

Aus der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Folgen und Implikationen einer Rituximab Therapie im Rahmen einer
hämatopoetischen Stammzelltransplantation bei Kindern und
Jugendlichen
Consequences and implications of rituximab therapy in the setting of
hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dennis Temel
.....

Datum der Promotion: 30.11.2023
.....

Vorwort

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht in:

Launspach M, Temel D, Ohlendorf E, Zirngibl F, Materne B, Oevermann L, Deubzer HE, Henssen AG, Künkele A, Hundsdörfer P, Bernuth HV, Pruß A, Eggert A, Stackelberg AV, Lang P, Schulte JH. Rituximab therapy after pediatric hematopoietic stem cell transplantation can cause prolonged B-cell impairment and increases the risk for infections - a retrospective matched cohort study. *Haematologica*. 2023 Jan 1;108(1):267-272. doi: 10.3324/haematol.2022.281134. PMID: 36134454; PMCID: PMC9827155.

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	2
Inhaltsverzeichnis	3
Abkürzungsverzeichnis	5
Tabellenverzeichnis	7
Abbildungsverzeichnis	8
Abstract (Englisch)	10
Abstrakt (Deutsch)	12
Einleitung	14
<i>1.1 Klassische Theorie vom Aufbau des Immunsystems</i>	<i>14</i>
1.1.1 Angeborene Immunreaktion/Immunsystem.....	14
1.1.2 Erworbene Immunreaktion/Immunsystem.....	17
1.1.3 Immundefekte	20
<i>1.2 Hämatopoetische Stammzelltransplantation</i>	<i>22</i>
1.2.1 HSZ-Entnahme	23
1.2.2 Arten der Transplantation	23
1.2.3 Konditionierung und Immunsuppression.....	24
1.2.4 Manipulation des Transplantats	25
1.2.5 HSZ-Gabe und Engraftment	26
1.2.6 Immunrestitution nach HSZT	27
1.2.7 EBV-Infektion, PTLD und Behandlungsoptionen.....	28
<i>1.3 Geschichte, Entwicklung und Wirkmechanismus von Rituximab</i>	<i>30</i>
1.3.1 Indikationen für RTX nach HSZT	32
1.3.2 RTX-assoziierte Komplikationen	32
<i>1.4 Zielsetzung dieser Arbeit</i>	<i>33</i>
PatientInnen und Methoden	34
2.1 Studiendesign und Einschlusskriterien	34
2.2 Patientenaufnahme, Observationszeit und Matching-Kriterien für die Kontroll-Gruppe..	35
2.3 Datenerhebung und primäre Endpunkte.....	37
2.4 Statistische Analyse.....	39
Ergebnisse	40

3.1 Hauptmerkmale und Matching Daten.....	40
3.2 RTX bezogene Daten und Ansprechen auf die RTX-Therapie	49
3.3 Einfluss von RTX auf die Immunrekonstitution (primäre Endpunkte).....	58
3.4 RTX bedingte sekundäre Komplikationen.....	70
3.5 Subgruppenanalyse (RTX-Fälle mit einem persistenten Bedarf an IVIG mindestens 53 Wochen (ein Jahr) nach RTX-Behandlung bis zum Ende der Beobachtungsperiode)	76
Diskussion	87
4.1 Limitationen der Studie.....	87
4.2 B-Zell Schaden und Komplikationen nach RTX-Therapie	91
4.3 Schlussfolgerung und Implikationen für eine RTX-Gabe	94
4.4 Ausblick.....	96
Referenzen	98
Eidesstattliche Versicherung.....	107
Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen.....	108
Lebenslauf.....	110
Publikationsliste	111
Danksagung	112
Akkreditierung des Statistikers	113

Abkürzungsverzeichnis

ADV	Adenovirus
AGM-Region	Aorto-gonadale-mesonephrische Region
AIHD	Autoimmune hematologic disease (Autoimmun-hämatologische Erkrankung)
ATG	Antithymozytenglobulin
BKV	BK-Virus
CD	Cluster of differentiation (Unterscheidungsgruppen)
CMV	Zytomegalievirus
CRP	C-reaktives Protein
CTCAE	Common terminology criteria for adverse events (Allgemeine Terminologiekriterien von unerwünschten Ereignissen)
CVID	Common-variable-immunodeficiency-disorder (Variables Immundefektsyndrom)
DLI	Donor lymphocyte infusion (Spenderlymphozyteninfusion)
EBMT	European Society for Blood and Marrow Transplantation
EBV	Epstein-Barr-Virus
EK	Erythrozytenkonzentrat/e
G-CSF	Granulocyte colony-stimulating factor (Granulozytenkolonien-stimulierender-Faktor)
GvHD	Graft versus host disease (Graft versus host Erkrankung)
GvL	Graft versus leukemia (Graft versus Leukämie)
HHV-6	Humanes Herpesvirus 6
HLA	Humane/s Leukozyten Antigen/e
HSZ	Hämatopoetische Stammzelle/n
HSZT	Hämatopoetische Stammzelltransplantation
Ig	Immunglobulin/e
ISCT	International society for cellular therapy
JACIE	Joint accreditation committee of the ISCT and EBMT
kgKG	Kilogramm Körpergewicht
KM	Knochenmark
mAK	Monoklonale/r Antikörper
MHC	Major-Histocompatibility-Complex

MMRD	Mismatched related donor (teilweise passende/r FamilienspenderIn)
MMUD	Mismatched unrelated donor (teilweise passende/r FremdspenderIn)
MSD	Matched sibling donor (passende/r GeschwisterspenderIn)
MUD	Matched unrelated donor (passende/r FremdspenderIn)
NHL	Non-Hodgkin-Lymphome
NK	Natürliche Killerzelle/n
PAMP	Pathogen-associated-molecular-pattern (Pathogenassoziierte molekulare Muster)
PBD	Subgruppe mit verlängertem B-Zell-Schaden innerhalb der RTX-Gruppe
PBSZ	Peripheral blood stem cells (Stammzellen aus peripherem Blut)
PRR	Pattern associated receptors (Mustererkennungszepatoren)
PTLD	Post-transplant-lymphoproliferative-disorder (Posttransplantations-Lymphoproliferative Erkrankung)
RTX	Rituximab
SCID	Severe-combined-immunodeficiency-disorder (Schwerer kombinierter Immundefekt)
TBI	Total body irradiation (Ganzkörperbestrahlung)
Th-Zellen	T-Helferzelle/n
TK	Thrombozytenkonzentrat/e
Treg	T-regulatorische Zelle/n
TZR	T-Zell-Rezeptor
ZTZ	Zytotoxische T-Zelle/n

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Hauptcharakteristika der beiden Studienkohorten, S.44f.

Tabelle 2: Ergänzende Hauptinformationen der Kohorten, S.47f.

Tabelle 3: RTX assoziierte Daten und Therapieansprechen, S.51f.

Tabelle 4: RTX-Einfluss auf die Immunrestitution, S.58f.

Tabelle 5: Sekundäre RTX bezogene Komplikationen, S.70ff.

Tabelle 6: Charakteristika der PBD-Subgruppe und RTX-Kontroll-Subgruppe, S.77ff.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Prozesse der Phagozytose, S.16

Abbildung 2: Vernetzung des angeborenen sowie erworbenen Immunsystems, S.18

Abbildung 3: Entwicklungsstadien der B-Zellen inklusive CD-Prägung, S.19

Abbildung 4: Graphische Darstellung von RTX als monoklonalen Antikörper, S.31

Abbildung 5: Hauptagenda und klinische Anwendung von RTX, S.33

Abbildung 6: Prozentualer Matchingerfolg der hierarchischen Matchingparameter im Matching Prozess der PatientInnen, S.40

Abbildung 7: Flowchart zur Veranschaulichung des Selektionsprozesses der PatientInnen aus der RTX und der Kontrollgruppe inklusive der Matchingkriterien, S.41

Abbildung 8: Absolute Verteilung von HSZT pro Jahr der Transplantation, S.43

Abbildung 9: Das Gesamtüberleben ist ähnlich zwischen der RTX- und der Kontroll-Gruppe, S.46

Abbildung 10: Übersicht über die Zeitpunkte der 1. RTX-Gabe in der RTX-Gruppe beziehungsweise des 1. EBV-Peaks in der Kontroll-Gruppe, S.49

Abbildung 11: Übersicht über die Verabreichung von RTX, den Beobachtungszeitraum, die Drop-out Ereignisse und die primären Endpunkte für jeden einzelnen Patienten, S.50

Abbildung 12: RTX-Behandlung wirkt bei Patienten mit hoher EBV-Viruslast nach HSZT, aber der Grenzwert der Viruslast für den Beginn der RTX-Behandlung ist unbekannt, S.53

Abbildung 13: Patientenindividuelle EBV-Viruslast nach HSZT für die RTX-Gruppe, S.54

Abbildung 14: Patientenindividuelle EBV-Viruslast nach HSZT für die Kontroll-Gruppe, S.55

Abbildung 15: Maximale EBV-Last nach HSZT in Kopienzahl/ml EDTA-Blut in der RTX- und Kontrollgruppe, S.56

Abbildung 16: RTX-Ansprechen im Vergleich zum ersten EBV-Peak in der Kontrollgruppe, S.57

Abbildung 17: RTX-Behandlungsbeginn bei niedrigen EBV-Kopienzahlen im Blut, S.57

Abbildung 18: Die Erholung der B-Zellen wird durch die Behandlung mit RTX nach einer HSZT behindert, S.61

Abbildung 19: Die Funktion der B-Zellen wird durch die Behandlung mit RTX nach einer HSZT ebenfalls behindert, S.64

Abbildung 20: T-Zell Erholung wurde durch eine RTX-Therapie nicht beeinflusst, S.66

Abbildung 21: Die primären Endpunkte korrelieren nicht mit der Anzahl der erhaltenen RTX-Dosen, dem Zeitpunkt des Beginns der RTX-Behandlung oder der maximalen EBV-Viruslast, S.67

Abbildung 22: Vergleich der primären Endpunkte "Zeitpunkt der B-Zell-Erholung" und "Letzter Tag der IgG-Substitution" zwischen den Untergruppen der RTX- und Kontrollgruppe, die eine EBV-Infektion durchmachten oder nicht-durchmachten, S.68

Abbildung 23: Subgruppendefinitionen und Zuordnung für anhaltende B-Zell-Schäden, S.76

Abbildung 24: Subgruppenspezifischer Vergleich der relevanten Immunrekonstitutionsparameter zwischen PBD-, RTX-Kontroll- und Nicht-RTX-Kontrollgruppe, S.84

Abstract (Englisch)

Background: With regards to hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), rituximab (RTX; a monoclonal antibody against the antigen CD20) is consistently used as an adequate treatment for Epstein-Barr-Virus (EBV) infection and EBV-associated post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD). In other cases, it can also for example be used as a treatment option for autoimmune hematologic diseases or for CD20 positive lymphoma. However, there is insufficient knowledge about the immunological consequences and impact on immune reconstitution after pediatric HSCT.

Objective: It is aimed to get further information for RTX related B cell damage and immune globulin deficiency in the context of immune reconstitution after pediatric HSCT.

Methods: A retrospective single-center analysis of clinical and immunologic data of a cohort of 44 pediatric patients treated with RTX within 365 days after allogenic HSCT was done. This group was compared to a second cohort of 44 matched control cases from the same population of 201 patients that received HSCT in our center between 2015 and 2020. Patients were observed for up to 3 years post-HSCT. Median follow-up in the RTX group was 481 (84 – 1095) days.

Results: Despite similar overall outcome, RTX therapy led to a significantly delayed B cell recovery (Difference in median: 162 days, $p < 0.0001$) and extended immunoglobulin deficiency (Time point of last intravenous immunoglobulin (IVIG) substitution difference in median: 145 days, $p < 0.0001$), independent from the amount of RTX doses received. After initiation of RTX treatment patients moreover showed significantly longer cumulative re-hospitalization durations (Difference in median: 7 days, $p = 0.033$) and higher rates of systemic bacterial infections (38.6% vs 13.6%, $p = 0.029$). Furthermore, a subgroup of 9 out of 24 patients (38%) from the patients in the RTX group who were observed for more than 365 days after ending RTX treatment until the end of the respective observation period developed prolonged immunoglobulin deficiency. Subgroup allocation was associated with a significantly better response to RTX, and significantly more secondary complications and re-hospitalizations compared to non-subgroup RTX patients with similar observation times.

Conclusion: RTX depicts a significant risk for prolonged B cell damage and secondary infectious complications when shortly given after HSCT. That can be compensated via IVIG substitution and specific treatment of complications. It is recommended that the first indication for RTX treatment should be considered carefully and generally not at EBV levels <10000 Copies/ml blood and in a

shared decision-making process with caretakers. Further research into predisposition factors for RTX sensitivity is recommended.

Abstrakt (Deutsch)

Hintergrund: Im Rahmen der hämatopoetischen Stammzelltransplantation (HSZT) wird Rituximab (RTX) als hochwirksame Behandlung der Epstein-Barr-Virus (EBV) Infektion und der EBV-assoziierten posttransplantierten lymphoproliferativen Erkrankung (PTLD) eingesetzt. In geringerem Umfang wird es auch in anderen Situationen verwendet. Das Wissen über immunologische Folgen und Auswirkungen auf die Immunrekonstitution nach pädiatrischer HSZT ist jedoch unzureichend.

Ziel: Weitere Einblicke in RTX-bedingte B-Zellschäden und Immunglobulinmangel im Zusammenhang mit der Immunrekonstitution nach pädiatrischer HSZT zu gewinnen.

Methoden: Es wurde eine retrospektive monozentrische Analyse klinischer und immunologischer Daten einer Kohorte von 44 pädiatrischen PatientInnen durchgeführt, die innerhalb von 365 Tagen nach allogener HSZT mit RTX behandelt wurden. Diese Gruppe wurde mit einer zweiten Kohorte von 44 gematchten Kontrollfällen (Kontrolle) aus derselben Population von 201 PatientInnen, die zwischen 2015 und 2020 in unserem Zentrum eine HSZT erhielten, verglichen. Die PatientInnen wurden bis zu 3 Jahre nach der HSZT beobachtet. Die mediane Beobachtungszeit in der RTX-Gruppe betrug 481 (84 – 1095) Tage.

Ergebnisse: Trotz ähnlichem Gesamt-Outcome führte die RTX-Therapie zu einer signifikant verzögerten B-Zell-Erholung (Differenz im Median: 162 Tage, $p < 0,0001$) und verlängertem Immunglobulinmangel (Zeitpunkt der letzten intravenösen Immunglobulin (IVIG) Substitution, Differenz im Median: 145 Tage, $p < 0,0001$), unabhängig von der Menge der erhaltenen RTX-Dosen. Nach Beginn der RTX-Behandlung zeigten die PatientInnen darüber hinaus signifikant längere kumulative Rehospitalisierungszeiten (Differenz im Median: 7 Tage, $p = 0,033$) und höhere Raten systemischer bakterieller Infektionen (38,6 % vs. 13,6 %, $p = 0,029$). Darüber hinaus entwickelte eine Untergruppe von 9 aus 24 PatientInnen (38 %) der PatientInnen in der RTX-Gruppe, die länger als 365 Tage nach Beendigung der RTX-Behandlung bis zum Ende der jeweiligen Beobachtungsperiode beobachtet wurden, einen anhaltenden Immunglobulinmangel. Die RTX PatientInnen Subgruppe war mit einem signifikant besseren Ansprechen auf RTX und signifikant mehr sekundären Komplikationen und erneuten Rehospitalisierungen im Vergleich zu den nicht Subgruppen RTX-PatientInnen mit ähnlichen Beobachtungszeiten assoziiert.

Schlussfolgerung: RTX birgt ein signifikantes Risiko für anhaltende B-Zell-Schäden und sekundäre infektiöse Komplikationen, wenn es kurz nach HSZT verabreicht wird, das durch IVIG-

Substitution und spezifische Behandlung von Komplikationen kompensiert werden kann. Es wird empfohlen, dass die anfängliche Indikation für eine Behandlung mit RTX sorgfältig und im Allgemeinen nicht bei EBV-Werten < 10.000 Kopien/ml Blut und in einem gemeinsamen Entscheidungsprozess mit den Behandelnden geprüft werden sollte. Weitere Forschung zu Prädispositionsfaktoren für RTX-Empfindlichkeit wird empfohlen.

Einleitung

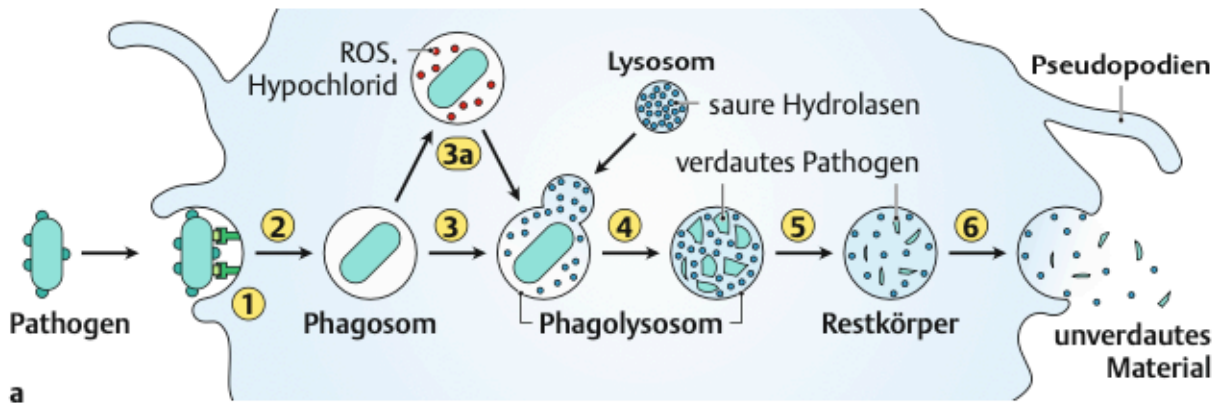
1.1 Klassische Theorie vom Aufbau des Immunsystems

Das Immunsystem kann grob unterteilt werden in eine angeborene und eine erworbene Immunreaktion. Es bezeichnet ein interaktives Netzwerk aus Immunzellen, den Lymphorganen wie die Lymphknoten und die Milz, Zytokinen und humoralen Faktoren. Eine Unteraktivität des Immunsystems begünstigt die Entwicklung von schweren Infektionen sowie Tumoren, die mit Immunschwäche assoziiert sind. Eine Überaktivität hingegen führt zu Allergien sowie Autoimmunerkrankungen (McComb et al., 2019, Parkin and Cohen, 2001).

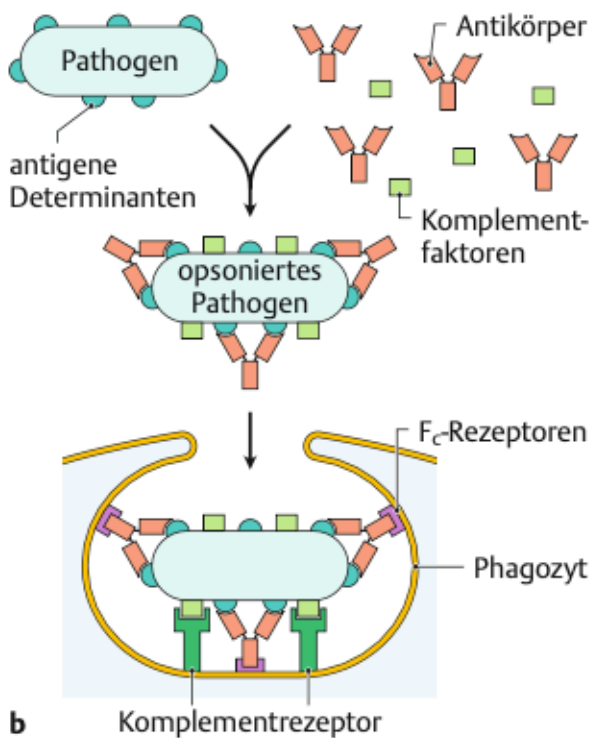
1.1.1 Angeborene Immunreaktion/Immunsystem

Die angeborene Immunantwort gegen Krankheitserreger basiert auf verschiedenen Abwehrmechanismen, die bereits seit der Geburt vorhanden sind. Es benötigt keine Prägung oder Anpassung an bestimmte Antigene. Daher ist dieses sofort nach Kontakt mit pathologischen Erregern aktiv. Diese Reaktion basiert auf der Interaktion von den sogenannten pathogen-associated-molecular-patterns (PAMP) auf pathologischen Erregern mit den vielfältigen pattern recognition receptors (PRR) auf den Immunzellen und anschließender Phagozytose (grafisch dargestellt in **Abbildung 1a**). Durch die zum Beispiel in neutrophilen Granulozyten vorkommende NADPH-Oxidase können Erreger über die Bildung von Sauerstoffradikalen eliminiert werden (**Abbildung 1c**). Aufgrund dieser sofortigen erregerspezifischen Reaktion wird sie auch als unspezifische Immunantwort beschrieben (Amboss, 2022, Sattler, 2017). Die physikalischen, chemischen und biologischen Mechanismen der angeborenen Immunantwort äußern sich in unterschiedlichen Formen. Die erste Barriere vor dem Eindringen von pathologischen Antigenen bilden eine intakte Haut und Schleimhäute. Schleimhäute produzieren dabei Substanzen, die vor pathologischen Erregern schützen (zum Beispiel Lysozym, Laktoferrin oder IgA). Zudem schützen Reflexe wie der Hustenreflex ebenfalls vor eindringenden Erregern (Amboss, 2022, La Fata et al., 2018, Nguyen and Soulika, 2019). Auf zellulärer Ebene sorgt die Expression des Major-Histocompatibility-Complex 1 (MHC-1) zur Präsentation von Proteinbruchstücken aus dem Inneren aller kernhaltigen Zellen für die Erkennung von atypischen, entarteten sowie viralen Proteinen und führt dementsprechend zur Abtötung durch zytotoxische T-Zellen (Amboss, 2022, Vartabedian et al., 2016, Wubben et al., 2021). Der MHC-1 ist ein Komplex von Genen, welcher die Oberflächenantigene humanes Leukozyten Antigen (HLA) A, B und C exprimiert (Amboss, 2022, Andreani et al., 2020). In einigen Fällen verhindern Viren die Expression von MHC-1 auf der Zelloberfläche. Das kann durch natürliche Killerzellen (NK) erkannt werden, worauf die

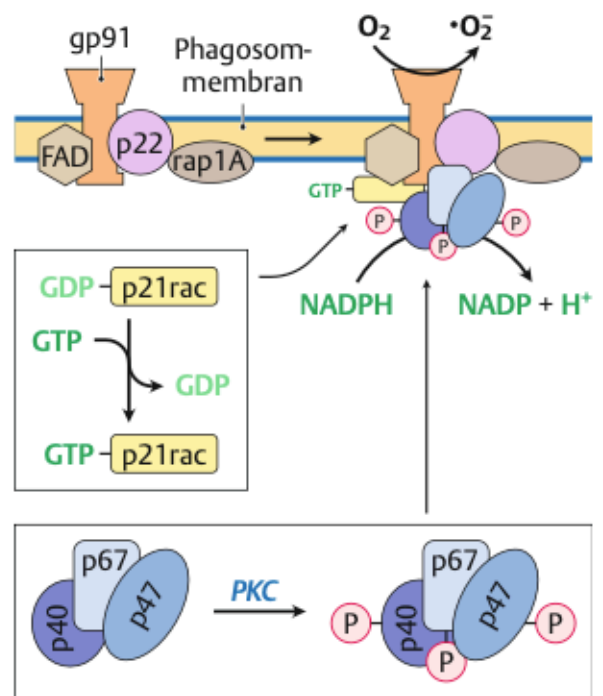
Abtötung der jeweiligen Zelle durch Initiierung von Apoptose durch die NK erfolgt. Dieser Verlust von HLA-Antigenen wird auch als *Loss-of-self* Theorie bezeichnet (Kärre, 1995). Zudem sorgt der MHC-2 Genkomplex für die Expression der Zellmembranproteine HLA DR, DQ und DP. Diese Antigene befinden sich auf antigenpräsentierenden Zellen (dendritische Zellen, Makrophagen/Monozyten und B-Zellen), welche durch Phagozytose exogenes Material zerlegen und über MHC-2 Rezeptoren auf ihrer Zelloberfläche präsentieren können. Diese Antigenpräsentation kann CD4 positive T-Helferzellen aktivieren und somit eine Schnittstelle von angeborener und erworbener Immunantwort darstellen (Amboss, 2022, Okamura et al., 2021). Daneben sorgen humorale Mechanismen der angeborenen Immunantwort für die Einleitung einer weitergehenden Immunantwort durch Weitung der Gefäße und Erhöhung der Gefäßdurchlässigkeit, Elimination von pathologischen Erregern und Proliferation, Aktivierung und Chemotaxis von Leukozyten. Diese humoralen Mechanismen werden gebildet durch Akute-Phase-Proteine wie das C-reaktive-Protein (CRP), das Komplementsystem (**Abbildung 1b**) und proinflammatorische Zytokine wie zum Beispiel Interferone (Amboss, 2022, Conigliaro et al., 2019, Gabay and Kushner, 1999, Spangler et al., 2015). Eine weitere Komponente des angeborenen Immunsystems sind $\gamma\delta$ -T-Zellen, die 5% der gesamten T-Zellen ausmachen. Diese Zellen befinden sich vorzugsweise in epitheliale Gewebe und sind beteiligt an Immunprozessen wie die Kontrolle von Tumorwachstum, die Regulationen von verschiedenen angeborenen Immunreaktionen (wie zum Beispiel Chemotaxis von neutrophilen Granulozyten) und an der Erhaltung von verschiedenen Geweben (wie Lungen oder Knochengewebe). Zudem verbessern $\gamma\delta$ -T-Zellen das Engraftment nach einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation (HSZT) und die Immunrestitution, lösen eine Graft versus Leukämie (GvL) Reaktion aus, haben eine direkte lytische Wirkung auf pathologische Zellen, ohne durch antigenpräsentierende Zellen aktiviert werden zu müssen und haben antivirale Wirkungen, ohne eine graft-versus-host-Erkrankung (GvHD) zu provozieren (de Koning et al., 2016, Ribot et al., 2021).



a



b



c

Abb. 24.3 **Phagozytose von Pathogenen.** **a** Ablauf der Phagozytose. **1:** rezeptorabhängige (PRRs, CR, FcR) Adhäsion und Invagination des Pathogens. **2:** Bildung des Phagosoms. **3:** Verschmelzung von Phagosom und Lysosom zum Phagolysosom. **3a:** oxidative Mikrobizidie. **4:** intravesikulärer Pathogenverbau. **5:** Bildung des Restkörperchens (unverdauliches Material). **6:** Exozytose. **b** Bindung opsonierter Pathogene. **c** NADPH-Oxidase von Phagozyten (Phox).

