine, K. J., Holland, S. M. & Freeman, A. F. (2012) Hyper-IgE syndrome update. *Ann N Y Acad Sci*, 1250, 25-32.
- Speckmann, C. & Ehl, S. (2014a) Immunologische Diagnostik. In: *Pädiatrie - Grundlagen und Praxis*. Hoffmann, G. F., Lentze, M. J., Spranger, J. & Zepp, F. (Hrsg.) 4 Aufl., Bd. 1, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 693-694.
- Spinner, M. A., Sanchez, L. A., Hsu, A. P., Shaw, P. A., Zerbe, C. S., Calvo, K. R., Arthur, D. C., Gu, W., Gould, C. M., Brewer, C. C., Cowen, E. W., Freeman, A. F., Olivier, K. N., Uzel, G., Zelazny, A. M., Daub, J. R., Spalding, C. D., Claypool, R. J., Giri, N. K., Alter, B. P., Mace, E. M., Orange, J. S., Cuellar-Rodriguez, J., Hickstein, D. D. & Holland, S. M. (2014) GATA2 deficiency: a protean disorder of hematopoiesis, lymphatics, and immunity. *Blood*, 123, 809-821.
- Srinivasan, A., Wang, C., Srivastava, D. K., Burnette, K., Shenep, J. L., Leung, W. & Hayden, R. T. (2013) Timeline, epidemiology, and risk factors for bacterial, fungal, and viral infections in children and adolescents after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 19, 94-101.
- Storek, J., Dawson, M. A., Storer, B., Stevens-Ayers, T., Maloney, D. G., Marr, K. A., Witherspoon, R. P., Bensinger, W., Flowers, M. E. D., Martin, P., Storb, R., Appelbaum, F. R. & Boeckh, M. (2001) Immune reconstitution after allogeneic marrow transplantation compared with blood stem cell transplantation. *Blood*, 97, 3380-3389.

- Storek, J., Geddes, M., Khan, F., Huard, B., Helg, C., Chalandon, Y., Passweg, J. & Roosnek, E. (2008) Reconstitution of the immune system after hematopoietic stem cell transplantation in humans. *Seminars in Immunopathology*, 30, 425.
- Subbarayan, A., Colarusso, G., Hughes, S. M., Gennery, A. R., Slatter, M., Cant, A. J. & Arkwright, P. D. (2011) Clinical features that identify children with primary immunodeficiency diseases. *Pediatrics*, 127, 810-816.
- Sureda, A., Bader, P., Cesaro, S., Dreger, P., Duarte, R. F., Dufour, C., Falkenburg, J. H., Farge-Bancel, D., Gennery, A., Kroger, N., Lanza, F., Marsh, J. C., Nagler, A., Peters, C., Velardi, A., Mohty, M. & Madrigal, A. (2015) Indications for allo- and auto-SCT for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2015. *Bone Marrow Transplant*, 50, 1037-1056.
- Thomas, E. D., Lochte, H. L., Lu, W. C. & Ferrebee, J. W. (1957) Intravenous Infusion of Bone Marrow in Patients Receiving Radiation and Chemotherapy. *New England Journal of Medicine*, 257, 491-496.
- Uffelman, J. A., Engelhard, W. E. & Jolliff, C. R. (1970) Quantitation of immunoglobulins in normal children. *Clinica Chimica Acta*, 28, 185-192.
- Uhlig, H. H., Schwerd, T., Koletzko, S., Shah, N., Kammermeier, J., Elkadri, A., Ouahed, J., Wilson, D. C., Travis, S. P., Turner, D., Klein, C., Snapper, S. B., Muise, A. M., Group, C. I. I. S. & Neopics (2014) The diagnostic approach to monogenic very early onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 147, 990-1007
- Van Den Berg, J. M., Van Koppen, E., Ahlin, A., Belohradsky, B. H., Bernatowska, E., Corbeel, L., Espanol, T., Fischer, A., Kurenko-Deptuch, M., Mouy, R., Petropoulou, T., Roesler, J., Seger, R., Stasia, M. J., Valerius, N. H., Weening, R. S., Wolach, B., Roos, D. & Kuijpers, T. W. (2009) Chronic granulomatous disease: the European experience. *PLoS One*, 4, e5234.
- Van Der Burg, M. & Gennery, A. R. (2011) Educational paper. The expanding clinical and immunological spectrum of severe combined immunodeficiency. *Eur J Pediatr*, 170, 561-571.
- Van Der Burg, M., Mahlaoui, N., Gaspar, H. B. & Pai, S. Y. (2019) Universal Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency (SCID). *Front Pediatr*, 7, 373.
- Verfuerth, S., Peggs, K., Vyas, P., Barnett, L., O'reilly, R. J. & Mackinnon, S. (2000) Longitudinal monitoring of immune reconstitution by CDR3 size spectratyping after T-cell-depleted allogeneic bone marrow transplant and the effect of donor lymphocyte infusions on T-cell repertoire. *Blood*, 95, 3990-3995.
- Wahn, V. (2000a) *12 Warnzeichen für eine angeborene Abwehrschwäche*. Berlin [Online im Internet] URL: <http://downloads.info4pi.org/pdfs/Warning-Signs-German-2.pdf> [Stand 17.02.2020].
- Wahn, V. (2000b) Das infektanfällige Kind. *HNO*, 48, 231-234.
- Wang, L., Wang, F. S. & Gershwin, M. E. (2015) Human autoimmune diseases: a comprehensive update. *J Intern Med*, 278, 369-395.
- Wekell, P., Karlsson, A., Berg, S. & Fasth, A. (2016) Review of autoinflammatory diseases, with a special focus on periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and cervical adenitis syndrome. *Acta Paediatr*, 105, 1140-1151.

