

3 PATIENTEN UND METHODEN

3.1 Datenerhebung

Zunächst wurden alle Patienten mit SZT vom verwandten Spender aus der ALL-REZ-Datei ermittelt und die vorhandenen SZT-Briefe in den Akten der ALL-REZ BFM Studienzentrale gesichtet. Die darin enthaltenen Informationen wurden auf einem Patientenstammbblatt mit allen für die SZT relevanten Datenfeldern vermerkt, um sie später in eine Datenbank zu übertragen. Aus dieser Datei wurde für jeden Patienten ein Dokumentationsbogen generiert, der an die behandelnden Kliniken verschickt wurde, um die Richtigkeit bereits vorhandener Angaben bestätigen sowie fehlende Angaben ergänzen zu lassen. Waren wichtige Informationen und Daten auf diesem Wege nicht zu bekommen, wurden sie in den Kliniken vor Ort an Hand der Patientenakten ermittelt.

3.1.1 Stammdaten

Stammdaten der Erhebung sind unter anderem:

- Name, Geschlecht und Geburtsdatum
- behandelnde und transplantierende Klinik
- Studien- und Protokollindex
- Diagnosedatum der Ersterkrankung sowie des Rezidivs
- Datum der SZT
- Datum des letzten Recalls
- Anzahl der Rezidive
- Ort und Zeitpunkt des Rezidivs
- Immunphänotypisierung
- Fusionstranskripte
- Blastenzahl bei Rezidiv
- Risikogruppe
- Behandlung bei Erstdiagnose
- kumulative Dosis der ZNS-Vorbestrahlung

3.1.2 Verlaufsdaten

Die Verlaufsdaten lassen sich in Angaben zum Status vor SZT, zur Transplantation und zum Posttransplantationsverlauf unterteilen.

Folgende Daten wurden zur Transplantationsvorbereitung erhoben:

- Remissionsstatus unmittelbar vor SZT
- Zeitintervall von Rezidivdiagnose bis SZT
- Geschlecht des Spenders und sein Verwandtschaftsverhältnis zum Empfänger

- Grad der HLA-Kompatibilität
- Spezifizierung der differentiellen Genabschnitte
- Blutgruppenkompatibilität
- CMV-Status von Patient und Spender

Folgende Daten wurden zur Transplantationsprozedur erhoben:

- Art und Dosierung der Konditionierung
- Ort und Dosis einer Boostbestrahlung
- Herkunft des Transplantats (KM oder peripher)
- transplantierte Zellzahl (nukleäre und mononukleäre Zellen, CD34+ Zellen)
- Spezifizierung einer ggf. erfolgten T-Zelldepletion
- Art und Dosis einer durchgeführten GvHD-Prophylaxe

Daten zum Posttransplantationsverlauf beinhalten:

- Zeitpunkt des Take
- Auftreten und Spezifizierung einer akuten und chronischen GvHD
- CMV-Reaktivierung
- Folgeereignis und -datum
- Todesursache und -datum

3.2 Patienteneinschlusskriterien

Alle Patienten, die in diese Arbeit eingeschlossen wurden, sind mit der Diagnose eines ALL-Rezidivs in der multizentrischen ALL-REZ BFM Studie registriert und gemäß der Studien ALL-REZ BFM 83, 85, 87, 90 bzw. 96 behandelt worden. Darüber hinaus haben sie zwischen April 1983 und Oktober 1998 eine SZT von einem verwandten SZ-Spender erhalten. In die abschließende Auswertung wurden Patienten eingeschlossen, die folgende Kriterien erfüllen:

- Erst- oder Zweitrezidiv einer B-Vorläufer- oder T-ALL
- Behandlung gemäß Haupt- oder Pilotprotokollen der ALL-REZ BFM Studien
- Allogene SZT von einem verwandten Spender
- Vollständigkeit der Daten

Die als letztes Einschlusskriterium genannte Vollständigkeit der Daten bezieht sich auf die zuvor genannten Verlaufsdaten (s. Kap. 3.1.2 Verlaufsdaten). Patienten wurden unabhängig von der Vollständigkeit ihrer Daten von der Auswertung ausgeschlossen, wenn unerlässliche Angaben zur Klassifizierung fehlten wie Anzahl der Rezidive und Remissionsstatus vor SZT, Spenderspezifizierung sowie HLA-Kompatibilität.