Abbildung 1: Prozesse der Phagozytose. Mit freundlicher Genehmigung von Prof. Kühn entnommen aus Püschel G. et al. Taschenlehrbuch Biochemie, Seite 669, Abbildung 24.3. 24. Oktober 2018. ISBN: 9783132429024; DOI: 10.1055/b-006-163310 (Kühn, 2018).

1.1.2 Erworbene Immunreaktion/Immunsystem

Die adaptive/erworbene Immunantwort beruht auf Antigen-spezifischen Zellen, die aktiviert werden müssen, um Maßnahmen zu ergreifen. Die Aktivierung erfolgt typischerweise in Zusammenspiel mit einer Antigenpräsentation durch Zellen des angeborenen Immunsystems. Somit folgt die erworbene Immunantwort auf die angeborene Immunantwort. Das macht die erworbene Immunantwort langsamer, aber aufgrund der hohen Spezialisierung effektiver. Diese Vernetzung ist in **Abbildung 2** dargestellt. Gelangt derselbe Erreger im Laufe des Lebens erneut in den Körper, erkennt das erworbene Immunsystem dies sofort und verhindert so erregerspezifisch und effektiv die Ausbreitung der Infektion. Die unterschiedlichen Reaktionswege der erworbenen Immunität sind eng mit den drei Subtypen der T-Zellen verbunden, aber unter besonderen Umständen können B-Zellen auch unabhängig von T-Zellen aktiviert werden und eine Immunantwort einleiten (Amboss, 2022, Dong, 2021, Mauri and Bosma, 2012). Zunächst können CD8 positive T-Zellen durch die Antigenpräsentation über MHC-1 die betroffenen Zellen direkt lysieren oder die Apoptose durch Perforine und Proteasen einleiten (Amboss, 2022, Atkinson and Bleackley, 1995). Daneben gibt es die zellulär vermittelte Typ-1 Reaktion, die über T-Helferzellen 1 (Th1-Zellen) läuft (Untergruppe der CD4 positiven T-Helferzellen). Dabei sorgt eine Interaktion von Th1-Zellen mit Makrophagen für eine Stimulation ersterer, welche dann Zytokine produzieren. Die Zytokine stimulieren Makrophagen und CD8 positive zytotoxische T-Zellen (positive Verstärkung) mit dem Ziel eine Immunantwort auf intrazelluläre Erreger auszulösen. Gleichzeitig sorgen diese Zytokine für eine Hemmung der Typ-2 Reaktion. Diese besteht aus einer humoralen Reaktion durch Th2-Zellen (weitere Untergruppe der CD4 positiven T-Helferzellen). Dabei geht die Reaktion von B-Zellen aus, welche Antigene über Ig an der Zellmembran (IgM oder IgD) erkennen und phagozytieren können. Darauf folgt eine Interaktion von Th2-Zellen und B-Zellen, welche via MHC-2 Interaktion zu einer Differenzierung der B-Zellen zu Plasmazellen sorgt. Plasmazellen produzieren dann erregerspezifische Antikörper (Ig) mit dem Ziel eine Immunantwort auf extrazelluläre Erreger auszulösen. Gleichzeitig wird die Typ-1 Antwort gehemmt, indem die Aktivierung der Makrophagen durch negatives Feedback verhindert wird (Amboss, 2022, Dong, 2021). Zuletzt können sich B-Zellen auch unabhängig von T-Zellen durch Phagozytose von Antigenen aktivieren. Dabei wird diese Reaktion insbesondere durch Polysaccharide ausgelöst. Dies führt anschließend zur Bildung von IgM und es findet kein Ig-Klassenwechsel statt (Amboss, 2022, Mauri and Bosma, 2012). CD4 positive Th-Zellen differenzieren je nach Stimulation nach Antigenpräsentation über MHC-2 durch Zytokine weiterhin jeweils zu unterschiedlichen Th-

Subpopulationen wie Th1, Th2, Th9, Th17, Th22 oder folliculäre Th-Zellen. All jene unterschiedliche Th-Zellen sind dann jeweils von sich aus toxisch oder aktivieren CD8 positive Effektor-T-Zellen oder B-Zellen, welche dann Antikörper produzieren (de Koning et al., 2016, Fu et al., 2014). Nach einer abgelaufenen Immunreaktion mit T-Zell-Expansion bilden sich die Th-Zellen ebenso wie die CD8 positiven zytotoxischen T-Zellen zurück, während einige verbleiben und T-Gedächtniszellen bilden.

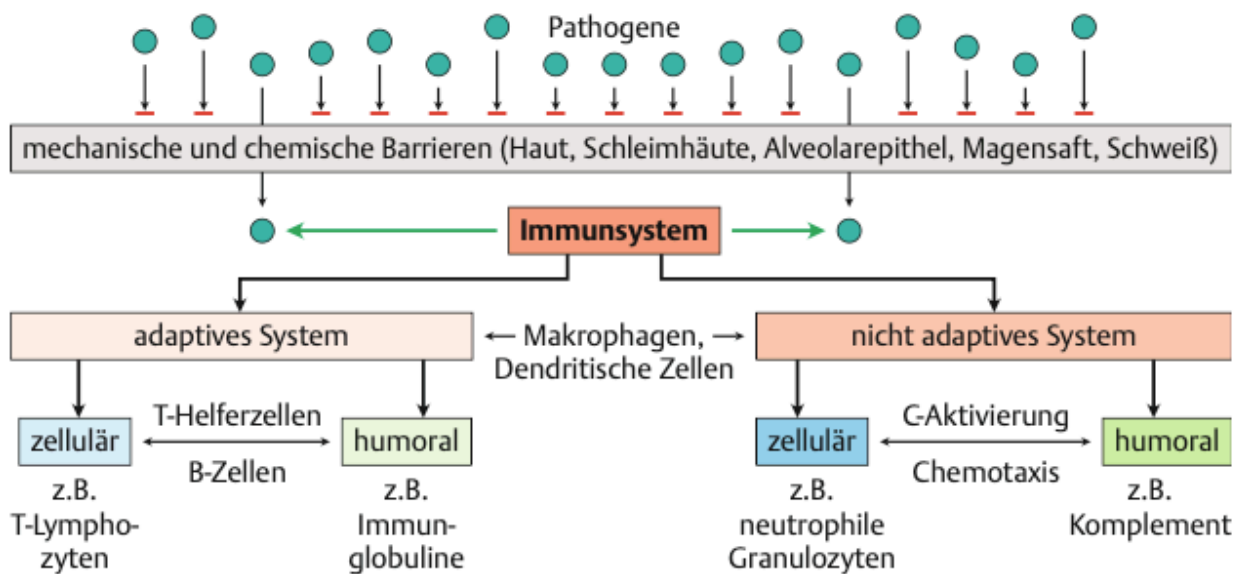


Abb. 24.2 **Dichotomie des menschlichen Immunsystems.** Das menschliche Immunsystem besteht aus einem adaptiven und einem nicht adaptiven Subsystem. Beide Subsysteme verfügen über zelluläre und humorale Abwehrmechanismen. Die 4 Teilsysteme beeinflussen sich gegenseitig. So verfügen z. B. Makrophagen und Dendritische Zellen über nicht adaptive Pathogenerkennungsmechanismen. Gleichzeitig präsentieren sie bearbeitete Pathogenkomponenten und ermöglichen damit T-Lymphozyten die Antigenerkennung. Dadurch werden beide Subsysteme miteinander verbunden. Auch innerhalb der beiden Subsysteme gibt es enge Verbindungen zwischen den zellulären und humoralen Ästen. So gehören z. B. B-Lymphozyten als antikörperproduzierende Zellen zum humoralen Ast des adaptiven Immunsystems. Sie sind gleichzeitig professionell antigenpräsentierende Zellen und ermöglichen damit die Antigenerkennung durch T-Lymphozyten (zelluläres System). Weiterhin wirken Antigen-Antikörper-Komplexe, die im Rahmen der humoralen adaptiven Immunreaktion entstehen, als klassische Aktivatoren des Komplementsystems (C₁-Aktivierung), das Bestandteil des humoralen nicht adaptiven Immunsystems ist.

Abbildung 2: Vernetzung des angeborenen sowie erworbenen Immunsystems. Mit freundlicher Genehmigung von Prof. Kühn entnommen aus Püschel G. et al. Taschenlehrbuch Biochemie, Seite 666, Abbildung 24.2. 24. Oktober 2018. ISBN: 9783132429024; DOI: 10.1055/b-006-163310 (Kühn, 2018).

Weiterhin gibt es T-regulatorische Zellen (Treg-Zellen), welche eine immunsuppressive Wirkung auf das angeborene sowie erworbene Immunsystem ausüben. Diese Zellen verhindern die Proliferation und Zytokinsekretion bei T- und B-Zellen, NK, natürliche Killer-T-Zellen, dendritische Zellen, Makrophagen, neutrophile Granulozyten und $\gamma\delta$ -T-Zellen. Zudem bilden diese Zellen eine wichtige Komponente der zentralen sowie peripheren Autoimmuntoleranz (de Koning et al., 2016, Okeke and Uzonna, 2019). Ein Überblick aller einzelnen B-Zell-Vorstufen wird in **Abbildung 3** gegeben. CD20 wird erst auf B-Zellen exprimiert, nachdem die Rekombination der schweren und leichten Ketten stattgefunden hat und die B-Zellen den IgM B-Zell-Rezeptor auf ihrer Zelloberfläche exprimieren. Daraufhin exprimieren die B-Zellen so lange CD20, bis diese zu Plasmazellen und B-Gedächtniszellen differenzieren und Ig sekretieren (Arai and Miklos, 2010).

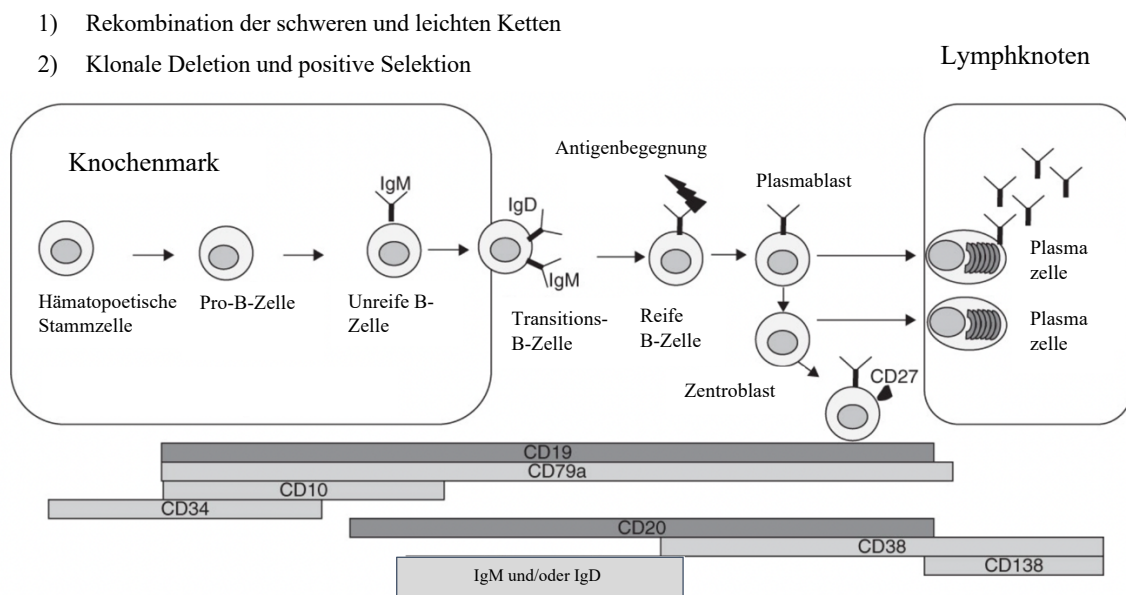


Abbildung 3: Entwicklungsstadien der B-Zellen inklusive CD-Prägung. Entnommen und modifiziert aus Arai S. Rituximab in hematopoietic cell transplantation. *Expert Opin Biol Ther.* 2010 Jun. 1471-2598. Doi: 10.1517/14712598.2010.485982. PMID: 20420511. Figur 1 (Arai and Miklos, 2010). Ursprünglich basierend auf (Small et al., 2009). CD20 exprimierende und von RTX erfasste Zellen sind durch die graue Linie mit der Schrift CD20 unterhalb der Abbildung hervorgehoben.

1.1.3 Immundefekte

Die komplexe Funktion des Immunsystems zeigt sich insbesondere dann, sobald es seine volle Funktion nicht mehr ausübt. Es gibt primäre Immundefekte des angeborenen sowie erworbenen Immunsystems. Dabei helfen klinische Parameter, festgelegt durch Intensität, Erreger, Lokalisation, Verlauf und Anzahl der Infektionen, zu differenzieren, ob es sich bei der Infektanfälligkeit um eine normale oder krankhafte handelt. So sind zum Beispiel mehr als acht Minorinfektionen im Kleinkindalter, die auch chronisch wiederkehren, ein Leitsymptom für eine krankhafte Infektanfälligkeit. Aber auch Gedeihstörungen, auffällige Laborwerte (wie zum Beispiel Lympho-/Neutropenie oder Ig-Mangel) und Komplikationen nach Lebendimpfungen können Anzeichen eines Immundefektes sein (Kalden and Eger, 2011, Parkin and Cohen, 2001, Amboss, 2022). Insgesamt gibt es circa 300 angeborene Immundefekte und mit Ausnahme des selektiven IgA-Mangels kommen andere primäre Immundefekte mit einer allgemeinen Prävalenz von 1:10000 selten vor. Ursache ist meist ein Gendefekt. Man unterscheidet bei Immundefekten des erworbenen Immunsystems zwischen T-Zell-, B-Zell- und kombinierten T/B-Zell-Defekten. Die Ursachen von T-Zell-Defekten sind sehr unterschiedlich und können bedingt sein durch fehlerhafte oder unvollständig gebildete T-Zellen. Klassische Beispiele von T-Zell-Defekten sind das Wiskott-Aldrich-Syndrom (X-chromosomal-rezessiv vererbtes Syndrom mit Beeinflussung der T-Zell-, Erythro- und Thrombozytenfunktion) oder das DiGeorge-Syndrom (Mikrodeletionssyndrom des Chromosoms 22 mit Entwicklungsstörung der Kiemenbögen und fehlender Thymusdrüse, was eine ausbleibende T-Zell-Reifung zur Folge hat). Der häufigste B-Zell-Immundefekt mit einer Prävalenz von 1:4000 beziehungsweise 1:1000 ist der selektive IgA-Mangel, wobei hier die B-Zellen unfähig sind, das IgA zu produzieren. Dabei entwickeln viele PatientInnen keine Symptome. In ausgeprägteren Fällen treten vermehrt Infekte in der Lunge und im Darm auf. Daneben gibt es die Common-variable-immunodeficiency-disorder (CVID), bei dem B-Zellen vorhanden, jedoch in ihrer Funktion Ig zu sezernieren eingeschränkt sind. Dabei fällt dieses Syndrom erst im jungen Erwachsenenalter auf, da die B-Zellen mit der Zeit immer schlechter ausreifen und sozusagen erschöpfen. Charakteristisch bei diesem Immundefekt sind häufige Lungeninfektionen mit kumulativem Lungenschaden sowie chronische Diarrhoen. Bei der Bruton-Agammaglobulinämie/Hypogammaglobulinämie dagegen sind wenige bis gar keine B-Zellen vorhanden, sodass PatientInnen an einem absoluten Ig-Mangel aller Klassen leiden. Diese PatientInnen würden ohne Therapie an lebensgefährlichen Infektionen versterben. Die schwerste Form des Immundefekts stellt der schwere kombinierte Immundefekt (severe-combined-immunodeficiency-disorder (SCID)) dar. Hier besteht ursächlich ein T-Zell-Defekt, welcher mit

einem B-Zell- oder NK-Defekt kombiniert sein kann. Diese Erkrankung endet mit einer Prävalenz von 1-5/100.000 Neugeborenen ohne Therapie ebenfalls letal (Amboss, 2022, Kalden and Eger, 2011).

1.1.3.1 Behandlungsmöglichkeiten

Manche der oben genannten Erkrankungen wie der selektive IgA-Mangel benötigen meistens keine Therapie beziehungsweise eine supportive Therapie. Diese besteht vor allem in der Gabe von Antibiotika, Ig, Antimykotika, Virostatika sowie weitere unterstützende Maßnahmen wie zum Beispiel Allgemein- und Mundhygiene, Impfungen, Temperaturüberwachungen und Routine-Vorsorgeuntersuchungen. PatientInnen mit einer Bruton-Agammaglobulinämie sowie CVID benötigen vor allem eine adäquate und regelmäßige Ig-Substitution, welche intravenös sowie subkutan erfolgen kann. Erkrankungen wie das Wiskott-Aldrich-Syndrom und die SCID können nur mit einer allogenen HSZT behandelt werden und enden ansonsten letal. PatientInnen mit einem DiGeorge-Syndrom können hingegen an spezialisierten Zentren mit einer Thymustransplantation behandelt werden. Bei ihnen ist eine HSZT kontraindiziert. Vielversprechend, jedoch aktuell noch häufig mit schweren/limitierenden Nebenwirkungen verbunden und nur in experimentellem Rahmen verfügbar ist eine ex vivo oder in vivo Gentherapie mit Ersatz oder Reparatur der krankhaften Gene (Kalden and Eger, 2011, Amboss, 2022).

1.2 Hämatopoetische Stammzelltransplantation

Die HSZT ist eine kurative Therapieoption für viele angeborene maligne sowie benigne Grunderkrankungen. HSZ bringen während des gesamten Lebens Zellen des Blut- und Immunsystems hervor. Zunächst entwickeln sich die HSZ in der Embryonalzeit an verschiedenen anatomischen Stellen wie in der mesodermalen Keimschicht, aus der die Hämangioblasten hervorgehen (Barriga et al., 2012, Huber et al., 2004). Daraufhin entstehen erythroide Vorläuferzellen aus dem Dottersack, welche die finale Differenzierung in der Leber durchlaufen (Barriga et al., 2012, Gekas et al., 2005). HSZ mit der Fähigkeit der kompletten Hämatopoese befinden sich zunächst in der Aorto-gonadalen-mesonephrischen Region (AGM-Region). Dies ist jedoch nur für eine kurze Zeit in wenigen Zellen der Fall. Anschließend kommen die HSZ des Dottersacks und der AGM-Region in der fetalen Leber zusammen. Von dort verlagert sich die Hämatopoese in das Knochenmark (KM) (Barriga et al., 2012, Ema and Nakauchi, 2000). Zum ersten Mal wurde 1961 von der Existenz von HSZ durch James Till und Ernest McCulloch berichtet (Barriga et al., 2012, Till and McCulloch, 2012). Später wurde von Stammzellnischen als hochspezialisierte Orte im KM berichtet, wo sich die HSZ befinden (Barriga et al., 2012, Schofield, 1978). Dabei gibt es viele anatomische Orte für diese Nischen. Es entstehen zunächst radiale Arterien aus zentralen Längsarterien in Röhrenknochen. Diese zweigen dann in Arteriolen in der Nähe des Endosteums aus. Von dort aus gehen diese in der KM-Höhle in venöses Endothel über. Anschließend vereinen sich die venösen Sinusoide in einem zentralen Sinus. Obwohl dieses Gewebe gut durchblutet ist, ist das KM grundsätzlich ein hypoxisches Gewebe mit der niedrigsten Sauerstoffkonzentration im Bereich der zentralen Sinusoide in der KM-Höhle (Nombela-Arrieta et al., 2013, Sipkins et al., 2005, Spencer et al., 2014). Grob eingeteilt gibt es dementsprechend die arterioläre und die sinusoidal-megakaryozytäre KM-Nische, wobei unklar ist, ob es sich dabei um zwei unterschiedliche Nischen handelt (Calvi and Link, 2015, Crane et al., 2017). HSZ lassen sich über die Bildung von CD34 auf ihrer Zelloberfläche charakterisieren (Niethammer et al., 2013, Thomas et al., 1975a, Thomas et al., 1975b).