- Wolf, H. M. & Ochs, H. D. (2005c) Störungen der humoralen Immunität. *In: Pädiatrische Allergologie und Immunologie*. Wahn, U., Seger, R., Wahn, V. & Holländer, G. A. (Hrsg.) 4 Aufl., Urban & Fischer Verlag, Elsevier, München, Jena, 561-563.
- Wong, G. K., Heather, J. M., Barmettler, S. & Cobbold, M. (2017) Immune dysregulation in immunodeficiency disorders: The role of T-cell receptor sequencing. *J Autoimmun*, 80, 1-9.
- Wood, P., Stanworth, S., Burton, J., Jones, A., Peckham, D. G., Green, T., Hyde, C., Chapel, H. & Network, U. K. P. I. (2007) Recognition, clinical diagnosis and management of patients with primary antibody deficiencies: a systematic review. *Clin Exp Immunol*, 149, 410-423.
- Wu, C. J., Chillemi, A., Alyea, E. P., Orsini, E., Neuberg, D., Soiffer, R. J. & Ritz, J. (2000) Reconstitution of T-cell receptor repertoire diversity following T-cell depleted allogeneic bone marrow transplantation is related to hematopoietic chimerism. *Blood*, 95, 352-359.
- Wu, J., Liu, D., Tu, W., Song, W. & Zhao, X. (2015) T-cell receptor diversity is selectively skewed in T-cell populations of patients with Wiskott-Aldrich syndrome. *J Allergy Clin Immunol*, 135, 209-216.
- Wynn, R. (2011) Stem cell transplantation in inherited metabolic disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2011, 285-291.
- Yarmohammadi, H., Estrella, L., Doucette, J. & Cunningham-Rundles, C. (2006) Recognizing primary immune deficiency in clinical practice. *Clin Vaccine Immunol*, 13, 329-332.
- Yazdani, R., Azizi, G., Abolhassani, H. & Aghamohammadi, A. (2017) Selective IgA Deficiency: Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Phenotype, Diagnosis, Prognosis and Management. *Scand J Immunol*, 85, 3-12.
- Yel, L. (2010) Selective IgA deficiency. *J Clin Immunol*, 30, 10-16.

15 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen beteiligten Personen bedanken, die mich bei der Anfertigung dieser Doktorarbeit unterstützt haben.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn PD Dr. Kai Lehmborg für die Bereitstellung des interessanten Forschungsthemas für meine Doktorarbeit und für die motivierte Betreuung bei der Umsetzung der gesamten Arbeit.

Ein großes Dankeschön geht an Frau Dr. Anne Kruchen für die stets engagierte Betreuung, Einarbeitung im Labor und fachliche Unterstützung in allen Phasen dieser Arbeit.

Bei Herrn Prof. Dr. Ingo Müller und bei allen Mitgliedern der AG Müller danke ich in besonderem Maße für die angenehme Arbeitsatmosphäre sowie Unterstützung im Rahmen dieser Doktorarbeit und stets ein offenes Ohr bei Fragen gehabt zu haben.

Für die Durchführung der Laborarbeiten möchte ich dem Forschungsinstitut Kinderkrebs-Zentrum Hamburg und der Fördergemeinschaft Kinderkrebs-Zentrum Hamburg e.V. danken.

Ich bedanke mich bei den Mitarbeitern des Labors der pädiatrischen Hämatologie und Onkologie, darunter besonders bei Florian Oyen, für die Unterstützung bei der Durchführung der Laborarbeiten.

Frau Birgit Garwer möchte ich für die Bereitstellung der klinischen Patientendaten danken.

Große Dankbarkeit geht an meiner Familie und guten Freunden, die mich mein ganzes Studium und im Rahmen dieser Arbeit stets begleitet und unterstützt haben.

Meinem Freund Johannes danke ich besonders für seine Geduld und Zuspruch, während der gesamten Arbeit an dieser Dissertation und stets für mich da gewesen zu sein.

16 Lebenslauf

„Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.“

17 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe 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.

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

Unterschrift: SMergy.....