Insgesamt wurden 33 transplantationsrelevante Parameter erhoben. Datensätze von Patienten mit maximal zwei fehlenden Angaben wurden als vollständig eingestuft. Bei Vollständigkeit von mindestens zwei Drittel der den Verlaufsdaten zugeordneten Feldern (22 von 33 möglichen Angaben) wurde die Datenlage als ausreichend für die statistische Analyse bewertet und entsprechende Patienten auch in die Untersuchung eingeschlossen. Fehlende Werte für einzelne Parameter wurden entsprechend als „keine Angaben“ aufgeführt.

3.3 Einteilung des Patientenkollektivs

Nach Abschluss der Datenerfassung wurden die Patienten unter Anwendung der Einschlusskriterien hinsichtlich der Transplantationsart (HLA-identisch, HLA-different/haploident, syngen) sowie des Remissionsstatus vor SZT in Auswertungsgruppen eingeteilt.

Der Hauptgruppe MFD CR2 gehören Patienten mit HLA-identischem verwandten SZ-Spender an, die in zweiter Vollremission transplantiert wurden. Patienten mit HLA-identischem verwandten SZ-Spender, die in dritter Vollremission oder im Rezidiv, d.h. ohne Erreichen einer Vollremission, transplantiert wurden, sind den Vergleichsgruppen MFD CR3 bzw. MFD CR0 zugeordnet.

Alle Patienten mit HLA-differenter/haploidenter SZT vom verwandten SZ-Spender in zweiter und in dritter Vollremission sowie ohne Erreichen einer Vollremission sind in den Vergleichsgruppen MMFD CR2, MMFD CR3 und MMFD CR0 zusammengefasst.

Patienten mit syngenen SZ-Spender werden unabhängig vom Remissionsstatus vor SZT in einer eigenen Vergleichsgruppe subsummiert.

3.4 Auswertung

3.4.1 Definitionen

ABO-Majordifferenz:

Empfängerplasma (z.B. 0) enthält Isohämagglutinine, die gegen Antigene auf Spendererythrozyten gerichtet sind (z.B. A).

ABO-Minordifferenz:

Spenderplasma (z.B. A) enthält Isohämagglutinine, die gegen Antigene auf Empfängererythrozyten gerichtet sind (z.B. 0).

Beobachtungszeit:

Zeitdifferenz zwischen Auswertungsdatum und Datum der Rezidivdiagnose.

Bestrahlungsboost:

Zusätzlich zur Ganzkörperbestrahlung durchgeführte Bestrahlung einzelner Organe wie Schädel, Hoden, Mediastinum.

Engraftment / Nonengraftment:

Anwachsen bzw. Nichtanwachsen der transplantierten hämatopoetischen Stammzellen im Empfängerorganismus.

Follow up:

Zeitdifferenz zwischen Auswertungsdatum und Datum der Rezidivdiagnose bei Patienten in CCR.

Chimärismus:

Neubesiedlung des Empfängerorganismus mit Spenderzellen nach SZT; gemischter Chimärismus besteht bei gleichzeitigem Nachweis von hämatopoetischen Stammzellen des Spenders und Empfängers. Kompletter Chimärismus besteht bei ausschließlichem Nachweis von Spenderzellen.

GvHD:

Transplantat-Gegen-Wirt-Reaktion (Graft-versus-Host-Disease), bei der im Transplantat enthaltene immunkompetente Zellen des SZ-Spenders Zellen des Empfängers angreifen und eine Immunreaktion auslösen. Akute GvHD tritt innerhalb von 100 Tagen nach SZT auf. Chronische GvHD kann ab Tag 100 nach SZT auftreten.