Die KM-Transplantation und damit die HSZT wurde in den 60er Jahren erforscht und das erste Kind wurde 1975 erfolgreich in Deutschland transplantiert. Eine HSZT läuft klassischerweise in mehreren Stadien ab. Zunächst werden die HSZ entnommen. Dann erfolgt üblicherweise eine Therapie aus einer Polychemotherapie und/oder Ganzkörperbestrahlung (TBI), welche auch Konditionierung genannt wird. Während dieses Prozesses werden die entnommenen HSZ beziehungsweise das Transplantat gegebenenfalls modifiziert/manipuliert und nach der Konditionierung der PatientInnen verabreicht. Der Tag der HSZT wird als Tag 0 definiert.

Anschließend folgt die Phase des Engraftments, währenddessen sich das neue Immunsystem bildet (Barriga et al., 2012, Niethammer et al., 2013).

1.2.1 HSZ-Entnahme

HSZ können aus drei unterschiedlichen Quellen stammen. Sie stammen entweder aus KM, peripherem Blut oder Nabelschnurblut. Das KM-Transplantat wird über Aspiration von KM durch Punktionen an verschiedenen Stellen des hinteren Beckenkamms gewonnen. Die HSZ aus peripherem Blut werden leukapheresiert, nachdem sie über eine Anwendung von Granulozytenkolonien-stimulierenden-Faktor (G-CSF) im Blut des Spenders mobilisiert wurden. Die HSZ aus Nabelschnurblut werden direkt aus der frischen Nabelschnur kurz nach einer Entbindung extrahiert (Barriga et al., 2012). Obwohl Stammzellen aus peripherem Blut (PBSZ) heutzutage aufgrund der schnelleren Immunrestitution, des schnelleren Engraftments und der nicht-invasiven Entnahme für 70-90% aller HSZT verwendet werden, sind KM-Transplantate immer noch die obligatorische Wahl bei Kindern mit aplastischer Anämie und vorzugsweise die Transplantate der Wahl bei haploidenten HSZT und benignen Grunderkrankungen, da sie ein geringeres GvHD-Risiko (vor allem chronisch) und eine geringere nicht-Rezidiv-Mortalität vorweisen. Dafür üben KM-Transplantate einen geringeren GvL-Effekt aus (Gorin, 2019, Ayuk and Balduzzi, 2019). Die empfohlene Mindestkonzentration von zu transplantierenden CD34 positiven HSZ bei Kindern beim KM-Transplantat beträgt $\geq 2,0 \times 10^6$ /Kilogramm Körpergewicht (kgKG) bei autologen und $\geq 4,0 \times 10^6$ /kgKG bei allogenen HSZT (Wuchter, 2019). Die empfohlene Mindestkonzentration von CD34 positiven HSZ bei PBSZ beträgt $8,0 \times 10^6$ /kgKG. Bei leichteren Kindern kann die HSZ-Konzentration aber auch niedriger sein (Ayuk and Balduzzi, 2019).

1.2.2 Arten der Transplantation

HSZ werden entweder mit einer autologen Absicht (also zur Anwendung bei derselben kranken Person, von der die HSZ stammen) oder allogenen Absicht (von einer SpenderIn für eine kranke Person) transplantiert. Dabei gibt es unterschiedliche Spenderformen, die maßgeblich von der Übereinstimmung der HLA-Antigene abhängen und dementsprechend hierarchisch präferiert werden. Generell gesprochen sind möglichst HLA-identische Transplantate die erste Wahl bei benignen Grunderkrankungen. Ein Match der HLA-Antigene zwischen SpenderInnen und EmpfängerInnen ist dann gegeben, wenn die HLA-Antigene in ≥ 9 Antigenen übereinstimmen. Bei einer Übereinstimmung von ≤ 8 Antigenen spricht man von einem Mismatch. Bei malignen Grunderkrankungen kann eine leichte Inkompatibilität von Vorteil sein aufgrund einer induzierten GvL-Reaktion. Grundlegend sind HLA-kompatible GeschwisterspenderInnen

(matched sibling donor, MSD) die SpenderIn der ersten Wahl. Darauf folgen HLA kompatible verwandte, nicht Geschwisterspenden (matched related donor, MRD), dann HLA-kompatible fremde Spenden mit einer Übereinstimmung von $\geq 9/10$ Antigenen (matched unrelated donor, MUD) und zuletzt HLA-inkompatible Spenden (verwandt: die Kompatibilität wird hier haploid genannt, wenn die HLA-Antigene zur Hälfte übereinstimmen oder allgemein mismatched related donor (MMRD) oder nicht verwandt: mismatched unrelated donor, MMUD). Dabei ist bei diesen Konstellationen vor einer Transplantation eine Graft Manipulation obligat (Barriga et al., 2012, Ayuk and Balduzzi, 2019).

1.2.3 Konditionierung und Immunsuppression

Die auf die HSZ-Entnahme folgende Konditionierung hat drei Zwecke: Erstens sollen mit dieser Therapie, im Falle einer malignen Grunderkrankung wie zum Beispiel einer Leukämie, ein antitumoraler Effekt erzielt werden. Zweitens soll die Konditionierung eine suffiziente Immunsuppression bieten, um sicherzustellen, dass die neuen HSZ anwachsen und keine GvHD auslösen oder eine Abstoßung der HSZ stattfindet. Und drittens sollen die alten Stammzellnischen mit der Therapie frei und zugänglich gemacht werden für die neuen HSZ. Dabei hängt die Art der Konditionierungstherapie von verschiedenen Faktoren ab, wie zum Beispiel ob autologe oder allogene HSZ transplantiert werden. Einige Chemotherapeutika wirken eher myeloablativ wie Melphalan oder Busulfan, während andere Chemotherapeutika wie Fludarabin oder Cytarabin eher lymphodepletierend wirken. Es ist üblich, dass bei einer allogenen HSZT im Gegensatz zu einer autologen HSZT eher eine Serotherapie wie Antithymozytenglobulin (ATG) oder Alemtuzumab zur zusätzlichen Immunsuppression angewendet wird. Außerdem ist die Konditionierungstherapie von den teils haus- und krankheitsspezifischen Therapieprotokollen abhängig. Zudem sind klassischerweise Konditionierungen für unverwandte und ungematchte SpenderInnen intensiver und dementsprechend toxischer als zum Beispiel bei MSD. Weitere Faktoren, die für die optimale Konditionierung relevant sind, sind neben der Grunderkrankung und die Art der HSZ-SpenderIn das Alter der PatientIn, Komorbiditäten und die Organ-spezifische Toxizität. Das Konditionierungsregime zwischen Erwachsenen und Kindern sowie Jugendlichen unterscheidet sich ebenfalls. So sind Konditionierungen für Kinder und Jugendliche eher myeloablativer Natur. Zudem muss zwischen malignen sowie benignen Grunderkrankungen unterschieden werden, da bei einer malignen Grunderkrankung ein GvL Effekt – also einer Immunreaktion des neuen, transplantierten Immunsystems gegen die malignen entarteten Zellen - erwünscht ist, welcher durch eine geringere Immunsuppression erreicht werden kann. Für benigne Grunderkrankungen ist das oberste Ziel eine GvHD zu vermeiden und dementsprechend die Immunsuppression stärker.

Weiterhin wurden im Laufe der Zeit spezielle Konditionierungsprotokolle mit neuartigen Chemotherapeutika wie Treosulfan für allogene HSZT von unüblichen SpenderInnen wie MMUD, NabelschnurblutspenderInnen und haploidente SpenderInnen entwickelt (Nagler and Shimoni, 2019).

1.2.4 Manipulation des Transplantats

Nun gibt es mehrere Möglichkeiten, das Transplantat zu bearbeiten, um es je nach Situation der PatientIn anzupassen und eine suffizientere Immunrekonstitution zu gewährleisten. Die in dem Kontext relevantesten Arten der Manipulation des Transplantats sind die Plasma- und Erythrozytendepletion, die CD34-Selektion und die T-Zell Depletion. Die Plasma- und Erythrozytendepletionen gehören zu den physischen Manipulationen. Dabei sorgt eine Plasmadepletion für die Auswaschung von unerwünschten Proteinen oder Antikoagulanzen. Die Erythrozytendepletion ist insbesondere für die Transplantation von KM relevant, um nicht kompatible Erythrozyten der SpenderIn zu depletieren und unerwünschte Immunreaktionen zu vermeiden. Die CD34-Selektion war die erste Art der Manipulation, die mit einer geringen T-Zell Konzentration und einem dementsprechend niedrigen GvHD-Risiko einherging (Handgretinger et al., 2001, Ringhoffer et al., 2004). Dabei können hier weitere additional Gabe von Immunzellen wie unmanipulierte Spenderlymphozyteninfusionen (DLI) zum CD34 selektierten Transplantat genutzt werden, um eine ideale Zusammensetzung entsprechend der individuellen PatientInnenbedürfnisse zu erreichen. Dies bietet sich insbesondere bei der geringen Menge des CD34 selektierten Transplantats an. T-Zell depletierte Transplantate hingegen, weisen eine größere Menge an Zellen und eine niedrige Zahl an T-Zellen auf. Die Herstellung von T-Zell-depletierten Transplantaten erfolgt dabei in hochspezialisierten Laboren anhand eines komplexen und mehrstufigen Protokolls, sodass diese nicht in allen Entnahme- und Stammzelltransplantationszentren zur Verfügung steht. Innerhalb der T-Zell-Depletionen muss weiterhin zwischen CD3- und T-Zell-Rezeptor- $\alpha\beta$ (TZR $\alpha\beta$) Depletion unterschieden werden. CD3-depletierte Transplantate sind fast vollständig T-Zell-depletierte Transplantate mit ansonsten großen, unberührten Mengen an antileukämischen Zellen wie NK, wodurch eine effiziente Rekonstitution und GvHD-Prophylaxe gewährleistet sind. In TZR $\alpha\beta$ -depletierten Transplantaten wird gezielt die Menge $\alpha\beta$ positiver T-Zellen, die 95% aller T-Zellen bilden, reduziert. Dabei ist die Effizienz der Depletion besser als bei der CD3-Depletion und vergleichbar mit der CD34-Selektion. Jedoch besitzen diese Transplantate den Vorteil einer im Gegensatz zur CD34-Selektion schnelleren Expansionsrate und einer sehr geringen chronischen sowie akuten GvHD-Rate (Kaynar et al., 2017, Lang et al., 2015, Locatelli et al., 2017, Maschan et al., 2016). Neben der T-

Zell-Depletion können diese Transplantate auch CD19 depletiert werden. Dies sorgt für eine Aussortierung von B-Zellen und damit für eine Prophylaxe der PTLD (Federmann et al., 2012, Lang et al., 2014). Im Falle von insuffizienten, das heißt schlecht anwachsenden, Transplantaten können Stammzellboosts (CD34 selektierte Produkte) von derselben SpenderIn angewendet werden (Remberger et al., 1998). Zudem können T-Zellen auch für verschiedene Situationen wie mangelnde T-Zell Immunität als sogenanntes Addback neben dem grundlegenden Transplantat separat verabreicht werden. Die richtige Dosis der T-Zellen ist dabei abhängig vom HLA Matching, dem T-Zell Chimärismus der PatientInnen und der Zeit nach der HSZT, wann dieses Addback verabreicht wird (Schumm et al., 2019).

1.2.5 HSZ-Gabe und Engraftment

Im Anschluss an die Konditionierung werden HSZ-Transplantate entweder autolog (kryoasserviert) oder allogene (vorzugsweise frisch, in Ausnahmesituationen aber auch kryoasserviert) zur Regeneration des Blut- und Immunsystems transplantiert (Gorin, 2019). Dabei ist es wichtig, dass das Transplantat in den oben beschriebenen HLA-Antigenen möglichst genau mit dem ursprünglichen Immunsystem der EmpfängerIn übereinstimmt. Andernfalls erhöht sich das Risiko, dass zytotoxische T-Zellen der SpenderIn auf die fremden MHC-1 Antigene der EmpfängerIn reagieren und eine GvHD auslösen oder im schlimmsten Fall das Transplantat abgestoßen wird. Die HSZ werden dabei im Falle des KM langsam über mehrere Stunden intravenös verabreicht und zwischenzeitlich muss die Gerinnung kontrolliert werden, da diese Transplantate viel Heparin enthalten und notfalls mit Protamin antagonisiert werden muss. Die HSZT aus PBSZ verläuft dabei schneller und muss in einem geringen Zeitfenster von 10-20 Minuten stattfinden, damit das im Transplantat enthaltene Dimethylsulfoxid nicht zytotoxisch wirkt (Wuchter, 2019). Nach der Prozedur der HSZT setzt dann die Phase ein, wo die HSZ in den Stammzellnischen anwachsen und anfangen neue Immunzellen zu bilden, bis sich aus den transplantierten Stammzellen ein neues Immunsystem regeneriert hat. Bis zum Erreichen der Normwerte muss das Engraftment regelmäßig über den hämatopoetischen Chimärismus sichergestellt, eine Abstoßung des Grafts und ein möglicher Rückfall der Grunderkrankung durch eine adäquate Immunsuppression vermieden werden. Eine Immunsuppression findet dann üblicherweise mit Ciclosporin A in Kombination mit Methotrexat und/oder Mycophenolat-Mofetil statt, um eine GvHD zu vermeiden. Die Immunrekonstitution wird in Nachkontrollen in regelmäßigen Zeitabständen nach der HSZT überprüft und die posttransplantäre Immunsuppression dementsprechend angepasst (Barriga et al., 2012, Bader, 2019, Michonneau and Socié, 2019).

1.2.6 Immunrekonstitution nach HSZT

Im Folgenden wird nun erläutert, wie normale Zeiträume der Immunrekonstitution nach HSZT aussehen. Diese Werte basieren auf klinischen Erfahrungswerten und sind abhängig von Alter, Geschlecht, Komorbiditäten (wie zum Beispiel Thymusfunktion oder Hormonwerte), sowie der Art des Transplantats (KM oder PBSZ) und Manipulation desselben. Sie stellen damit nur einen Richtwert dar, sind jedoch für das Verständnis und zur Differenzierung von durch Komplikationen verlängerte Zeiträume unerlässlich (de Koning et al., 2016). Wie oben erwähnt finden im Gegensatz zur autologen HSZT im allogenen Setting T-Zell-depletierende Serotherapien und Transplantationsmanipulationen Anwendung, welche für eine zusätzlich verzögerte Immunrekonstitution sorgen (Booth et al., 2013, Bosch et al., 2012, de Koning et al., 2016, Grant et al., 1990, Lindemans et al., 2014, Olkinuora et al., 2011). Neutrophile Granulozyten sind die ersten Zellen des Immunsystems, die sich nach einer HSZT erholen. Diese werden auch als Prädiktor eines erfolgreichen frühen Anwachsens der neuen HSZ verwendet. Dabei gilt eine Zellzahl von 500/ μ l für drei aufeinander folgende Tage als unterer zu erreichender Grenzwert. Dieser wird im Durchschnitt 16 Tage bei KM und 15 Tage bei PBSZ nach HSZT erreicht (Oshrine et al., 2013). Die volle Funktionalität erreichen diese Zellen jedoch erst zwei Monate nach HSZT (Atkinson et al., 1991, Bensinger et al., 1996, de Koning et al., 2016). Die Rekonstitution der unterschiedlichen Subtypen von T-Zellen ist generell abhängig vom Output des Thymus und der peripheren homöostatischen Expansion. Da das Thymusgewebe durch die Konditionierung stark beeinträchtigt wird, ist die T-Zell-Rekonstitution in den ersten sechs Monaten nach HSZT hauptsächlich abhängig von der peripheren homöostatischen Expansion (de Koning et al., 2016, Williams et al., 2007). Diese ist zusätzlich eingeschränkt, wenn das Transplantat T-Zell depletiert ist, nach einer Therapie mit serologischen Konditionierungsmedikamenten oder durch eine Behandlung einer nach der Transplantation auftretenden GvHD (Bosch et al., 2012, de Koning et al., 2016). Für eine suffiziente Immunrekonstitution ist die Bildung von naiven T-Zellen ebenfalls obligat. Ihre Bildung wiederum ist stark vom Thymus abhängig, sodass ein Anstieg dieser Zellen ein Indikator für die Thymopoese ist (de Koning et al., 2016, Sallusto et al., 2004). Die in diesem Zusammenhang wichtigsten zu unterscheidenden Subpopulationen der T-Zellen sind die CD4 und CD8 positiven T-Zellen. Eine schnelle, aber suffiziente Erholung der CD4-T-Zellen scheint mit einer besseren Überlebensrate assoziiert zu sein ungeachtet der HSZ-Quelle (Bartelink et al., 2013, de Koning et al., 2016). Die Rekonstitution der T-Gedächtniszellen, die für eine adäquate Immunreaktion unabdingbar ist, hängt maßgeblich von der T-Zell-Differenzierung durch antigenpräsentierende Zellen ab. Die Datenlage über weitere spezifische T-Zell-Subgruppen

bezüglich Immunrekonstitution ist dagegen spärlich (Salles et al., 2017, de Koning et al., 2016). CD3 positive T-Zellen erholen sich im Durchschnitt ohne ATG-Therapie nach 7-12 Monaten bei KM und 6-24 Monaten bei PBSZ nach HSZT auf Zellzahl-Werte von mehr als 1 pro Nanoliter (de Koning et al., 2016, Oshrine et al., 2013). Nach ATG-Therapie verlängert sich die T-Zell Rekonstitution deutlich (de Koning et al., 2016, Rénard et al., 2011). CD4 positive T-Zellen regenerieren im Durchschnitt nach 4-12 Monaten bei KM sowie PBSZ nach HSZT (de Koning et al., 2016, Eyrich et al., 2003). Ebenfalls unabhängig von der HSZ-Quelle regenerieren CD8 positive T-Zellen nach 2-8 Monaten nach HSZT (Charrier et al., 2013, de Koning et al., 2016, Oshrine et al., 2013). Diesbezüglich scheinen CD4 T-Zellen durch eine ATG-Therapie stärker beeinflusst zu werden als CD8 T-Zellen. Für B-Zellen existieren fast nur Informationen über CD19 positive B-Zellen nach einer allogenen HSZT bei Kindern und Jugendlichen. Diese CD19 positiven B-Zellen scheinen sowohl von der Quelle der HSZ als auch von der Anwendung einer ATG-Therapie beeinflusst zu werden (de Koning et al., 2016). Die B-Zell-Rekonstitution auf Zellzahlen von mindestens 0,2 pro Nanoliter dauert in der Regel ohne ATG-Therapie länger als 6 Monate bei KM und 4-12 Monate bei PBSZ nach HSZT (de Koning et al., 2016, de Vries et al., 2000, Eyrich et al., 2003, Kook et al., 1996, Olkinuora et al., 2011). Zudem wird die B-Zell-Rekonstitution auch von Steroidtherapien und akuter sowie chronischer GvHD beeinflusst. Die hohe Rate an potenziellen Infektionen und weiteren Komplikationen bei B-Zell Aplasie zeigt, wie wichtig eine Erholung der B-Zell-Zahl und Funktion für die Immunrekonstitution ist (Bae et al., 2012, Buser et al., 2008, de Koning et al., 2016, Guillaume et al., 1998).

1.2.7 EBV-Infektion, PTLD und Behandlungsoptionen

Die häufigste Indikation für RTX nach einer HSZT ist eine Epstein-Barr-Virus (EBV)-Infektion, um eine frühzeitige EBV-assoziierte posttransplantäre-lymphoproliferative Erkrankung (PTLD) zu verhindern. Eine PTLD wird durch EBV-Herpesviren (humanes Herpesvirus 4) verursacht, die sich in B-Zellen in der aplastischen Phase nach myeloablativer Konditionierung und HSCT vermehren und zu Lymphom ähnlichen Tumoren führen (Gulley and Tang, 2010). Außerdem kann das EB-Virus auch andere Erkrankungen auslösen wie weitere EBV-assoziierte Tumorerkrankungen (wie zum Beispiel das Burkitt-Lymphom) und Endorganerkrankungen wie zum Beispiel Pneumonitiden oder Hepatitiden. Zudem wird unterschieden zwischen primären und wiederkehrenden EBV-Infektionen. Eine primäre Erkrankung wird bei zuvor EBV negativen PatientInnen über EBV-DNA im Blut oder serologisch nachgewiesen. Eine rezidivierende oder latente Infektion beschreibt den Nachweis von EBV-DNA im Blut bei PatientInnen mit bereits bekannter positiver EBV-Serologie. Die klinisch erkennbare PTLD entwickelt sich nach einer viralen Latenz

von EBV-Viren in B-Zellen, die vor einer präventiven Immunsuppression nicht abgetötet wurden (Styczynski and Giebel, 2019). Die Inzidenz liegt je nach Herkunft des Transplantats bei 1 bis 11 % bei einer zugrundeliegenden Prävalenz von 82-84% von EBV-Durchseuchung in der allgemeinen Bevölkerung (Singavi et al., 2015, Styczynski and Giebel, 2019, Styczynski et al., 2013). Die häufigsten Symptome einer EBV-assoziierten PTLD sind Lymphadenopathie und Fieber. Dabei hängt das Risiko an einer PTLD zu erkranken unmittelbar direkt proportional vom Grad der T-Zell-Depletion ab. Zudem erhöht eine Seropositivität der HSZ-SpenderIn ebenso das Risiko einer Erkrankung. Die Erkrankung wird histologisch nach einer erfolgten Biopsie diagnostiziert und orientiert sich grundsätzlich an Diagnosekriterien von klassischen Lymphomen wie der Ann-Arbor Klassifikation. Präventiv kann eine seronegative HSZ-SpenderIn für seronegative PatientInnen gewählt werden, um das PTLD-Risiko zu senken. Die Wahl einer seropositiven HSZ-SpenderIn bei einer seropositiven PatientIn stellt sich als weniger problematisch dar, da mit einer Transplantation auch EBV-spezifische zytotoxische T-Zellen (ZTZ) von der HSZ-SpenderIn übertragen werden (Styczynski and Giebel, 2019). Da die Behandlungsmöglichkeiten in der Vergangenheit begrenzt waren, lag die Sterblichkeit bei 84 % und machte damit einen erheblichen Anteil der HSZT-bedingten Sterblichkeit aus. Dank Fortschritten bei den therapeutischen Maßnahmen, verbesserten sich die Gesamtüberlebensraten erheblich und die PTLD-assoziierte Gesamtmortalität sank auf weniger als 30 %. Zu den therapeutischen Maßnahmen gehören die Verringerung der Immunsuppression, die adaptive zelluläre Immuntherapie, also der Gebrauch von EBV-spezifischen ZTZ oder DLI und die Einführung von RTX als eine Form der antiviralen Therapie, die sich als besonders wirksam erwiesen hat (Al Hamed et al., 2020, Curtis et al., 1999, Styczynski et al., 2013). RTX prophylaktisch nach einer HSZT zu gebrauchen, um eine EBV-assoziierte PTLD zu verhindern macht dabei in Bezug auf PTLD-Inzidenz oder Gesamtüberlebensrate keinen Unterschied im Gegensatz zu einer präventiven Therapie bei EBV-Reaktivierung/Infektion. Die wichtigste präventive Maßnahme ist das Monitoring der EBV-Viruslast besonders bei PatientInnen mit Risikofaktoren wie eine EBV-DNAämie. Dabei ist vor allem die Dynamik der EBV-Viruslast und eine Einschätzung der patientenindividuellen Immunfunktion entscheidend. Eine spezifisch anerkannte Grenze einer Viruskonzentration existiert nicht und ist abhängig von krankenhausspezifischen Therapierichtlinien. Die Anwendung von RTX ist dabei in den meisten Fällen erfolgreich (Glass et al., 2014, Styczynski and Giebel, 2019, van Esser et al., 2002, Worth et al., 2011).

1.3 Geschichte, Entwicklung und Wirkmechanismus von Rituximab

Der Beginn der Entwicklung von monoklonalen Antikörpern (mAK) als therapeutische Option wurde 1975 von den Forschern César Milstein und Georges Köhler initiiert (Köhler and Milstein, 1975, Salles et al., 2017). Diese beschrieben die Bildung von Hybridomen, mit denen es möglich war aus einer einzelnen B-Zelle durch die Fusion mit Myelomzellen unsterbliche Hybride zu synthetisieren, welche unbegrenzt Antikörper produzieren können. Dies ist bekannt als die Hybridom Technik. Dafür erhielten sie zusammen mit Niels Jerne 1984 den Nobelpreis für Medizin oder Physiologie (Institute, 2014, Salles et al., 2017). 1980 wurde zum ersten Mal ein Mensch mit einem mAK behandelt. Dieser hieß Antikörper 89 und war gegen ein Lymphom assoziiertes nicht näher beschriebenes Antigen gerichtet (Nadler et al., 1980, Salles et al., 2017). Daraufhin entwickelten Forscher aus der Gruppe von Ron Levy aus der Stanford Universität (Kalifornien) in Studien patientenindividuelle Anti-Idiotyp-Antikörper, welche 1982 zur Behandlung von Lymphom PatientInnen dienten (Miller et al., 1982, Salles et al., 2017). Diese Studien konnten zeigen, dass mAK eine gute antitumoröse Wirkung entfalten und dass diese gut verträglich sind. Im Jahr 1988 wurde dann das Oberflächenantigen cluster of differentiation (CD) 20 entdeckt. Durch die Entdeckung der zellulären Oberflächenantigene wie CD20 und CD19 wurde es dann möglich ein ideales Ziel für eben jene mAK zu identifizieren. Nun wurden erstmals murine CD20 spezifische mAK entwickelt, welche sich als sicher erwiesen, jedoch eine limitierte klinische Wirksamkeit aufwiesen (Press et al., 1987, Salles et al., 2017). Dies resultierte in der Entwicklung von Rituximab (RTX) (rituxan®) als chimärem mAK, welcher erstmals von dem Biotech Unternehmen Biogen Idec hergestellt wurde, um kanzerogene B-Zellen durch Bindung von CD20 zu vernichten (Institute, 2014). Dieses Medikament wurde dann erstmalig 1997 von der US-amerikanischen Food and Drug Administration und 1998 von der Europäischen Arzneimittelagentur für die Behandlung von non-Hodgkin-Lymphome (NHL) als intravenös zu verabreichendes Medikament zugelassen (Salles et al., 2017).

RTX ist unter Markennamen wie MabThera®/Rituxan®/Rituxan HYCELA™ von F. Hoffmann-La Roche Ltd. bekannt. Es ist ein mAK, der gegen das Oberflächenantigen CD20 gerichtet ist. Es besteht aus einem humanen/murinen und glykosyliertem Immunglobulin (Ig) G1-κ, was es zu einem chimären mAK macht. RTX besitzt Sequenzen aus der variablen Region der leichten und schweren Kette der Maus und aus der konstanten Region des humanen Kappa und des humanen IgG1 (Salles et al., 2017) (**Abbildung 4**).

Rituximab

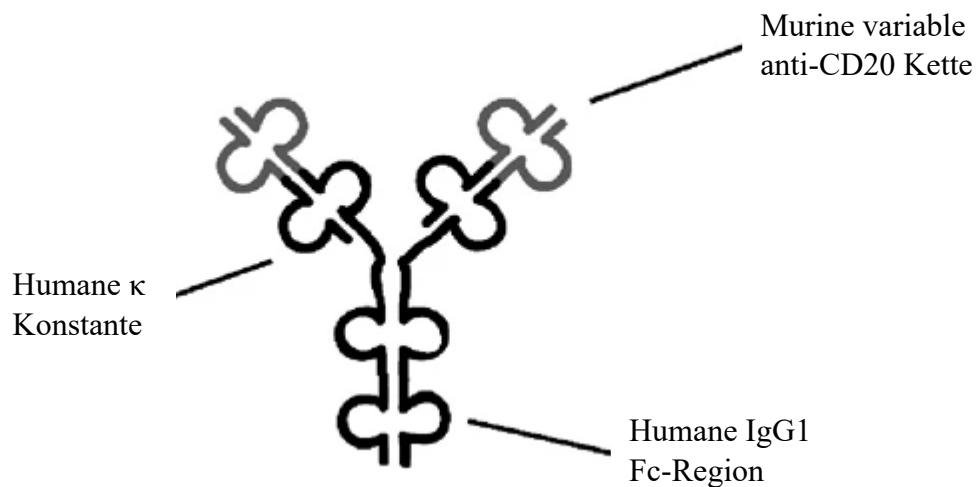


Abbildung 4: Graphische Darstellung von RTX als monoklonalen Antikörper. Entnommen und modifiziert aus Smith MR. Rituximab (monoclonal anti-CD20 antibody): mechanisms of action and resistance. *Oncogene*. 2003 Oct 20;22(47):7359-68. doi: 10.1038/sj.onc.1206939. PMID: 14576843. Figur 1 (Smith, 2003).

RTX bindet spezifisch an das Oberflächenantigen CD20, welches auf funktionalen und den meisten entarteten B-Lymphozyten exprimiert wird. Damit hat RTX keine Wirkung auf CD34 positive hämatopoetische Stammzellen (HSZ), pro-B- sowie Plasma-B-Lymphozyten, da diese kein CD20 exprimieren, sodass während der Einführung von RTX als Medikament angenommen wurde, dass genug unreife B-Zell Vorstufen und Plasmazellen übrigbleiben müssten, um eine suffiziente B-Zell Rekonstitution zu gewährleisten (**Abbildung 3**). Nach der Bindung von RTX an CD20 bewirkt RTX über Apoptose, Aktivierung des Komplementsystems oder über eine antikörper-abhängige zelluläre Toxizität mithilfe von Makrophagen, NK oder neutrophilen Granulozyten durch die Lyse der Zielzelle eine B-Zell-Depletion und eine damit einhergehende verminderte Antikörperproduktion (Banchereau and Rousset, 1992).

1.3.1 Indikationen für RTX nach HSZT

RTX hat sich im Behandlungsschema von CD20-positivem NHL gut etabliert und wird dort sowohl im Rahmen der Konditionierung als auch als Rezidivprophylaxe nach HSZT verwendet und zunehmend als eskalierende Intervention bei einem breiten Spektrum von refraktären systemischen rheumatischen und Autoimmunerkrankungen eingesetzt. (Berghen et al., 2019, Chen et al., 2020, McLaughlin et al., 1998, Salles et al., 2017, Stasi et al., 2006). Darüber hinaus spielt es eine wichtige Rolle als Immunsuppressivum bei der Behandlung schwerer unerwünschter Ereignisse nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation wie EBV-assoziiertes früh einsetzender PTLD, Organtransplantationen, steroidrefraktärer chronischer GvHD und autoimmunen hämatologischen Erkrankungen (AIHD) (Arai et al., 2012, Glass et al., 2014, Jäger et al., 2020, Kim et al., 2019, Ottaviano et al., 2020, Solomon et al., 2019, van den Hoogen et al., 2015, Worth et al., 2011).

1.3.2 RTX-assoziierte Komplikationen

Die häufigsten Nebenwirkungen nach einer RTX-Gabe sind Übelkeit, Juckreiz, Neutropenie, Bronchitis oder andere Infektionen. Jedoch kann RTX auch lebensbedrohliche Nebenwirkungen wie eine akute überschießende allergische Reaktion oder in seltenen Fällen auch ein Zytokin-release-Syndrom oder eine progressive multifokale Leukenzephalopathie auslösen, die (intensiv-)medizinische Interventionen erfordern (Produktinformation, 2009). Aus der B-Zell depletierenden Wirkung von RTX ergibt sich eine unmittelbare negative Wirkung auf das Immunsystem. In einer Kohorte von 53 Kindern mit Autoimmunzytopenie zeigte sich dabei, dass 35 % der PatientInnen auch 365 Tage nach der RTX-Behandlung einen anhaltenden B-Zell-Mangel und eine Hypogammaglobulinämie entwickelten (Ottaviano et al., 2020). In Hinblick auf die Anwendung von RTX nach HSZT deutet eine Reihe von Studien an kleinen pädiatrischen und erwachsenen HSZT-Kohorten auf eine verlängerte Zeitspanne bis zur Wiederherstellung normaler CD19 positiven B-Lymphozyten-Werte im Blut und eine verringerte B-Lymphozyten-Funktion hin, die eine verlängerte IVIG-Substitution bis zu teilweise zehn Jahre nach HSZT erforderlich machte (Buser et al., 2008, Luterbacher et al., 2021, Masjosthusmann et al., 2009). Was andere Komplikationen betrifft, so deutet eine Studie an 52 erwachsenen PatientInnen darauf hin, dass die Verwendung von präventivem RTX nach HSZT die bakteriellen Infektionsraten und die Sterblichkeit erhöht (Petropoulou et al., 2012). In einer anderen Studie mit 35 erwachsenen PatientInnen mit chronischer lymphatischer Leukämie und Mantelzell-Lymphom, die nach einer HSZT eine RTX erhielten, wurde hingegen eine reduzierte allogene B-Zell-Immunität mit geringer chronischer GVHD-Inzidenz und niedrigen Infektionsraten festgestellt (Arai et al., 2012). Das

Wissen über die Folgen einer frühen RTX-Anwendung für die Immunrekonstitution und andere Komplikationen (z. B. Auftreten von Infektionen oder Entwicklung einer akuten oder chronischen GvHD) nach pädiatrischer HSZT ist jedoch unzureichend und wurde bisher nicht in einer pädiatrischen Kohorte nach HSZT mit einer repräsentativen Größe untersucht. **Abbildung 5** beschreibt die Hauptagenda dieser Dissertation und stellt die RTX-Anwendung grafisch dar.

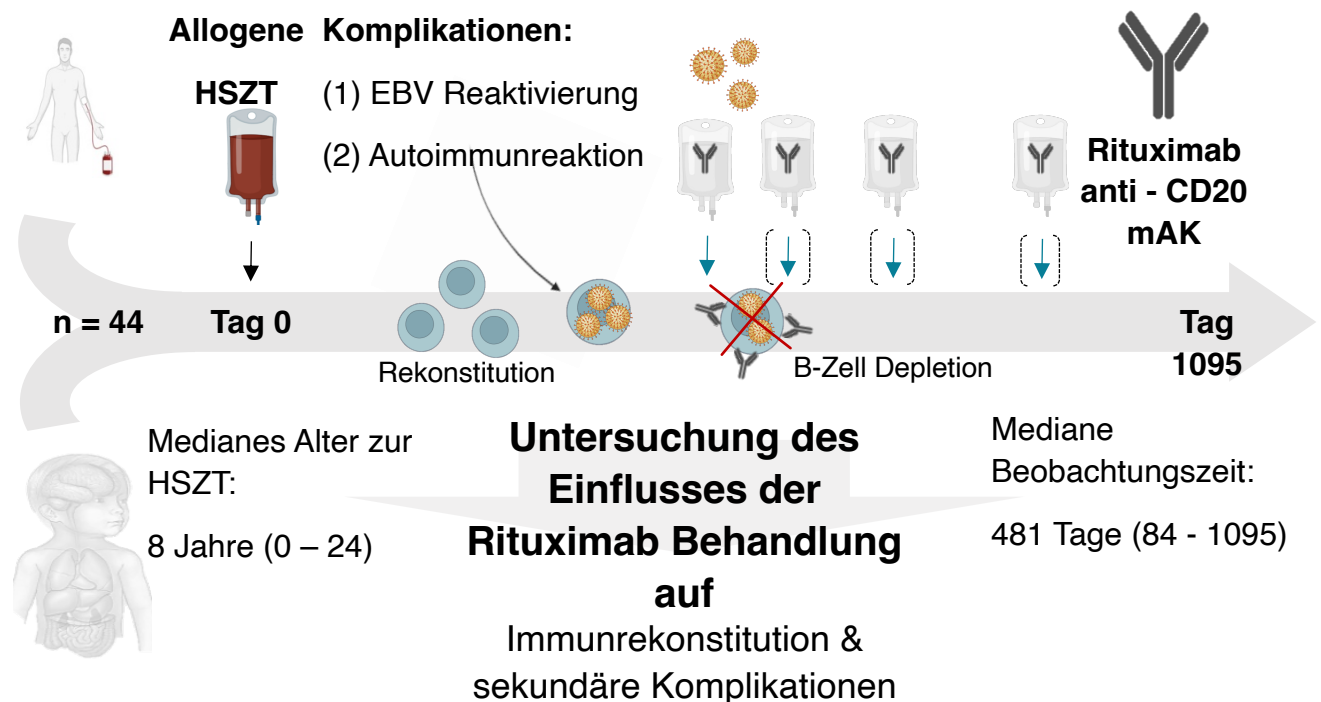


Abbildung 5 – Hauptagenda und klinische Anwendung von RTX. Die schematische Abbildung eines Kindes stammt aus in hier modifizierter Version von Maris JM. Recent advances in neuroblastoma. *New England Journal of Medicine*. 2010 Jun 10;362(23):2202-11. doi: 10.1056/NEJMra0804577. PMID: 20558371; PMCID: PMC3306838. Figur 1. HSZT: Hämatopoetische Stammzelltransplantation, EBV: Epstein Barr Virus, mAK: monoklonaler Antikörper. Diese Abbildung wurde mit BioRender.com erstellt (Maris, 2010).

1.4 Zielsetzung dieser Arbeit

Aufgrund der vorgenannten Wissenslücke hat sich diese Dissertation unter Berücksichtigung der bereits erfolgten Studien zum Ziel gesetzt einen umfassenden Überblick über die Auswirkungen und Implikationen von RTX nach einer HSZT in der soweit bekannt bisher größten gematchten Kohorte (n=44) von Kindern und Jugendlichen zu geben. Dabei wurde unter besonderem Augenmerk der primären Endpunkte eine Subgruppe mit besonders schweren Komplikationen nach einer RTX-Therapie definiert und die Folgen gesondert quantifiziert und gruppenintern untersucht.

PatientInnen und Methoden

2.1 Studiendesign und Einschlusskriterien

Diese Studie wurde auf der Stammzelltransplantationsstation an der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie an der Charité-Universitätsmedizin Berlin in Deutschland durchgeführt. Die Studie wurde durchgeführt als eine retrospektive, monozentrische Analyse von einer Kohorte von 44 pädiatrischen PatientInnen, welche RTX nach einer allogenen HSZT erhielten und anschließend mit einer zweiten gematchten Kohorte von 44 pädiatrischen PatientInnen verglichen wurden. Design und Methodik orientieren sich dabei an den Leitlinien des Cochrane STROBE Statement für gematchte Kohortenstudien (von Elm et al., 2008). Um in die RTX-Gruppe aufgenommen zu werden, mussten die PatientInnen zumindest eine Dosis von RTX mit der Standarddosierung von 375 mg/m^2 Körperoberfläche zwischen den Tagen +1 und +365 nach der allogenen HSZT erhalten haben. Zudem waren Drop-out Ereignisse bis zum Tag +30 nach der allogenen HSZT ein Ausschlusskriterium, um einen adäquaten Beobachtungszeitraum zu gewährleisten. Drop-out Ereignisse wurden wie folgt definiert: Tod, Graft Abstoßung, Retransplantation und Rückfall/Rezidiv der malignen Grunderkrankung. PatientInnen mit einer autologen HSZT wurden nicht in diese Studie inkludiert, da die autologe HSZT eine immunologisch völlig andere Situation darstellt und eine RTX-Anwendung nach autologer HSZT eine Ausnahmesituation darstellt.

2.2 Patientenaufnahme, Observationszeit und Matching-Kriterien für die Kontroll-Gruppe

Alle PatientInnen, die in die Studie eingeschlossen wurden, haben in der Charité innerhalb des Zeitraumes vom 01.01.2015 bis einschließlich dem 31.12.2019 eine allogene HSZT erhalten. In diesem Zeitraum wurden 248 PatientInnen an der Charité behandelt und 47 davon erhielten innerhalb eines Jahres nach HSZT RTX. Lediglich zwei multimorbide PatientInnen mit hochmalignen B-Zell-Lymphomen, welche RTX als Teil der Konditionierungstherapie erhalten hatten und innerhalb von 30 Tagen nach HSZT an ihrer progredienten Grunderkrankung verstarben und eine Patientin, die ein autologes Backup innerhalb von 30 Tagen nach einer allogenen HSZT erhalten hat, wurden ausgeschlossen. Somit ergab sich eine RTX-Kohorte von n=44 PatientInnen. Die Observationszeit wurde auf drei Jahre (Tag +1095) nach der HSZT begrenzt und endete dabei am 31.12.2020. Daher wurden PatientInnen, die jenseits dieses Zeitpunktes den Einschlusskriterien entsprochen hätten, dennoch nicht in die Studie inkludiert, um einen potenziellen Beobachtungszeitraum von mindestens einem Jahr zu ermöglichen. Die KontrollpatientInnen wurden aus dem restlichen PatientInnen-Pool von 201 PatientInnen ermittelt. Jede PatientIn aus der RTX-Gruppe wurde mit einer KontrollpatientIn gematcht, welche kein RTX innerhalb von vier Wochen vor dem Tag der HSZT, am Tag der HSZT oder danach bekommen hat. Diese Grenze von vier Wochen wurde gewählt, da dort die ungefähre Halbwertszeit von RTX liegt (Produktinformation, 2009). Weiterhin wurden KontrollpatientInnen nach dem Matching exkludiert, wenn diese ein Drop-out Ereignis vor dem Tag +30 nach HSZT oder vor dem Zeitpunkt der ersten RTX-Gabe der korrespondierenden RTX-PatientIn hatten, um einem Unsterblichkeitsbias vorzubeugen.

Jede RTX-PatientIn wurde individuell und bestmöglich nach den folgenden acht in ihrer Wichtigkeit hierarchisch geordnet Kriterien gematcht. Geordnet von der höchsten zur niedrigsten Priorität sind dies: 1. HSZT Matching Status/Art der HSZ-Spende (z.B. MUD, MSD, haploident), 2. Stammzellquelle, 3. Nummer der aktuellen HSZT, 4. Diagnose, 5. Maligne oder benigne, 6. Graft Manipulation, 7. Geschlecht und 8. Altersgruppe.

Diese Parameter wurden in Anlehnung an die essenzielle Datenliste der JACIE (Joint accreditation committee of the international society for cellular therapy (ISCT) and the european society for blood and marrow transplantation (EBMT)) festgelegt (Cornish, 2008).

Zunächst wurden alle PatientInnen ausgewählt, die den Parameter mit der höchsten Priorität (HSZT-Matching-Status) erfüllten, das heißt für eine RTX-PatientIn mit einer passenden unverwandten SpenderIn wurden alle PatientInnen vorausgewählt, die die Aufnahmekriterien der Kontrollgruppe mit einer passenden unverwandten SpenderIn erfüllten. Diese Gruppe wurde dann sequenziell nach den anderen Matching-Parametern gefiltert. Dabei gab es für jeden Matching-Schritt drei mögliche Ergebnisse:

(1) Nach einem bestimmten Filterschritt blieb keine PatientIn übrig. Dann wurde eine zufällige PatientIn aus dem vorherigen Schritt ausgewählt, wie zum Beispiel eine PatientIn mit einem Mismatch in der Altersgruppe, der alle anderen Parameter erfüllte.

(2) Nach einem bestimmten Filterschritt blieb eine einzelne PatientIn übrig. Dann wurde diese PatientIn ausgewählt.

(3) Nach dem letzten Filterschritt blieben mehrere PatientInnen übrig. In diesem Fall wurde zufällig aus denjenigen PatientInnen mit dem möglichst gleichen Transplantationsjahr wie der/die RTX-PatientIn ausgewählt, um eine Verzerrung durch verschiedene Beobachtungszeiträume zu verringern.

2.3 Datenerhebung und primäre Endpunkte

Alle PatientInnen Daten wurden über die digitalen PatientInnen Datenprogramme SAP (SAP SE, Walldorf, Deutschland) und COPRA (COPRA System GmbH, Berlin, Deutschland) erhoben. Die medizinische Geschichte und alle relevanten klinischen Parameter wurden aus den in SAP angelegten Arztbriefen extrahiert. Spezifische Laborwerte inklusive der zugehörigen individuellen normalen Grenzbereichswerte wurden vom Labor Berlin (Labor Berlin - Charité Vivantes GmbH, Berlin, Deutschland) bereitgestellt. Bluttransfusionsdaten über Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentrate wurden über eine Liste der Blutbank des Instituts für Transfusionsmedizin der Charité bereitgestellt. Eine Liste für die RTX-Gaben wurde über das Abrechnungssystem und über die individuellen Abrechnungsnummern der RTX-Dosen erstellt und für die Bestimmung der PatientInnen aus der RTX-Gruppe herangezogen. Die Gaben von substituierten IVIG wurden alle einzeln mit Datum und Menge dokumentiert. Für die Analyse des Tetanustoxins und des Pneumokokken Kapsel Antikörper Titer zwei Jahre nach der HSZT wurden alle Patienten mit Drop-out Ereignissen exkludiert, jedoch alle verfügbaren Daten bis zum 20.01.2022 herangezogen, obwohl der Beobachtungszeitraum auf den 31.12.2020 beschränkt wurde (Simonsen et al., 1986). Für die Bewertung schwerer Ereignisse wurde die Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 5.0 des National Cancer Institute verwendet wie zuvor beschrieben (Lee et al., 2021). Dafür wurden alle überlebten schwere Ereignisse des 4. Grades berücksichtigt. Für die Analyse von viralen, bakteriellen sowie Pilz-Infektionen wurden prophylaktische Therapien beziehungsweise intravenöse systemische Therapien in prophylaktischer Dosis nach HSZT nicht berücksichtigt. Die Diagnosekriterien für die Stellung von klinischen Diagnosen wie zum Beispiel einer akuten oder chronischen GvHD entstammten stets dem EBMT-Handbuch (EBMT-Handbook, 2019).

Es wurden folgende primäre Endpunkte festgelegt und mit besonderem Augenmerk zwischen den beiden Gruppen verglichen: B-Zell-Erhholung, IgG-Erhholung und die kumulative Dosis sowie der letzte Zeitpunkt der substituierten IVIG. Die B-Zell-Erhholung wurde definiert als der erste Zeitpunkt, zu dem die CD19 positiven B-Zell Laborwerte die untere Grenze des normalen altersabhängigen Grenzbereichs erreichte. IgG wurden in der Klinik für pädiatrische Hämatologie und Onkologie der Charité Universitätsmedizin Berlin ab einem Unterschreiten des Laborwertes von 5g/l oder einem gewichtsadaptierten Grenzwert substituiert. Daher wurde die IgG-Erhholung als der Zeitpunkt definiert, an dem PatientInnen den Laborwert von 5g/l oder dem jeweiligen gewichtsadaptierten Grenzwert regelmäßig überschritten und keine IVIG-Substitutionen mehr benötigt wurden.