Tabelle 1 Klassifizierung der akuten GvHD

| STADIUM (°) | HAUT | LEBER | MAGEN/DARM |
|--------------------|--------------------------------|----------------------|----------------------|
| 0 | o.p.B. | Bilirubin < 2 mg/dl | Diarrhoe < 500 ml/d |
| I | makulopapulöses Exanthem < 25% | Bilirubin 2-3 mg/dl | Diarrhoe > 500 ml/d |
| II | makulopapulöses Exanthem < 50% | Bilirubin 3-6 mg/dl | Diarrhoe > 1000 ml/d |
| III | Erythrodermie | Bilirubin 6-15 mg/dl | Diarrhoe > 1500 ml/d |
| IV | + bullöse Desquamation | Bilirubin > 15 mg/dl | + Schmerz/Ileus |

(Thomas et al. 1975)

HLA-Mismatch / HLA-Differenz:

Nichtübereinstimmung einzelner Genabschnitte des HLA-Komplexes zwischen SZ-Spender und -Empfänger; diese Genorte (Klasse I: HLA-A, -B, -C, -D und Klasse II: HLA-Dr, -Dq) kodieren die auf der Zellmembran aller kernhaltigen Zellen exprimierten Gewebeantigene (Histokompatibilitätsantigene).

Partielle Remission:

Erreichen einer unvollständigen Remission mit einem Blastenanteil zwischen 5 und 25% im Knochenmark (KM 2).

Komplette Remission (CR):

Regenerierendes Knochenmark mit einem Blastenanteil von weniger als 5% (KM 1), keine extramedulläre Manifestation nachweisbar, blastenfreies Blutbild.

Rezidiv:

Wiederauftreten der Leukämie nach erreichter Remission mit einem Blastenanteil von mehr als 25% im Knochenmark und/oder Nachweis von Leukämiezellen in einem extramedullären Kompartiment.

Rezidivzeitpunkt:

Sehr früh: Auftreten des Rezidivs innerhalb von 6 Monaten nach Ende der Ersttherapie (≤ 6 Monate) und innerhalb von 18 Monaten nach Erstdiagnose (≤ 18 Monate).

Früh: Rezidivdiagnose innerhalb von 6 Monaten nach Ende der Ersttherapie (≤ 6 Monate) und später als 18 Monate nach Erstdiagnose (> 18 Monate).

Spät: Rezidiv nach Ablauf von 6 Monaten nach Ende der Ersttherapie (> 6 Monate).

Risikogruppeneinteilung:

Tabelle 2 Definition der Risikogruppen S1 bis S4

| Lokalisation/ Zeitpunkt | IMMUNPHÄNOTYP: NON - T | | | IMMUNPHÄNOTYP: (PRÄ-) T | | |
|------------------------------------|---|---|---------------------------------------|---|---|---------------------------------------|
| | Extra- medullär isoliert | Knochen- mark kombiniert | Knochen- mark isoliert | Extra- medullär isoliert | Knochen- mark kombiniert | Knochen- mark isoliert |
| sehr früh | S2 | S4 | S4 | S2 | S4 | S4 |
| früh | S2 | S2 | S3 | S2 | S4 | S4 |
| spät | S1 | S2 | S2 | S1 | S4 | S4 |

In-vivo-T-Zelldepletion:

Medikamentöse Reduzierung der T-Lymphozyten im Empfänger.

Ex-vivo-T-Zelldepletion:

Reduzierung der im Transplantat enthaltenen T-Lymphozyten vor der Übertragung auf den Empfänger.

Take:

Erstmaliger Nachweis von $> 1000/\mu\text{l}$ Leukozyten im Blutbild nach Transplantation an 3 aufeinanderfolgenden Tagen.

Transplantatabstoßung:

Aktive Abstoßung des Transplantats durch Immunzellen des Empfängers.

3.4.2 Statistische Methoden

Für den Vergleich zweier quantitativer Variablen kam der unverbundene zweiseitige U-Test nach Mann-Whitney zur Anwendung. Die Prüfung der Unabhängigkeit qualitativer Variablen erfolgte durch den Pearson-Test. Bei nur zwei qualitativen Variablen wurde der exakte Test nach Fisher angewandt.