Im Anschluss der Vergleiche der RTX und der Kontroll-Gruppe wurde eine RTX interne Subgruppenanalyse durchgeführt, um mögliche Gemeinsamkeiten der PatientInnen mit schweren Schäden zu identifizieren und in einen Kontext zu setzen. Die Subgruppe wurde dabei definiert als diejenigen RTX-PatientInnen, welche eine persistente IVIG-Substitution nach 53 Wochen (ein Jahr) bis zum Ende des jeweiligen Beobachtungszeitraumes benötigten.

2.4 Statistische Analyse

Zum statistischen Vergleich der RTX und Kontroll-Gruppe wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für kontinuierliche metrische Daten und der McNemar Test für binäre Daten verwendet. Da von vorneherein damit zu rechnen war, dass die vorliegenden Daten nicht normalverteilt sind, wurden für diese Studie nur nicht parametrische Tests verwendet. Diese Tests wurden unter der Berücksichtigung des Matchings als verbundene Stichproben durchgeführt, sofern für $\geq 75\%$ aller Pärchen für beide gematchte PatientInnen die entsprechenden Werte vorlagen. Für Zeitpunktanalysen (zum Beispiel B-Zell-Erholung) wurden PatientInnen mit Drop-out Ereignissen in die Analyse inkludiert. Dabei wurde immer jeweils der letztmögliche Zeitpunkt in der Analyse berücksichtigt. Dieselbe Vorgehensweise wurde bei PatientInnen angewendet, wenn ein Parameter (zum Beispiel B-Zell-Erholung) nicht innerhalb des Beobachtungszeitraumes erreicht wurde. Um diese mögliche Confounder-Quelle zu minimieren und Zensuren darzustellen wurden zu den jeweiligen Zeitpunkt Daten (wie zum Beispiel B-Zell-Erholung, IgG-Erholung und Endpunkt der IVIG-Substitution) zusätzlich Kaplan-Meier-Kurven erstellt und der Log-Rank-Test genutzt, um Unterschiede zu identifizieren. Für den Fall, dass ein Matching aufgrund von zu vielen fehlenden Werten einer jeweiligen Parameteranalyse unmöglich war, beziehungsweise falls in $>25\%$ der Pärchen für den jeweiligen Parameter für mindestens eines der beiden Kinder kein Wert vorlag oder für den Vergleich der Subgruppe mit den restlichen RTX-PatientInnen, wurde der Mann-Whitney U Test für kontinuierliche metrische Daten und der exakte Fischer Test für binäre Daten verwendet.

Es wurde zudem eine kompetitive Risikoanalyse nach Fine und Grey durchgeführt, um geeignete Hazard Ratios für die „Zeit bis zum Auftreten des Ereignisses“-Endpunkte zu berechnen. Zur Berücksichtigung einer möglichen Verzerrung, die durch eine frühe Gruppenzuordnung und das Erreichen von Endpunkten vor der Behandlung mit RTX verursacht wurden, wie es für die oben genannten Tests der Fall war, wurde diese Analyse in Bezug auf den ersten Tag der Behandlung mit RTX durchgeführt. Zum Vergleich der Erholung von T- und B-Zellen im Laufe der Zeit wurde aus demselben Grund ein zeit- und gruppenangepasstes gemischtes Modell nach Šídák mit Behandlungswechsel verwendet.

Für die Analyse von Korrelationen wurde die Spearman-Korrelations-Analyse verwendet.

Alle Graphen und Teststatistiken wurden mit SPSS (IBM SPSS Statistics, Armonk, USA), GraphPad PRISM 8 & 9 (GraphPad Software, San Diego, USA) sowie R Version 1.4.1717 (R Foundation) erstellt.

Ergebnisse

3.1 Hauptmerkmale und Matching Daten

Während der Jahre von 2015 bis 2020 haben 248 pädiatrische PatientInnen eine HSZT in der Charité erhalten. 44 dieser PatientInnen haben mindestens eine RTX-Dosis zwischen dem Tag +1 und +365 nach HSZT bekommen und sonst auch den Einschlusskriterien entsprochen. Die prozentualen Matchraten sowie der Selektionsprozess und die Matching Kriterien sind in der **Abbildung 6 und 7** dargestellt.

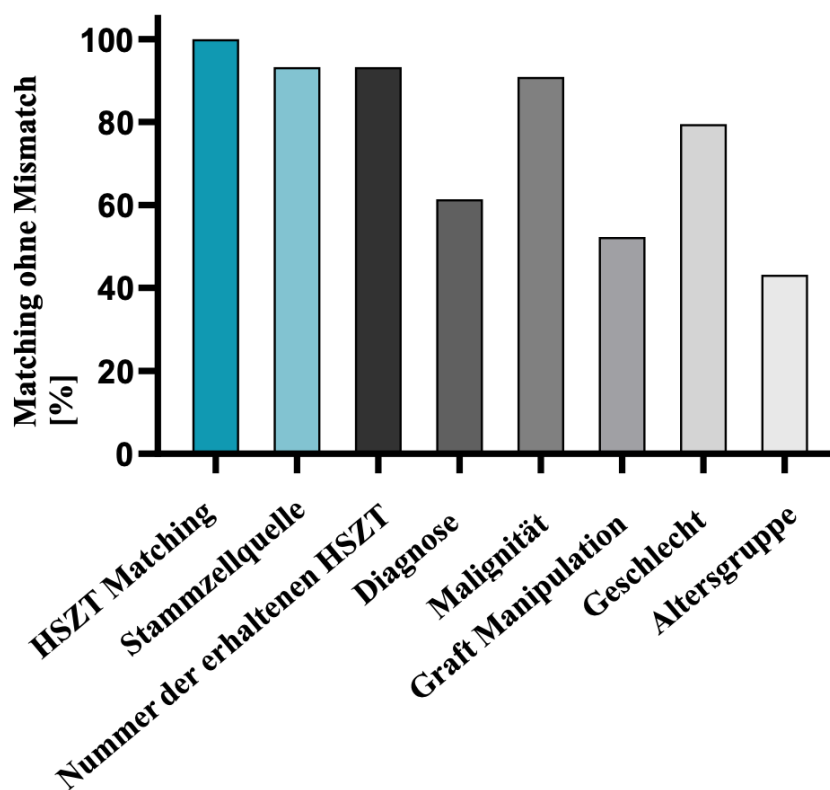


Abbildung 6: Prozentualer Matchingerfolg der hierarchischen Matchingparameter im Matching Prozess der PatientInnen

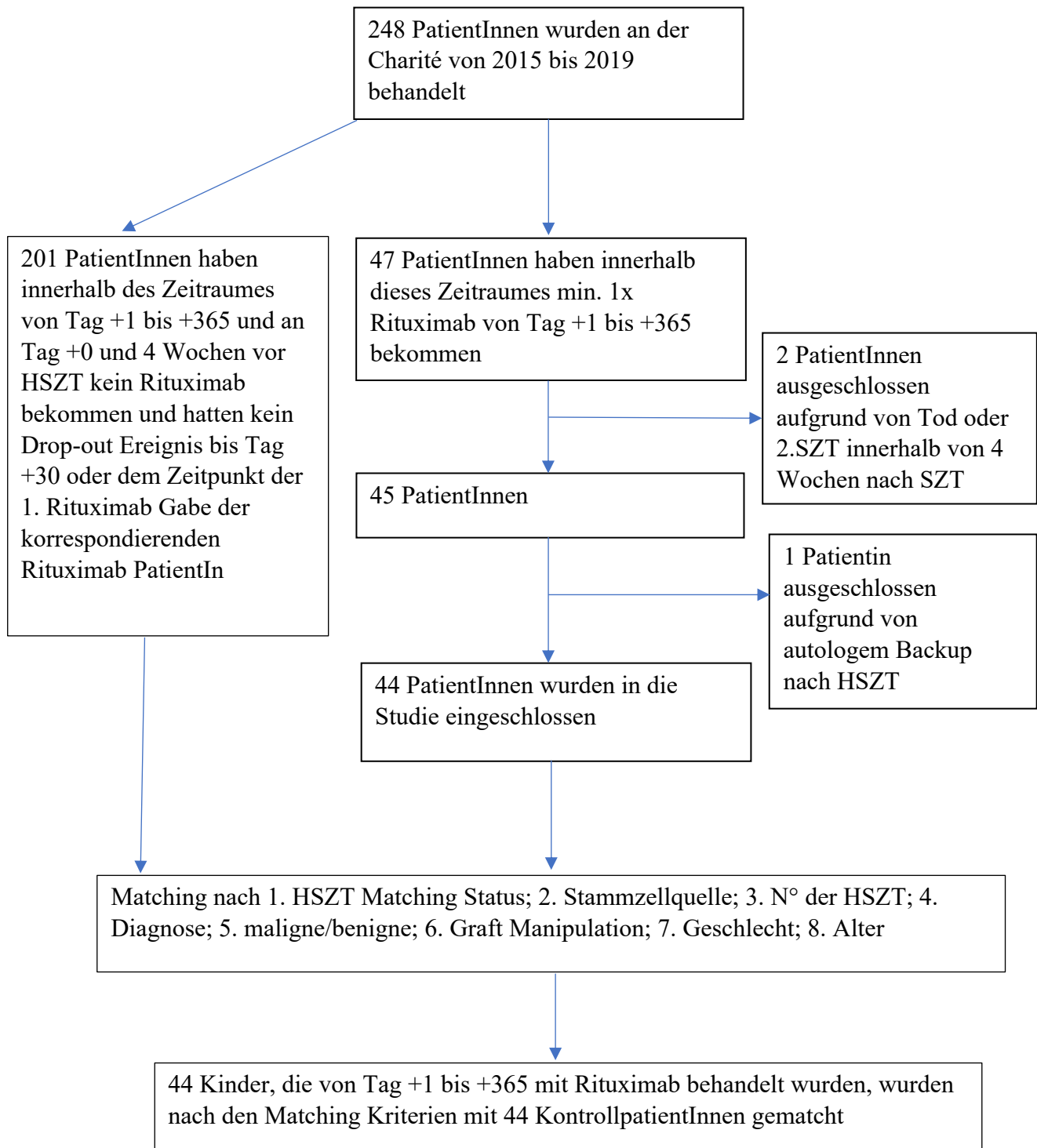


Abbildung 7: Flowchart zur Veranschaulichung des Selektionsprozesses der PatientInnen aus der RTX und der Kontrollgruppe inklusive der Matchingkriterien.

Es gab keine Mismatches bezüglich des HSZT-Matching, 3 Mismatches in der HSZ-Quelle und der Nummer der aktuell erhaltenen HSZT, 17 Mismatches bei der Grunderkrankung, 4 Mismatches bezüglich Malignität/Benignität, 21 Mismatches bezüglich der Manipulation des Transplantats, 9 Mismatches bezüglich des Geschlechts und 24 Mismatches bezüglich der Altersgruppe (**Abbildung 6, Tabelle 1**). Nach dem Matching wurde ein signifikanter Unterschied in der durchschnittlichen Dauer des Beobachtungszeitraumes der PatientInnen festgestellt. Der Median lag bei 481 Tage (84-1095 Tage) in der RTX-Gruppe im Gegensatz zu 785 Tagen (51-1095 Tage) in der Kontroll-Gruppe. Dies resultierte in einer kumulativen Anzahl von 69,68 (25434 Tage) im Gegensatz zu 86,27 (31489 Tage) beobachteten PatientInnenjahren. Die Verteilung ist wie folgt: RTX-Gruppe: 2015: 4, 2016: 1, 2017: 8, 2018: 13, 2019: 18. Kontroll-Gruppe: 2015: 3 2016: 11 2017: 9 2018:13 2019: 8 (**Abbildung 8**). Beide Gruppen enthielten eine ähnliche Geschlechterverteilung (RTX-Gruppe 19 (43%) weibliche Patientinnen und 25 (57%) männliche Patienten versus Kontroll-Gruppe 21 (48%) weibliche Patientinnen und 23 (52%) männliche Patienten). Das mediane Alter zum Zeitpunkt der HSZT in der RTX-Gruppe lag bei acht Jahren (0-24 Jahren) versus fünf Jahren in der Kontroll-Gruppe (0-26 Jahre). Die Art der HSZT war identisch in den gematchten Gruppen. Es gab 31 (71%) MUD, 8 (18%) MSD, 2 (4,5%) MRD und 3 (6,8%) MMRD/haploidente Stammzelltransplantationskonstellationen. 20 (45%) der PatientInnen aus der RTX-Gruppe (Kontroll-Gruppe: 23 (52%)) erhielten KM und 24 (55%) PatientInnen aus der RTX-Gruppe (Kontroll-Gruppe 21 (48%)) erhielten Stammzellen aus dem peripheren Blut. Es gab etwas weniger maligne Grunderkrankungen in der RTX-Gruppe (20 (44%) versus 24 (55%) in der Kontroll-Gruppe). Alle oben genannten Parameter sind in **Tabelle 1** dargestellt. Bezüglich der Graft Manipulation wurden signifikant mehr T-Zell depletierte Stammzellgrafts in der RTX-Gruppe verwendet (20 (45%) versus 12 (27%) in der Kontroll-Gruppe, $p=0,008$). Zudem erhielten PatientInnen aus der RTX-Gruppe höhere CD34 positive Stammzell Dosen als die Kontroll-Gruppe (Median $10,21 \times 10^6/\text{kgKG}$ versus $7,9 \times 10^6/\text{kgKG}$). Drop-out Ereignisse traten in beiden Gruppen ungefähr gleich häufig auf und es wurde kein Unterschied im Gesamtüberleben festgestellt (**Tabelle 1 und Abbildung 9**). Weitere Gruppeninformationen, die für beide Gruppen ähnlich ausfielen, so wie Diagnosen, Blutgruppen und Informationen über Konditionierungsmedikamente sind verfügbar in **Tabelle 2**.

Absolute Verteilung von HSZT pro Jahr

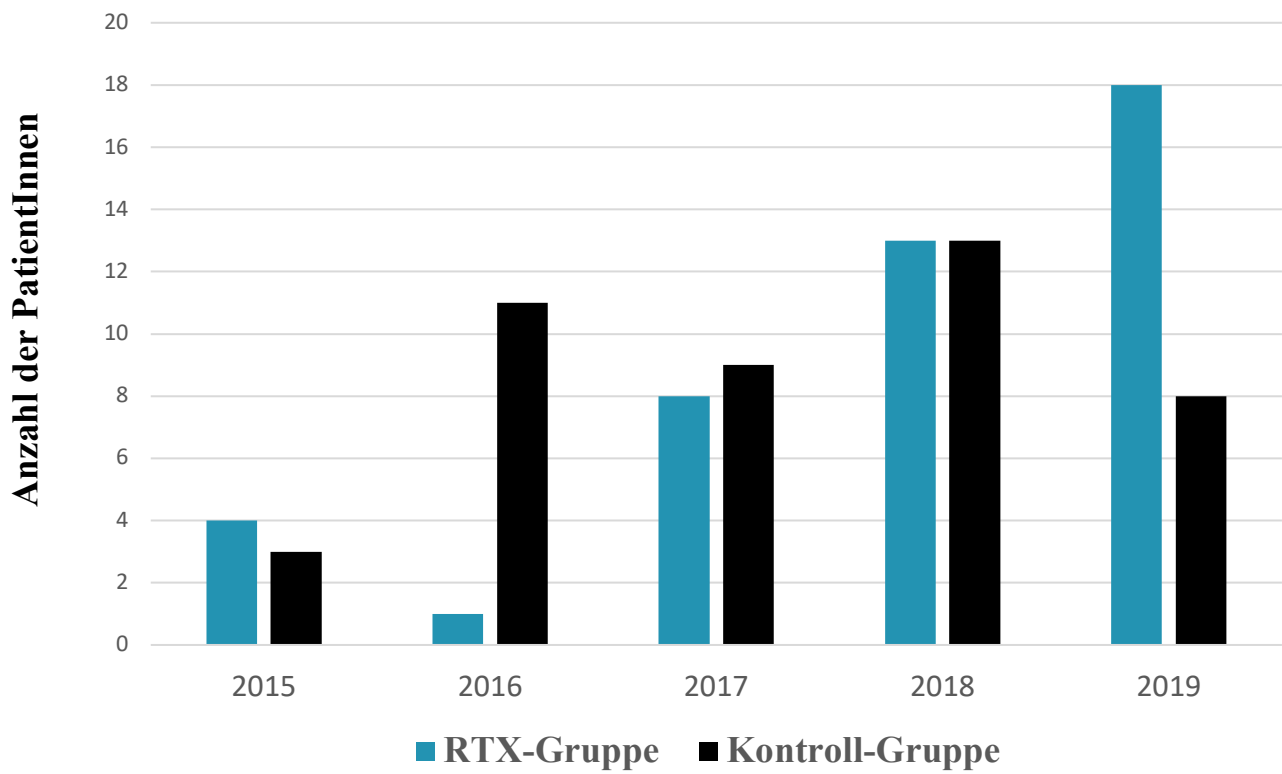


Abbildung 8: Absolute Verteilung von HSZT pro Jahr der Transplantation.

Tabelle 1 - Hauptcharakteristika der beiden Studienkohorten

Charakteristika	RTX-Gruppe	Kontroll-Gruppe	p-Wert ^a
Observationszeit ^b	481 (84 - 1095)	785 (51 - 1095)	0,07
Beobachtungszeitraum [Tage]	25434	31489	
Anzahl der PatientInnen	44	44	
Geschlecht ^y , n (%)			
Männlich	25 (56,8)	23 (52,3)	0,75
Weiblich	19 (43,2)	21 (47,7)	
Alter zum Zeitpunkt der HSZT [Jahre] ^{b,y}	8 (0 - 24)	5 (0 - 26)	0,27
Art der HSZT ^x , n (%)			
MUD	31 (70,5)	31 (70,5)	>0,99
MSD	8 (18,2)	8 (18,2)	
MMRD/haploident	3 (6,8)	3 (6,8)	
MRD	2 (4,5)	2 (4,5)	
Quelle der HSZ ^y , n (%)			
KM	20 (45,5)	23 (52,3)	0,25
PBSZ	24 (54,5)	21 (47,7)	
Malignität ^y , n (%)			
Benigne	24 (54,5)	20 (45,5)	0,125
Maligne	20 (45,5)	24 (54,5)	
Graft Manipulation ^y , n (%)			
Keine ^c	15 (34,1)	24 (54,5)	
CD34 Selektion	6 (13,6)	4 (9,1)	
CD34 Selektion + CD3 Addback	2 (4,5)	3 (6,8)	
CD3/CD19 Depletion	1 (2,5)	1 (2,5)	
TZRαβ/CD19 Depletion	5 (11,4)	4 (9,1)	
TZRαβ/CD19 Depletion+ CD3 Addback	15 (34,1)	6 (13,6)	
TZRαβ Depletion, + CD3 Addback	0 (0)	2 (4,5)	
Jegliche Form der TZRαβ-Depletion	20 (45,5)	12 (27,3)	0,008
Rückfälle/Rezidive, n (%)	3 (6,8)	6 (13,6)	
Nicht Rückfall-assoziierte Tode, n (%)	6 (13,6)	4 (9,1)	
Nicht Rückfall-assoziierte Abstoßungen, n (%)	2 (4,5)	0 (0)	
Nicht Rückfall-assoziierte Retransplantationen, n (%)	2 (4,5)	0 (0)	

Fortsetzung Tabelle 1

Charakteristika	RTX-Gruppe	Kontroll-Gruppe	p-Wert^a
Anzahl der transplantierten CD34+-HSZ [x10 ⁶ /kgKG] ^y	10,21 (2,2 - 55,84)	7,9 (0,9 - 79,31)	0,91
Anzahl der Transplantationen von 2019-2020	31	21	
PatientInnen per Altersgruppe, n (%)			
<1	2 (4,5)	3 (6,8)	
1-5	21 (47,7)	20 (45,5)	
6-11	6 (13,6)	7 (15,9)	
12-17	11 (25)	11 (25)	
18+	4 (9)	3 (6,8)	
Altersmismatches für gematchte Kontrollpaare, n (%)	24 (55,5)		
Altersmismatches zwischen benachbarten Altersgruppen, n (%)	15 (62,5)		

^a=Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-, McNemar-, Mann-Whitney U- oder Fischers exakter Test abhängig vom Datentyp und dem Matching, ^b=Median [Spannweite], ^c=inkludiert ausschließlich Erythrozytendepletion und Plasmadepletion als Graft Depletion, ^x=exaktes Matching, ^y=bestmögliches Matching innerhalb der Möglichkeiten

HSZT: hämatopoetische Stammzelltransplantation, MUD: matched unrelated donor, MSD: matched sibling donor, MMRD: mismatched related donor, MRD: matched related donor, HSZ: hämatopoetische Stammzellen, KM: Knochenmark, PBSZ: Stammzellen aus peripherem Blut, CD: cluster of differentiation, Oberflächenantigen, TZRαβ-Depletion: T-Zell-Rezeptor αβ-Depletion, KG: Körpergewicht

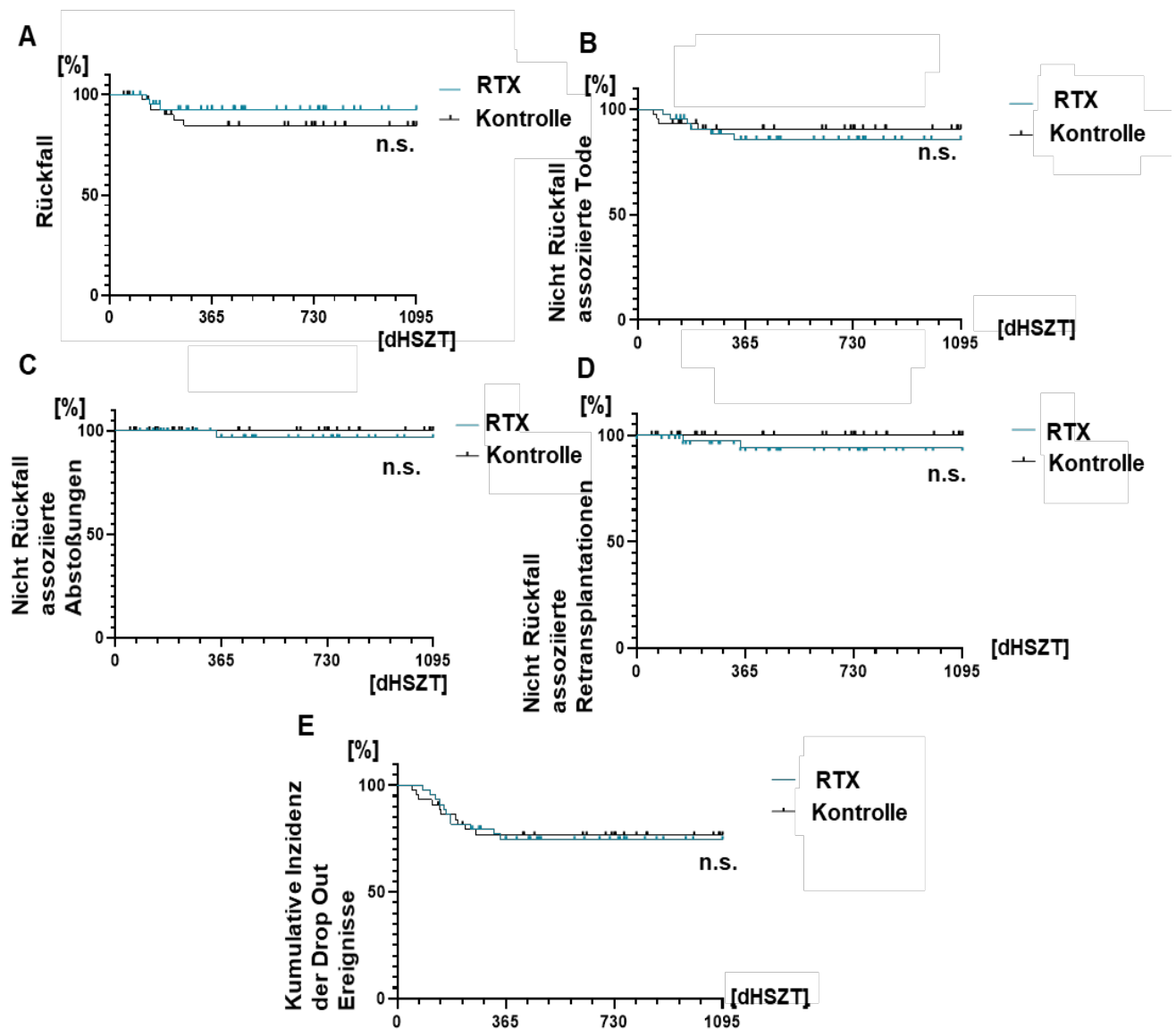


Abbildung 9: Das Gesamtüberleben ist ähnlich zwischen der RTX- und der Kontroll-Gruppe. (A,B,C,D) Kaplan-Mayer-Kurven und Log-Rank-Test für die Drop-out-Ereignisse Rückfälle, nicht rückfallbedingte Tode, Abstoßungen und Retransplantationen. **(E)** Kumulative Inzidenz der in A-D dargestellten Drop-out Ereignisse. RTX: Rituximab (Gruppe), Kontrolle: Kontrollgruppe, dHSZT: HSZT-Behandlungszeitpunkt (d0 = Tag der HSZT). Signifikanz: n.s.: nicht signifikant.

Tabelle 2 - Ergänzende Hauptinformationen der Kohorten

Charakteristika	RTX-Gruppe	Kontroll-Gruppe	p-Wert ^a
Körpergewicht zum Zeitpunkt der Transplantation, [kg] ^b	27 (3-90)	21,4 (5,1-90,6)	0,87
HSZT-Nummer, n (%) ^y			
1	42 (95,5)	41 (93,2)	
2	1 (2,3)	2 (4,5)	
3	1 (2,3)	1 (2,3)	
HSZT Indikation, n (%) ^y			
Akute myeloische Leukämie	1 (2,3)	5 (11,3)	
β-Thalassämie major	2 (4,5)	2 (4,5)	
Burkitt Lymphom	2 (4,5)	0 (0)	
Septische Granulomatose	2 (4,5)	5 (11,4)	
B-Zell akute lymphoblastische Leukämie	10 (22,7)	10 (22,7)	
Diamond-Blackfan Anämie	1 (2,3)	1 (2,3)	
Fanconi-Anämie	2 (5)	1 (2,3)	
Hämophagozytische Lymphohistiozytose	1 (2,3)	0 (0)	
Hyper-IgM-Syndrom Typ 1	1 (2,3)	0 (0)	
ICF-Syndrom Typ 3	1 (2,3)	0 (0)	
IPEX-Syndrom	1 (2,3)	0 (0)	
Myelodysplastisches-Syndrom	3 (6,8)	6 (13,6)	
Morbus Glanzmann	1 (2,3)	0 (0)	
Morbus Hunter	1 (2,3)	1 (2,2)	
Neuroblastom	1 (2,3)	1 (2,2)	
Osteopetrosis	1 (2,3)	0 (0)	
Schwere aplastische Anämie	1 (2,3)	0 (0)	
Sichelzellkrankheit	6 (13,6)	7 (15,9)	
SCID	1 (2,3)	1 (2,3)	
STK4 Defekt	1 (2,3)	0 (0)	
T-Zell akute lymphoblastische Leukämie	1 (2,3)	2 (4,5)	
T-lymphoblastisches Lymphom	1 (2,3)	0 (0)	
Yokohama Hämoglobinopathie	1 (2,3)	0 (0)	
Morbus Castleman	0 (0)	1 (2,3)	
X-ALD	0 (0)	1 (2,3)	
Todesursache, n (%)			
Septischer Schock	2 (25)	1 (16,6)	
Multiorganversagen	3 (37,5)	3 (50)	
Hirntod	1 (12,5)	1 (16,6)	
ZNS Aspergillose	1 (12,5)	0 (0)	
Unspezifisch	1 (12,5)	1 (16,6)	

Fortsetzung Tabelle 2

Charakteristika	RTX-Gruppe	Kontroll-Gruppe	p-Wert^a
Blutgruppe (EmpfängerIn/SpenderIn), n (%)			
0-/0-	2 (4,5)	0 (0)	
0+/0+	8 (18,2)	10 (22,7)	
0+/AB-	1 (2,3)	0 (0)	
0+/B+	2 (4,5)	0 (0)	
A-/B+	1 (2,3)	0 (0)	
A+/0-	2 (4,5)	1 (2,3)	
A+/0+	5 (11,4)	5 (11,4)	
A+/A-	1 (2,3)	0 (0)	
A+/A+	10 (22,7)	9 (20,5)	
A+/AB+	1 (2,3)	0 (0)	
AB-/0+	1 (2,3)	0 (0)	
AB+/A+	1 (2,3)	1 (2,3)	
B-/AB+	1 (2,3)	0 (0)	
B+/0+	1 (2,3)	2 (4,5)	
B+/A+	1 (2,3)	2 (4,5)	
B+/AB-	1 (2,3)	0 (0)	
B+/B+	2 (4,5)	1 (2,3)	
A-/0+	0 (0)	1 (2,3)	
A+/B+	0 (0)	2 (4,5)	
AB+/A-	0 (0)	1 (2,3)	
AB+/AB+	0 (0)	1 (2,3)	
B-/A+	0 (0)	1 (2,3)	
B+/0-	0 (0)	1 (2,3)	
HLA x/12, n (%)			
5/6	3 (6,8)	3 (6,8)	
9	8 (18,2)	8 (18,2)	
10	31 (70,5)	31 (70,5)	
12	2 (4,5)	2 (4,5)	
Häufigste Konditionierungstherapie, n (%)			
Fludarabin, Treosulfan, Thiotepa, ATG	17 (38,6)	13 (29,5)	
TBI, Etoposid, ATG	6 (13,6)	5 (11,3)	
Konditionierungsregime, welches Serotherapie enthält (z.B. ATG oder Alemtuzumab), n (%)			
	40 (90,9)	36 (81,8)	
Immunsuppression mit Ciclosporin A, n (%)	41 (93,1)	40 (90,9)	

^a=Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-, McNemar-, Mann-Whitney U- oder Fischers exakter Test abhängig vom Datentyp und dem Matching, ^b=Median [Spannweite], ^y=bestmögliches Matching innerhalb der Möglichkeiten, ICF-Syndrom: Immundefizienz-Zentromerinstabilität-faziale Anomalien-Syndrom, IPEX-Syndrom: X-chromosomales Immundysregulation-Polyendokrinopathie-Enteropathie-Syndrom, SCID: schwerer kombinierter Immundefekt, STK4-Defekt: kombinierter Immundefekt durch STK4 Mangel, X-ALD: X-chromosomale Adrenoleukodystrophie, ATG: Antithymozytenglobulin, TBI: Ganzkörperbestrahlung

3.2 RTX bezogene Daten und Ansprechen auf die RTX-Therapie

Die Mehrheit der RTX-PatientInnen erhielt die erste Dosis RTX vor dem Tag +100 (36 (82%)) und nur einen Zyklus von RTX (39 (88,6%)). Die erste RTX-Gabe in der RTX-Gruppe erfolgte dabei signifikant früher als der 1. EBV-Peak in der Kontrollgruppe (**Abbildung 10**). Ein RTX-Zyklus wurde als beendet definiert, wenn innerhalb von vier Wochen nach dem letzten RTX keine erneute RTX-Gabe erfolgte. Die Indikation für das Initiieren eines RTX-Zyklus waren EBV-Infektion/Reaktivierung für 41 (84%) der PatientInnen, AIHD für vier (8%) der PatientInnen, Behandlung der Grunderkrankung/Konditionierung vor der HSZT für drei (2,3%) der PatientInnen und Behandlung einer Immunezephalitis nach HSZT für eine (2%) PatientIn. Die meisten PatientInnen (90,9%) erhielten eine bis vier RTX-Dosen. Ein Überblick zu jeder PatientIn bezüglich erhaltener RTX- & Ig-Gaben, der Daten über die primären Endpunkte der Immunrestitution wie B-Zell- und IgG-Erhölung, das Auftreten von Drop-out Ereignissen sowie die Länge des Beobachtungszeitraumes ist in der **Abbildung 11** dargestellt. Weitere Charakteristika der RTX-Gruppe und Daten über das Ansprechen der RTX-Therapie sind in **Tabelle 3** dargestellt.

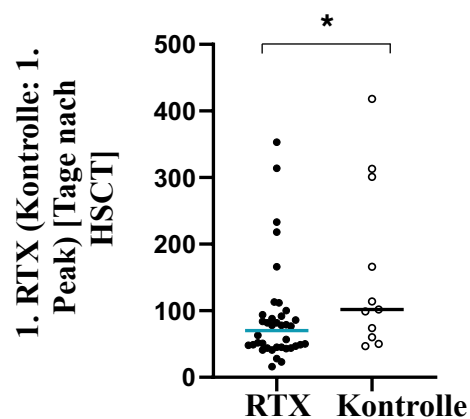


Abbildung 10: Übersicht über die Zeitpunkte der 1. RTX-Gabe in der RTX-Gruppe beziehungsweise des 1. EBV-Peaks in der Kontroll-Gruppe, p=0,029

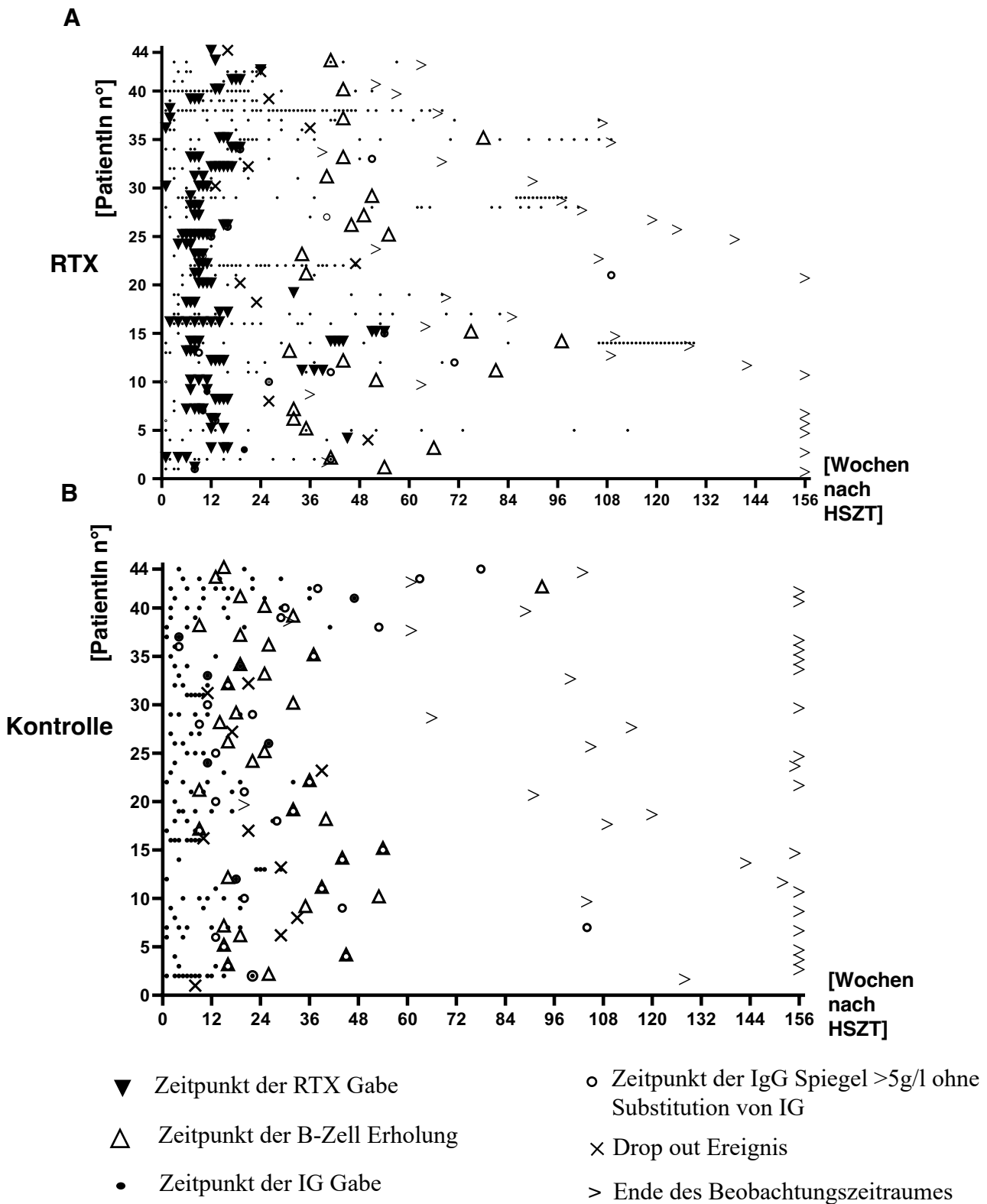


Abbildung 11: Übersicht über die Verabreichung von RTX, den Beobachtungszeitraum, die Drop-out Ereignisse und die primären Endpunkte für jeden einzelnen Patienten. (A,B) Patientenindividuelle Darstellung der Verabreichung von Rituximab, B-Zell-Erholung, Ig-Substitution, Erreich von IgG-Spiegeln >5g/l im Blut unabhängig von der Ig-Substitution, Drop-out und Ende des Beobachtungszeitraums für RTX bzw. Kontrollgruppe. IG: Immunglobulin

Tabelle 3 - RTX assoziierte Daten und Therapieansprechen

Charakteristika	RTX-Gruppe	Kontroll-Gruppe	p-Wert ^a
Zeitpunkt der ersten RTX-Gabe [Tage] ^b	55 (-29 to +353)	-	
Anzahl an PatientInnen mit einem Beobachtungszeitraum >365 Tage nach letztem RTX, n (%)	24 (54,5)	31 (70,5)	
Anzahl der RTX-Zyklen, n (%) ^d			
1	39 (88,6)	0 (0)	
2	5 (11,4)	0 (0)	
Indikation der RTX-Therapie, n (%)			
EBV Reaktivierung	41 (83,6)	0 (0)	
Autoimmune hämatologische Erkrankung (AIHD)	4 (9,1)	0 (0)	
Konditionierung/Behandlung	2 (4,5)	0 (0)	
Konditionierung/AIHD	1 (2,3)	0 (0)	
Immunezephalitis	1 (2,3)	0 (0)	
Anzahl der EBV Episoden, n (%) ^e			
0	6 (13,6)	33 (75)	0,00002
1	34 (77,3)	10 (22,7)	
2	2 (4,5)	0 (0)	
3	1 (2,3)	0 (0)	
4	1 (2,3)	0 (0)	
5	0 (0)	1 (2,3)	
Maximale EBV Viruslast [Kopien/ml Blut] ^b	22600 (1530 - 3100000)	4055 (1860 - 19100)	0,005
Anzahl der PatientInnen mit einer EBV-Last <2000 Kopien/ml 28 Tage nach dem 1. RTX (Kontrolle: 1. EBV-Peak)	36 (94,7) (n=38)	11 (100) (n=11)	
Zeit bis zum Absinken der EBV-Viruslast unter <50% des Wertes zum Zeitpunkt der 1. RTX-Dosis (Kontrolle: 1. EBV-Peak) [Tage] ^b	2 (0 - 42)	4 (2 - 7)	0,027
Start der RTX-Therapie (Kontrolle: 1. EBV-Peak) bei einer EBV-Last <10000 Kopien/ml, n (%)	14 (36,8) (n=38)	7 (63,6) (n=11)	
Start der RTX-Therapie (Kontrolle: 1. EBV-Peak) bei einer EBV-Last <10000 Kopien/ml in PatientInnen mit einer systemischen Steroidtherapie, n (%)	10 (52,6) (n=19)	3 (75) (n=4)	

Fortsetzung Tabelle 3

Charakteristika	RTX-Gruppe	Kontroll-Gruppe	p-Wert ^a
Start der RTX-Therapie (Kontrolle: 1. EBV-Peak) bei einer EBV-Last <3000 Kopien/ml, n (%)	5 (13,2) (n=38)	2 (18,2) (n=11)	
Zeitpunkt des 1. RTX als EBV-Behandlung / 1.Peak des EBV-Blutspiegels in der Kontroll-Gruppe [Tage nach HSZT] ^b	70 (23 - 314)	102 (47 - 418)	0,029
Gesamtanzahl an RTX-Dosen, n (%)			
1	10 (22,7)	0 (0)	
2	9 (20,5)	0 (0)	
3	14 (31,8)	0 (0)	
4	7 (15,9)	0 (0)	
6	1 (2,3)	0 (0)	
7	2 (4,5)	0 (0)	
8	1 (2,3)	0 (0)	
EBV Serostatus (EmpfängerIn/SpenderIn), n (%)			
Pos/pos	29 (65,9)	21 (47,7)	
Pos/neg	3 (6,8)	4 (9,1)	
Neg/pos	6 (13,6)	7 (15,9)	
Neg/neg	0 (0)	5 (11,4)	
Pos/fehlend	2 (4,5)	1 (2,3)	
Neg/fehlend	1 (2,3)	0 (0)	
Fehlend/pos	2 (4,5)	4 (9,1)	
Fehlend/Fehlend	1 (2,3)	2 (4,5)	
Wenigstens einer positiv	42 (95,5)	37 (84)	0,18

^a=Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-, McNemar-, Mann-Whitney U- oder Fischers exakter Test abhängig vom Datentyp und dem Matching, ^b=Median [Spannweite], ^d=ein Zyklus wiederholter Gaben von RTX wurde als abgeschlossen definiert, wenn RTX für ≥ 28 Tage nicht verabreicht wurde, ^c=eine Episode wurde als kontinuierliche EBV-Viruslast von 2000 Kopien/ml Blut bei Reihemessungen definiert

EBV: Epstein Barr Virus, ml: Milliliter, pos: positiv, neg: negativ

Im Vergleich zu der Kontroll-Gruppe gab es signifikant mehr PatientInnen aus der RTX-Gruppe mit einer oder mehrerer EBV-Infektionen/Reaktivierungen (38 (86,4%) versus 11 (25%), $p=0,00002$) und diese zeigten zudem eine signifikant höhere maximale EBV-Virenlast ($p=0,005$) (**Tabelle 3**). Bezüglich des Serostatus vor der HSZT zeigte der Vergleich der Summen von wenigstens einer EBV positiven PatientIn (entweder SpenderIn oder EmpfängerIn) keinen signifikanten Vergleich zwischen den zwei Gruppen. Dies weist darauf hin, dass der EBV Serostatus kein Risikofaktor für das Entwickeln einer mit RTX behandlungsbedürftigen EBV-Infektion darstellt. Indes gab es keinen doppelt negativen Fall in der RTX-Gruppe, jedoch fünf Fälle in der Kontroll-Gruppe. Dies weist darauf hin, dass EBV seropositive Konstellationen eine EBV-Reaktivierung begünstigen (**Tabelle 3**).

Wenn man die EBV-Viruslast im Blut der PatientInnen vor und nach der Therapie mit RTX vergleicht, konnte bestätigt werden, dass RTX ein sehr effektives Medikament gegen eine EBV-Infektion darstellt (Kim et al., 2019, Worth et al., 2011). Für diese Analyse wurden nur PatientInnen inkludiert, die kein RTX für eine andere Indikation vorher bekommen hatten (RTX $n=38$ und Kontrolle $n=11$). Die Antwortrate auf RTX betrug dabei 95% (**Abbildung 12**). Ein individueller Überblick über die EBV-Viruslast der beiden Gruppen sind in **Abbildung 13** und **Abbildung 14** dargestellt.

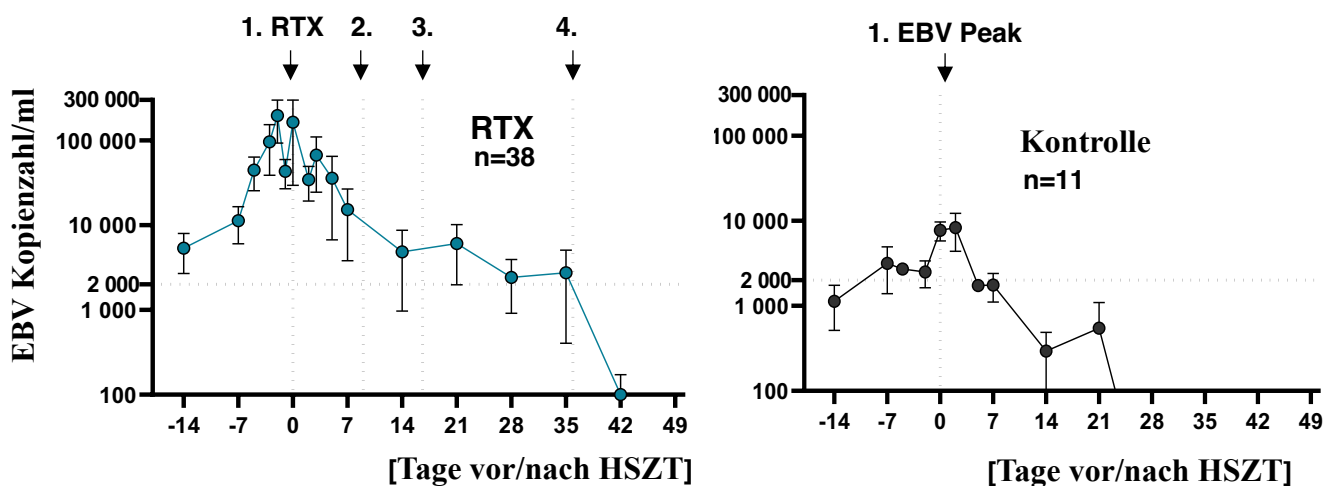


Abbildung 12: RTX-Behandlung wirkt bei Patienten mit hoher EBV-Viruslast nach HSZT, aber der Grenzwert der Viruslast für den Beginn der RTX-Behandlung ist unbekannt. EBV-Kopienzahl/ml EDTA-Blutentwicklung im Laufe der Zeit bei EBV-infizierten PatientInnen ($n = 38$) in der RTX-Gruppe und der Kontrollgruppe ($n = 11$), basierend auf dem Datum der ersten RTX-Dosis oder dem Datum des ersten Peaks in der Kontrollgruppe. Mediane Zeitpunkte für die 2., 3. und 4. Dosis von RTX wurden in der RTX-Gruppe durch gestrichelte Linien markiert.