Die Wahrscheinlichkeit ereignisfreien Überlebens (pEFS) wurde mit Hilfe der Kaplan-Meier-Überlebensanalyse ermittelt. Alle Angaben zu einer Wahrscheinlichkeit in dieser Arbeit (pEFS, pSRV, pTRD und pREL) beziehen sich auf den Zeitpunkt 5 Jahre nach SZT. Grundlage für die Berechnung der pEFS, pTRD und pREL ist der Zeitraum vom SZT-Datum bis zum Datum eines Folgeereignisses (Rezidiv, Therapietod oder Zweitmalignom) bzw. bis zum Datum der Auswertung (06.03.2002) bei Patienten ohne Folgeereignis. Der Berechnung der Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit (pSRV) liegt der Zeitraum vom SZT-Datum bis zum Todesdatum bzw. bis

zum Auswertungsdatum bei allen lebenden Patienten zugrunde. Unterschiede der Kaplan-Meier-Überlebensanalysen wurden mit Hilfe des Log-Rank-Tests hinsichtlich ihrer Signifikanz geprüft. Patientengruppen mit einer Fallzahl <10 oder ohne Angaben zu dem entsprechenden Merkmal wurden bei der Durchführung des Log-Rank-Tests nicht berücksichtigt und sind in den jeweiligen Tabellen kursiv gedruckt.

Bei den übrigen genannten Tests sowie bei der Berechnung der prozentualen Häufigkeit eines Merkmals wurden Patienten ohne Angaben zu diesem Merkmal sowie Patienten mit einem anderen vorzeitigen Ereignis nach SZT nicht mit einbezogen.

Die Unabhängigkeit prognostischer Faktoren für das ereignisfreie Überleben wurde mit Hilfe der multivariaten Cox-Regression getestet. Prädiktive Faktoren für das Auftreten akuter oder chronischer GvHD wurden anhand der binär logistischen Regression bestimmt.

In allen Tests gilt ein Testergebnis mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,05$ als statistisch signifikant. Für die Erfassung und Auswertung der gesammelten Daten wurden das Datenverarbeitungsprogramm Visual dBase IV und das Statistikprogramm SPSS 10 verwendet.

3.4.3 Grafische Darstellung

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt in Form von Tabellen und Diagrammen. Kontinuierliche und kategorische Parameter werden in separaten Tabellen wieder gegeben. Für kontinuierliche Parameter ist der Median mit Maximum und Minimum angegeben. Für die kategorischen Parameter werden die Verteilung der jeweiligen Ausprägungen in absoluten und prozentualen Fallzahlen angegeben sowie die dazugehörige pEFS mit der Standardabweichung und dem daraus resultierenden p-Wert.

Signifikante Ergebnisse der Kaplan-Meier-Analysen sind in Kurvendiagrammen grafisch dargestellt. Der Beobachtungszeitraum ist auf der Abszisse in Jahren angegeben, auf der Ordinate die jeweilige Wahrscheinlichkeit in einem Wertebereich von Null bis Eins. Darunter sind die Gesamtanzahl der Patienten des entsprechenden Ausprägungsmerkmals oder einer Vergleichsgruppe, die Anzahl zensierter Ereignisse (Lost to follow up/LFU) sowie die entsprechende Wahrscheinlichkeit mit Standardabweichung aufgeführt.

Signifikante Unterschiede zwischen quantitativen (kontinuierlichen) Wertegruppen werden mit Hilfe von Boxplots veranschaulicht. In den Boxplots lassen sich der Median, oberes und unteres Quartil sowie Minimum und Maximum ablesen. Ausreißer (1,5- bis 3-facher interquartiler Bereich ober- bzw. unterhalb der Quartile) sind als Kreis und Extremwerte als Sternchen dargestellt (mehr als 3-facher interquartiler Bereich ober- bzw. unterhalb der Quartile).