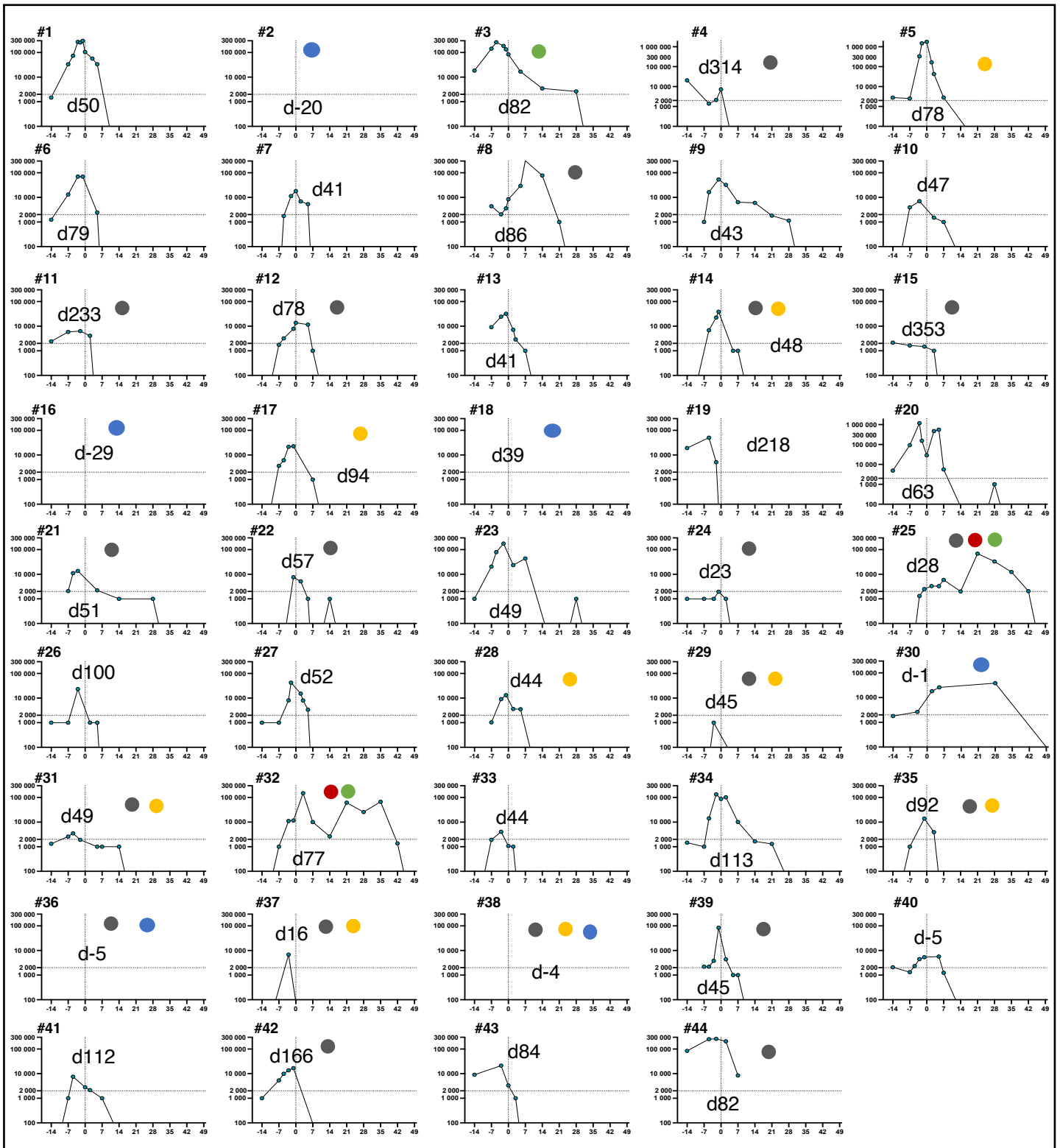


Abbildung 13: Patientenindividuelle EBV-Viruslast nach HSZT für die RTX-Gruppe.

EBV-Kopienzahl/ml EDTA-Blut Entwicklung über die Zeit in Tagen bei allen einzelnen PatientInnen aus der RTX-Gruppe relativ zum Tag der Verabreichung des ersten Rituximab (x=0). d() in jeder Grafik = Tag des ersten Rituximab, welcher in Relation zum Tag der HSZT steht. Blaue Punkte markieren PatientInnen ohne EBV-Reaktivierung bzw. vorheriger anderer Indikation für RTX. Dunkelgraue Punkte markieren PatientInnen, die vor der ersten RTX-Dosis eine systemische Steroidbehandlung erhielten. Gelbe Punkte markieren PatientInnen, die der Subgruppe der PatientInnen mit anhaltender B-Zell-Schädigung zugeordnet wurden. Rote Punkte markieren RTX-Non-Responder. Grüne Punkte markieren PatientInnen mit PTLD.

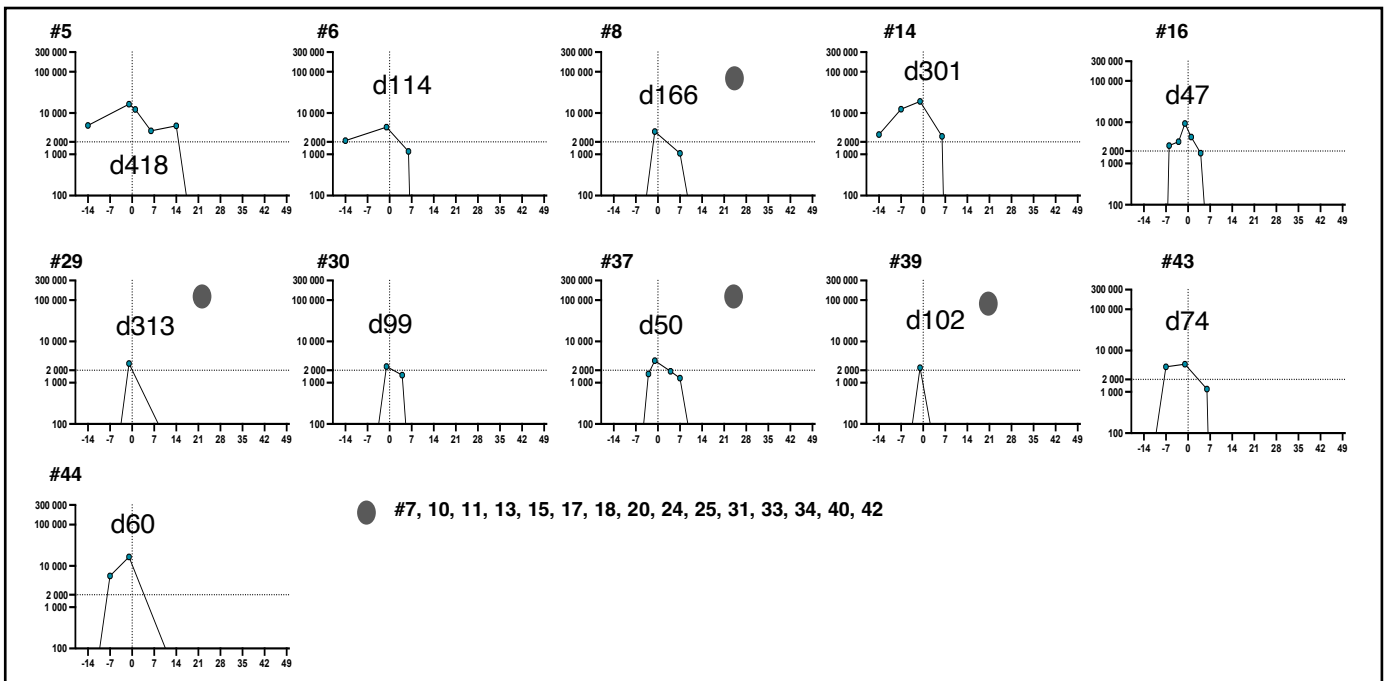


Abbildung 14: Patientenindividuelle EBV-Viruslast nach HSZT für die Kontroll-Gruppe. Entwicklung der EBV-Kopienzahl/ml EDTA-Blut über die Zeit relativ zum Tag des ersten EBV-Peaks, welcher in Relation zum Tag nach HSZT steht, bei allen einzelnen PatientInnen der Kontrollgruppe, die eine EBV-Infektion/Reaktivierung hatten. Dunkelgraue Punkte markieren PatientInnen, die vor der ersten RTX-Dosis bei der entsprechenden gematchten PatientIn eine systemische Steroidbehandlung erhielten.

Es wurden nur zwei PatientInnen (5%) identifiziert, die nicht ausreichend auf die RTX-Therapie angesprochen hatten, sodass deren EBV-Viruslast im Blut innerhalb von 28 Tagen nach RTX-Therapie nicht unter 2000 Kopien/ml sank. Diese beiden PatientInnen entwickelten im Verlauf beide eine PTLD und erhielten jeweils sechs und acht wöchentliche Dosen von RTX bis die EBV-Viruslast schließlich abnahm. PatientInnen aus der Kontroll-Gruppe, die ebenfalls eine EBV-Reaktivierung/Infektion nach HSZT entwickelten, zeigten eine ähnlich schnelle Abnahme der Viruslast auf ein Niveau unter 2000 Kopien/ml ohne den Einsatz von RTX, jedoch war die maximale Viruslast im Blut bei den KontrollpatientInnen auch insgesamt signifikant niedriger, wie es in **Tabelle 3** und in **Abbildung 15** gezeigt ist.

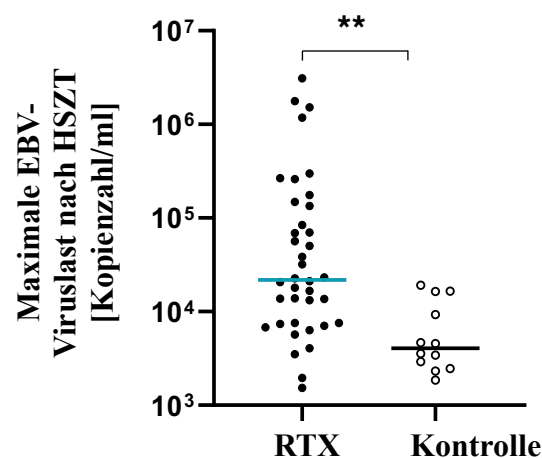


Abbildung 15: Maximale EBV-Last nach einer HSZT in Kopienzahl/ml EDTA-Blut bezogen auf die RTX- und Kontrollgruppe, p=0,005.

Die mediane Zeit bis die Viruslast auf 50% von dem Wert zum Zeitpunkt der ersten RTX-Gabe (beziehungsweise erster EBV-Peak in der Kontroll-Gruppe) gesunken ist, war signifikant kürzer in der RTX-Gruppe (2 Tage Spannweite 0-42 Tage) im Vergleich zur Kontroll-Gruppe (4 Tage Spannweite 2-7 Tage). Dies bestätigt ebenfalls die Effektivität von RTX bei hoher EBV-Viruslast (**Abbildung 16**).

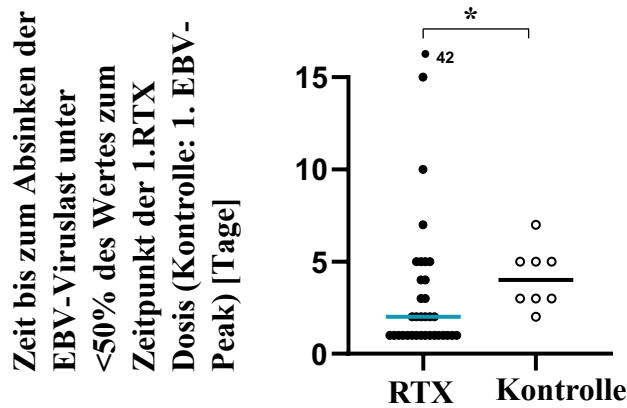


Abbildung 16: RTX-Ansprechen im Vergleich zum ersten EBV-Peak in der Kontrollgruppe, $p=0,024$.

Die EBV-Viruslast, bei der eine RTX-Therapie initiiert wurde, war sehr variabel und reichte im Median von 13550-13700 Kopien/ml an Tag -1 und Tag 0 mit einer Spannweite von 0-1.770.000 Kopien/ml. Für 14 (37%) PatientInnen wurde eine RTX-Therapie bei einer EBV-Viruslast von <10000 Kopien/ml initiiert und für fünf (13%) von denen schon ab einer Viruslast von <3000 Kopien/ml. Bei 3 Patienten (6,8%) konnte ein früher RTX-Einsatz (<10.000 Kopien/ml) einen weiteren Anstieg der EBV-Kopienzahl und die Entwicklung von PTLD nicht verhindern. Dies war eine EBV-Viruslast, die in der Kontroll-Gruppe toleriert und konservativ behandelt wurde (Abbildung 17).

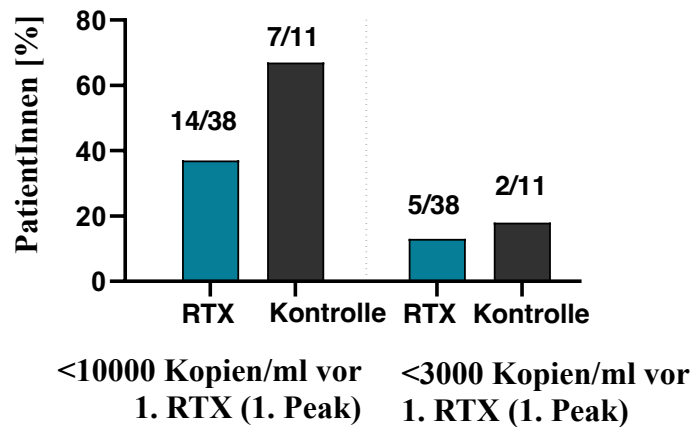


Abbildung 17: RTX-Behandlungsbeginn bei niedrigen EBV-Kopienzahlen im Blut.

3.3 Einfluss von RTX auf die Immunrestitution (primäre Endpunkte)

Die vorliegenden Daten zeigen eindeutig, dass eine RTX-Behandlung nach pädiatrischer HSZT einen behindernden Einfluss auf die B-Zell Immunrestitution/Erholung mit signifikanten Unterschieden in allen primären Endpunkten verglichen zur Kontroll-Gruppe hat (**Tabelle 4**).

Tabelle 4 – RTX-Einfluss auf die Immunrestitution

Charakteristika	RTX-Gruppe	Kontroll-Gruppe	p-Wert ^a
B-Zellzahl an Tag 365 [/ nl] ^b	0,235 (0 - 1,25)	0,52 (0,11 - 2,02)	0,0003
B-Zell zu T-Zell Verhältnis an Tag 365 ^b	0,17 (0 - 1,11)	0,4 (0 - 0,98)	0,0005
Zeitpunkt der B-Zell-Erholung [Tag nach HSZT] ^b	282 (43 - 716)	120 (36 - 645)	<0,0001
Zeit bis zur B-Zell-Erholung nach dem letzten RTX (Kontrolle: RTX äquivalenter Zeitpunkt) [Tage] ^b	211 (13 - 658)	37 (0 - 479)	<0,0001
B-Zellzahl <0,01/ nl an Tag 365, n (%)	4 (9,1)	0 (0)	
IgG Serum Level an Tag 365 [g/l] ^b	6,16 (1,34 - 13,96)	9,06 (3,2 - 21,9)	0,03
IgM Serum Level an Tag 365 [g/l] ^b	0,48 (0,07 - 1,7)	0,81 (0,16 - 3,56)	0,0002
IgM Serum Level an Tag 730 [g/l] ^b	0,6 (0,2 - 1,1)	0,9 (0,3 - 2,7)	0,01
Anzahl der PatientInnen mit IVIG-Substitution, n (%)	41 (93,2)	39 (88,6)	
Zeitpunkt der letzten IVIG Substitution [Tag nach HSZT] ^b	254 (0 - 1095)	109 (0 - 324)	<0,0001
Kumulative IVIG Dosis [g/kgKG] ^b	2,57 (0 - 28,05)	1,04 (0 - 11,33)	0,002
Vor dem ersten RTX	0,57 (0 - 4,61)	0,46 (0 - 3,59)	0,054
Nach dem ersten RTX	1,66 (0 - 26,85)	0,42 (0 - 11,33)	0,002
Anzahl der PatientInnen, die mehr als 0,5g/kgKG IgG nach dem ersten RTX bekommen haben, n (%)	27 (61,4)	19 (43,2)	0,152
Zeitpunkt des IgG Levels >5g/l ohne Substitution [Tag nach HSZT] ^b	278 (4 - 1095)	118 (4 - 722)	0,002

Fortsetzung Tabelle 4

Charakteristika	RTX-Gruppe	Kontroll-Gruppe	p-Wert^a
Tetanustoxoid IgG 2 Jahre nach HSZT ^{b,f}	1,1 (0,08 - 5,87) (n=32) ^f	1,4 (0,3 - 9,5) (n=33) ^f	0,22
Pneumokokkenkapsel Polysaccharid IgG1 2 Jahre nach HSZT [IU/ml] ^{b,f}	34 (5 - 102) (n=26) ^f	42 (7 - 172) (n=22) ^f	0,09
Pneumokokkenkapsel Polysaccharid IgG2 2 Jahre nach HSZT [IU/ml] ^{b,f}	7,9 (2,5 - 36,2) (n=26) ^f	11 (2,3 - 83,1) (n=23) ^f	0,21
Erstmalig neutrophile Granulozyten >500/ μ l [Tag nach HSZT] ^b	17 (9 - 38)	19 (8 - 40)	0,22
Erstmalig neutrophile Granulozyten >1000/ μ l [Tag nach HSZT] ^b	19 (9 - 79)	22 (9 - 292)	0,25
Erster Zeitpunkt der Thrombozyten >50000/ μ l ohne Transfusion [Tag nach HSZT] ^b	49 (11-600)	26 (5-451)	0,03
Lymphozytenzahl an Tag 365 [/nl] ^b	2,17 (0,48 - 5,79)	2,21 (0,9 - 6,37)	0,75
CD3+ Zellzahl an Tag 365 [/nl] ^b	1,73 (0,39 - 5,09)	1,51 (0,43 - 5,66)	0,58
CD4+ Zellzahl an Tag 365 [/nl] ^b	0,46 (0,17 - 2,24)	0,75 (0,13 - 1,21)	0,05
CD8+ Zellzahl an Tag 365 [/nl] ^b	1,06 (0,14 - 4,34)	0,49 (0,12 - 4,47)	0,14
Gesamtchimärismus an Tag 365 [%] ^b	100 (32 - 100)	100 (15 - 100)	0,25
CD34 Chimärismus an Tag 365 [%] ^b	100 (30 - 100)	100 (25 - 100)	0,27

^a=Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-, McNemar-, Mann-Whitney U- oder Fischers exakter Test abhängig vom Datentyp und dem Matching, ^b=Median [Spannweite], ^f=n exkludiert alle PatientInnen mit Dropout-Events aber schließt alle verfügbaren Daten bis zum 20. Januar 2022 ein (auch wenn die Daten außerhalb des Beobachtungszeitraum liegen), nl: Nanoliter, μ l: Mikroliter, IVIG: intravenöse Immunglobuline, KG: Körpergewicht, IgG: Immunglobulin G

Die B-Zell-Erholung wurde durch die RTX-Behandlung mit signifikant niedrigeren B-Zellzahlen und einem niedrigeren B-Zell zu T-Zell-Verhältnis an Tag +365 sowie einem verzögerten Zeitpunkt der B-Zell-Erholung in der RTX-Gruppe signifikant beeinflusst (**Abbildung 18**). Während 97 % der PatientInnen in der Kontroll-Gruppe, die vorher kein Drop-out Ereignis hatten, eine B-Zell-Rekonstitution (B-Zellzahlen höher als das untere Ende des altersabhängigen Normalbereichs) innerhalb von 365 Tagen nach HSZT erreichten, konnten nur 66,7 % PatientInnen aus der RTX-Gruppe dieses Ziel erreichen. Nach einem weiteren Jahr erreichten PatientInnen in der RTX-Gruppe, die so lange überwacht wurden, im Vergleich zu PatientInnen in der Kontroll-Gruppe ähnliche B-Zell-Spiegel. Die Differenz der medianen Zeitpunkte der B-Zell-Erholung nach HSZT betrug 162 Tage (RTX-Tag 282 (43–716) vs. Kontrolle Tag 120 (36–645)) mit einer Hazard Ratio von 2,2, $p=0,008$. Die Differenzen der Mediane der B-Zell-Erholung nach der letzten RTX-Dosis und dem äquivalenten Zeitpunkt für die gematchten Kontroll-Fälle betrug 174 Tage (RTX 211 Tage (13-658) versus Kontrolle 37 Tage (0-479)).

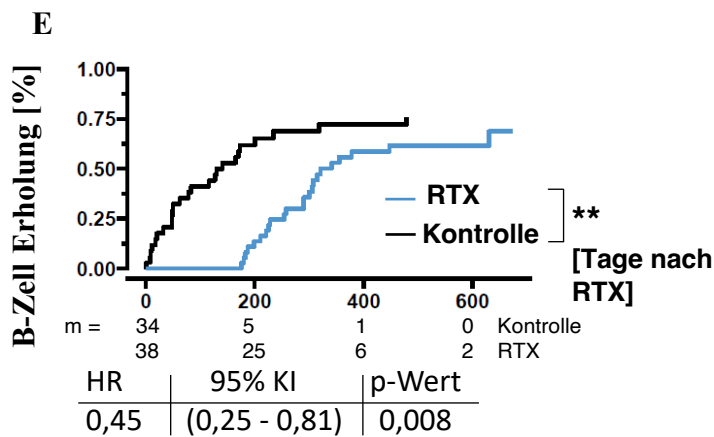
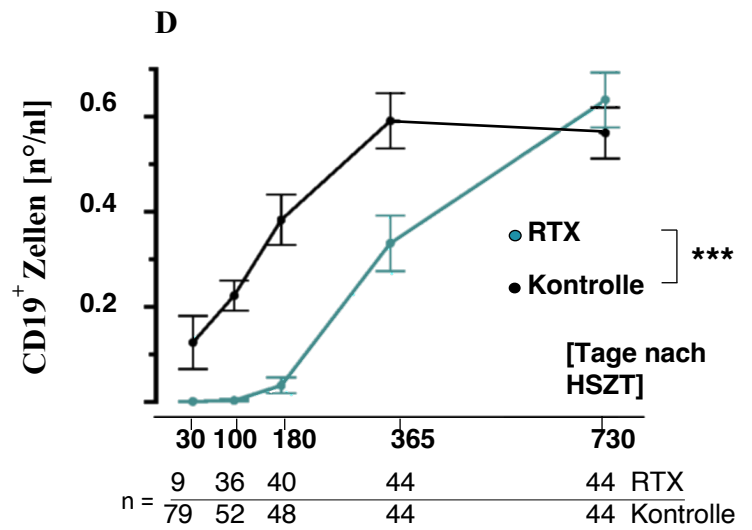
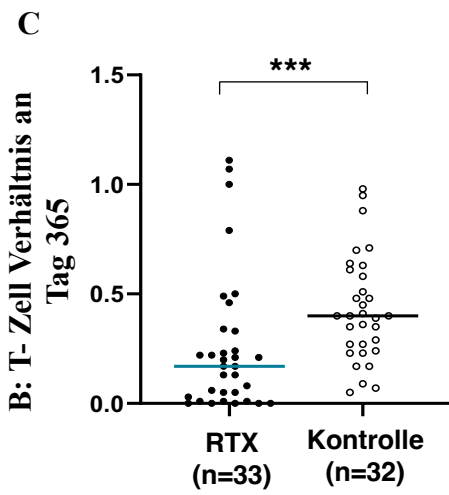
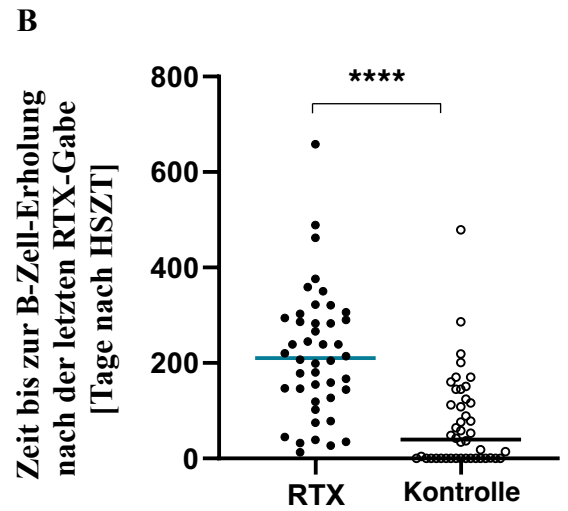
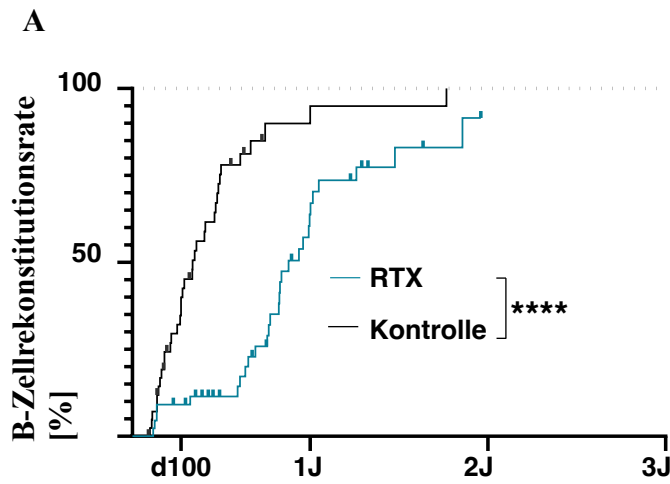


Abbildung 18: Die Erholung der B-Zellen wird durch die Behandlung mit RTX nach einer HSZT behindert. (A) Umgekehrte Kaplan-Meier-Kurve, die den Anteil der PatientInnen zeigt, die eine B-Zell-Rekonstitution zu einem spezifischen Zeitpunkt erreicht haben, **p<0,0001**. **(B)** Vergleich der Zeit bis zur Rekonstitution der B-Zellen nach Gabe der letzten RTX-Dosis in der RTX-Gruppe und der Zeit bis zur Rekonstitution der B-Zellen in der Kontroll-Gruppe nach einem Zeitpunkt, der mit dem Zeitpunkt der letzten RTX-Dosis für jede einzelne gematchte PatientIn der RTX-Gruppe identisch ist. Die Daten werden als EinzelpatientInnenwerte und als Medianwerte gezeigt, **p<0,0001**. **(C)** Vergleich des Verhältnisses von B- zu T-Zellen an Tag 365 nach HSZT zwischen RTX- und Kontrollgruppe, dargestellt als Einzelwerte und Median, **p<0,001**. **(D)** B-Zell-Rekonstitution (CD19+) im Zeitverlauf nach HSZT für RTX- und Kontrollgruppe, gezeigt als Mixed Model inklusive Treatment-Switching und Matching mit Mittelwert und Standardfehler des Mittelwerts pro Gruppe und Tag nach HSZT. „n“= Die PatientInnen wurden je nach Beginn der RTX-Therapie für jeden Zeitverlauf entweder der RTX- oder der Kontrollgruppe zugeteilt, **p<0,001**. **(E)** Analyse des konkurrierenden Risikos nach Fine und Grey: Kurve, die den Anteil der PatientInnen zeigt, die zu einem bestimmten Zeitpunkt nach Beginn der RTX-Behandlung eine B-Zell-Erholung erreichten. „m“ beschreibt die Anzahl der PatientInnen, die den Endpunkt noch nicht erreicht hatten oder bei denen zum jeweiligen Zeitpunkt noch kein Drop-out Ereignis stattgefunden hatte, oder die noch nicht das Ende der Beobachtungszeit erreicht hatten, **p<0,01**. HR: hazard ratio, KI: Konfidenzintervall

Um den B-Zell-Schaden, der über die Wiederherstellung normaler B-Zellzahlen hinausgeht, weiter zu evaluieren, wurden außerdem die Ig-Spiegel und die Abhängigkeit von IVIG-Substitutionen analysiert. Bei IVIG-Substitution handelte es sich um eine prophylaktische Behandlung, zum Schutz vor Infektionen bei Ig-Mangel, die die meisten PatientInnen unabhängig von der Gruppenzuordnung (93 % vs. 89 %) nach der HSZT für eine gewisse Zeit erhielten. Es wurden dabei signifikant spätere Zeitpunkte des Erreichens von IgG-Spiegeln > 5 g/l ohne IVIG-Substitution (Median RTX Tag 278 (4 – 1095) versus Kontrolle Tag 118 (4 – 722), Hazard Ratio 4,2, $p < 0,001$) und signifikant spätere Zeitpunkte der letzten dokumentierten IVIG-Substitution (Median RTX Tag 254 (0 - 1095) gegenüber der Kontrolle Tag 109 (0 - 324), Hazard Ratio 6,25, $p < 0,001$) gefunden. Während die IgG-Erholung und die B-Zell-Erholung in der Kontroll-Gruppe sehr ähnlich war (118 Tage und 120 Tage), koinzidierten diese Zeitpunkte für die RTX-Gruppe ebenfalls, jedoch signifikant später (278 Tage und 282 Tage). Ähnliche Unterschiede zwischen den beiden Gruppen konnten auch für die IgG- und IgM-Spiegel an Tag 365 nach HSZT und die kumulative IVIG-Dosis festgestellt werden. Während die Unterschiede der B-Zellzahlen und der IgG-Spiegel zwischen der RTX- und der Kontroll-Gruppe bis zum Tag 730 verschwanden, war ein signifikanter Unterschied der IgM-Spiegel zwischen der RTX- und der Kontroll-Gruppe noch zwei Jahre nach der HSZT messbar. Dies kann als ein weiterer Beweis für eine anhaltende B-Zell-Schädigung nach RTX-Behandlung unabhängig von der B-Zell-Zahl angesehen werden, da die IgM-Blutspiegel weniger durch die IVIG-Substitution beeinflusst wurden als die IgG-Spiegel. Dass einige PatientInnen in der RTX-Gruppe selbst am Tag 730 immer noch auf eine IVIG-Substitution angewiesen waren, könnte einen Unterschied in den IgG-Spiegeln zwischen den beiden Gruppen maskieren (**Abbildung 19**). Es wurden keine Unterschiede bezüglich der Differenzierungen von Gesamt- und CD34+-Chimärismus festgestellt. (**Tabelle 4**). Schließlich wurde ein Vergleich der Tetanustoxid-IgG- und Pneumokokken-Kapselpolysaccharid-IgG1- und -2-Spiegel durchgeführt, die zwei Jahre nach der HSCT nach der Impfung der PatientInnen gemessen wurden, wobei hier keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen beobachtet wurden (**Tabelle 4**).

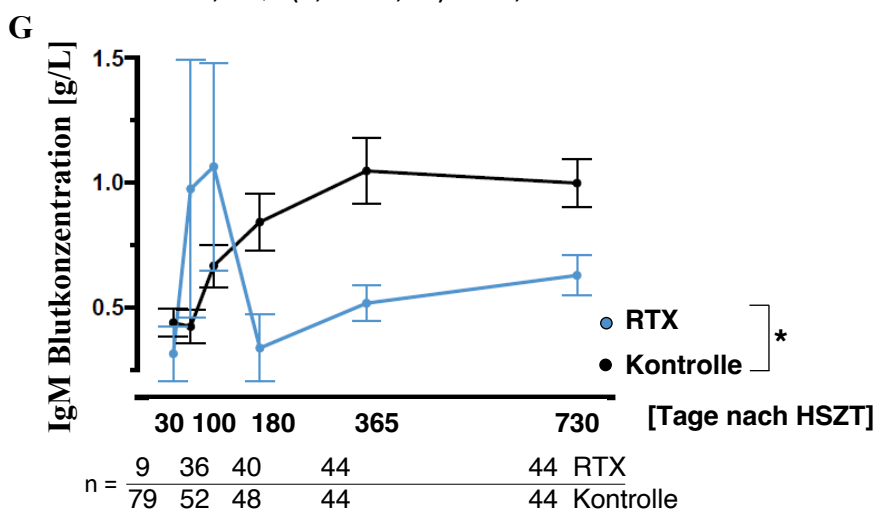
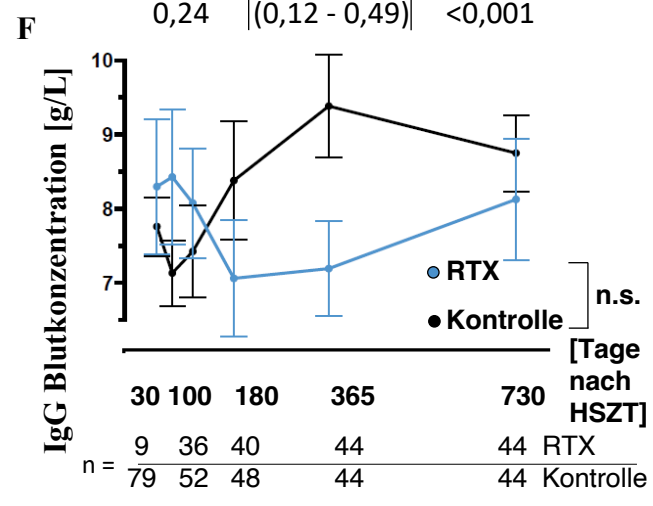
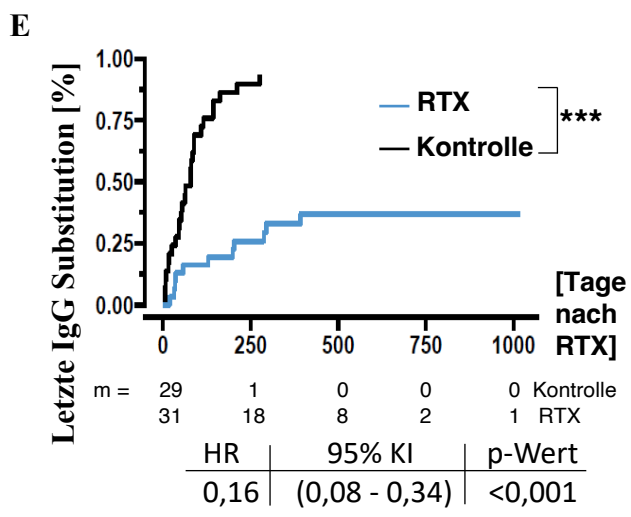
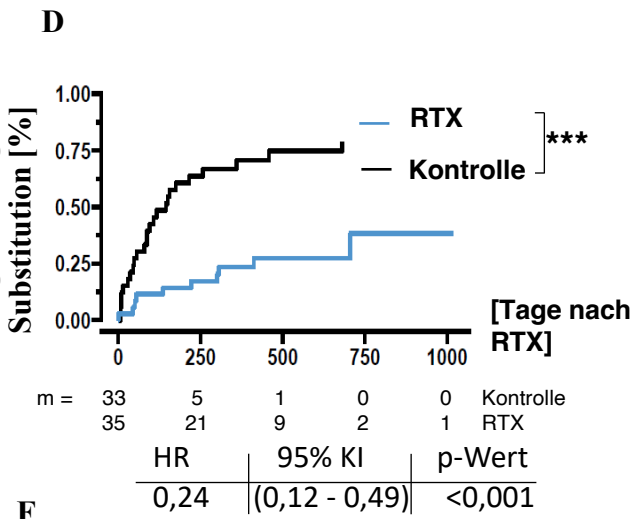
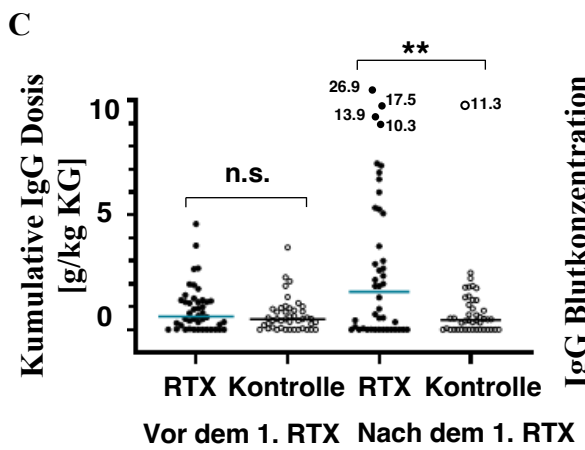
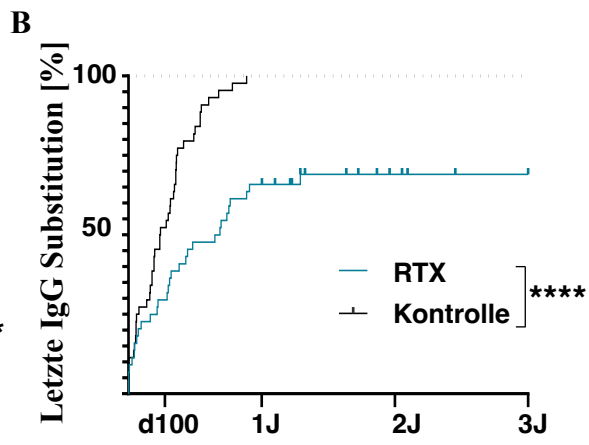
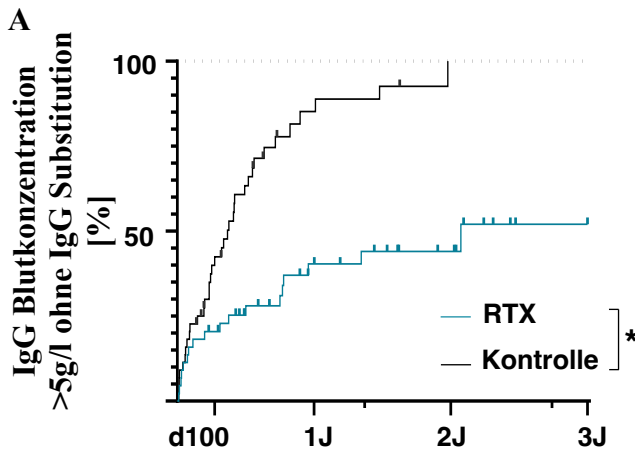


Abbildung 19: Die Funktion der B-Zellen wird durch die Behandlung mit RTX nach einer HSZT ebenfalls behindert. (A) Umgekehrte Kaplan-Meier-Kurve, die den Anteil der PatientInnen zeigt, die zu einem bestimmten Zeitpunkt eine IgG-Erholung (Blutkonzentration $>5\text{g/L}$ ohne Substitutionspflichtigkeit) erreichten, $p=0,002$. **(B)** Umgekehrte Kaplan-Meier-Kurve, die den Anteil der PatientInnen zeigt, die zu einem bestimmten Zeitpunkt die letzte IgG-Substitution erhielten, $p<0,0001$. **(C)** Gematchter Vergleich der kumulativen IgG-Dosen, die vor und nach Beginn der RTX-Behandlung in der RTX-Gruppe beziehungsweise vor und nach Beginn des äquivalenten Zeitpunktes der gematchten PatientInnen in der Kontrollgruppe gegeben wurden. Die Werte sind als Einzelwerte und Medianwerte dargestellt, $p=0,002$. **(D)** Analyse des konkurrierenden Risikos nach Fine und Grey: Kurve, die den Anteil der PatientInnen zeigt, die zu einem bestimmten Zeitpunkt nach Beginn der RTX-Behandlung eine IgG-Erholung (Blutkonzentration $>5\text{g/L}$ ohne Substitutionspflichtigkeit) erreichten. „m“ bezieht sich auf die Anzahl der PatientInnen, die den Endpunkt nicht erreichten oder bei denen sich zum jeweiligen Zeitpunkt noch kein Drop-out Ereignis oder kein Ende der Beobachtungszeit ereignete, $p<0,001$. **(E)** Analyse des konkurrierenden Risikos nach Fine und Grey: Kurve, die den Anteil der PatientInnen zeigt, die zu einem bestimmten Zeitpunkt nach Beginn der RTX-Behandlung keine IgG Substitution mehr erhielten. „m“ beschreibt die Anzahl der PatientInnen, die den Endpunkt noch nicht erreicht hatten oder bei denen zum jeweiligen Zeitpunkt noch kein Drop-out Ereignis stattgefunden hatte, oder die noch nicht das Ende der Beobachtungszeit erreicht hatten, $p<0,001$. **(F)** IgG-Werte im Zeitverlauf nach HSZT für RTX- und Kontrollgruppe, gezeigt als Mixed Model inklusive Treatment Switching und Matching mit Mittelwert und Standardfehler des Mittelwerts pro Gruppe und Tag nach HSZT. „n“= Die PatientInnen wurden je nach Beginn der RTX-Therapie für jeden Zeitpunkt entweder der RTX- oder der Kontrollgruppe zugeteilt, **nicht signifikant**. **(G)** IgM-Werte im Zeitverlauf nach HSZT für RTX- und Kontrollgruppe, dargestellt als Mixed Model inklusive Treatment Switching und Matching mit Mittelwert und Standardfehler des Mittelwerts pro Gruppe und Tag nach HSZT. „n“= Die PatientInnen wurden je nach Beginn der RTX-Therapie für jeden Zeitpunkt entweder der RTX- oder der Kontrollgruppe zugeteilt, $p<0,05$. *HR: hazard ratio, KI: Konfidenzintervall*

Interessanterweise wiesen RTX-Patienten nach der HSZT signifikant höhere T-Zellspiegel auf, insbesondere am Tag 720. Eine Subpopulationsanalyse zeigte, dass dies für CD8+, nicht aber für CD4+ T-Zellen galt (**Abbildung 20**).

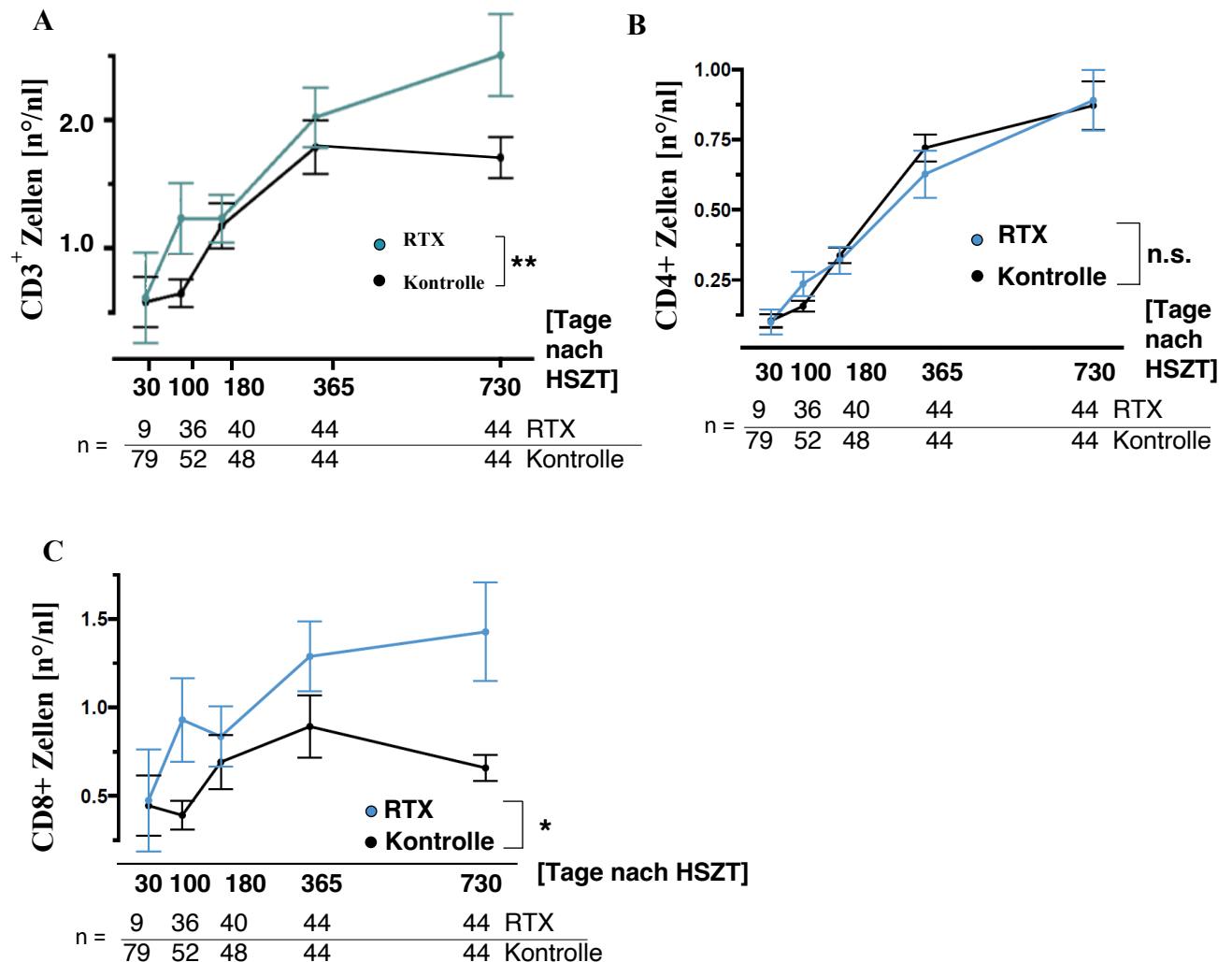


Abbildung 20: T-Zell Erholung wurde durch eine RTX-Therapie nicht beeinflusst. (A) Erholung der T-Zellen (CD3+) im Zeitverlauf nach HSZT für RTX- und Kontrollgruppe, gezeigt als Mixed Model inklusive Treatment Switching und Matching mit Mittelwert und Standardfehler des Mittelwerts pro Gruppe und Tag nach HSZT. „n“= Die PatientInnen wurden je nach Beginn der RTX-Therapie für jeden Zeitpunkt entweder der RTX- oder der Kontrollgruppe zugeteilt, **p=0,007**. **(B)** CD4+-Werte im Zeitverlauf nach HSZT für RTX- und Kontrollgruppe, gezeigt als Mixed Model inklusive Treatment Switching und Matching mit Mittelwert und Standardfehler des Mittelwerts pro Gruppe und Tag nach HSZT. „n“= Die PatientInnen wurden je nach Beginn der RTX-Therapie für jeden Zeitpunkt entweder der RTX- oder der Kontrollgruppe zugeteilt, **nicht**

signifikant. (C) CD8⁺-Werte im Zeitverlauf nach HSZT für RTX- und Kontrollgruppe, gezeigt als Mixed Model inklusive Treatment Switching und Matching mit Mittelwert und Standardfehler des Mittelwerts pro Gruppe und Tag nach HSZT. „n“= Die PatientInnen wurden je nach Beginn der RTX-Therapie für jeden Zeitpunkt entweder der RTX- oder der Kontrollgruppe zugeteilt, **p=0,022.**

Zusätzlich wurde die Frage nach einer Korrelation zwischen der Anzahl der erhaltenen RTX-Dosen oder dem Zeitpunkt der Gabe der 1. RTX-Dosis mit den primären Endpunkten (B-Zell-, IgG-Erhölung und Zeitpunkt der letzten Ig-Substitution) bewertet; es konnte jedoch keine Korrelationen gefunden werden. Darüber hinaus konnte auch keine Korrelation zwischen der maximal gemessenen EBV-Kopienzahl und dem Zeitpunkt der B-Zell-Erhölung oder dem Zeitpunkt der letzten IVIG-Substitution beobachtet werden (**Abbildung 21**).

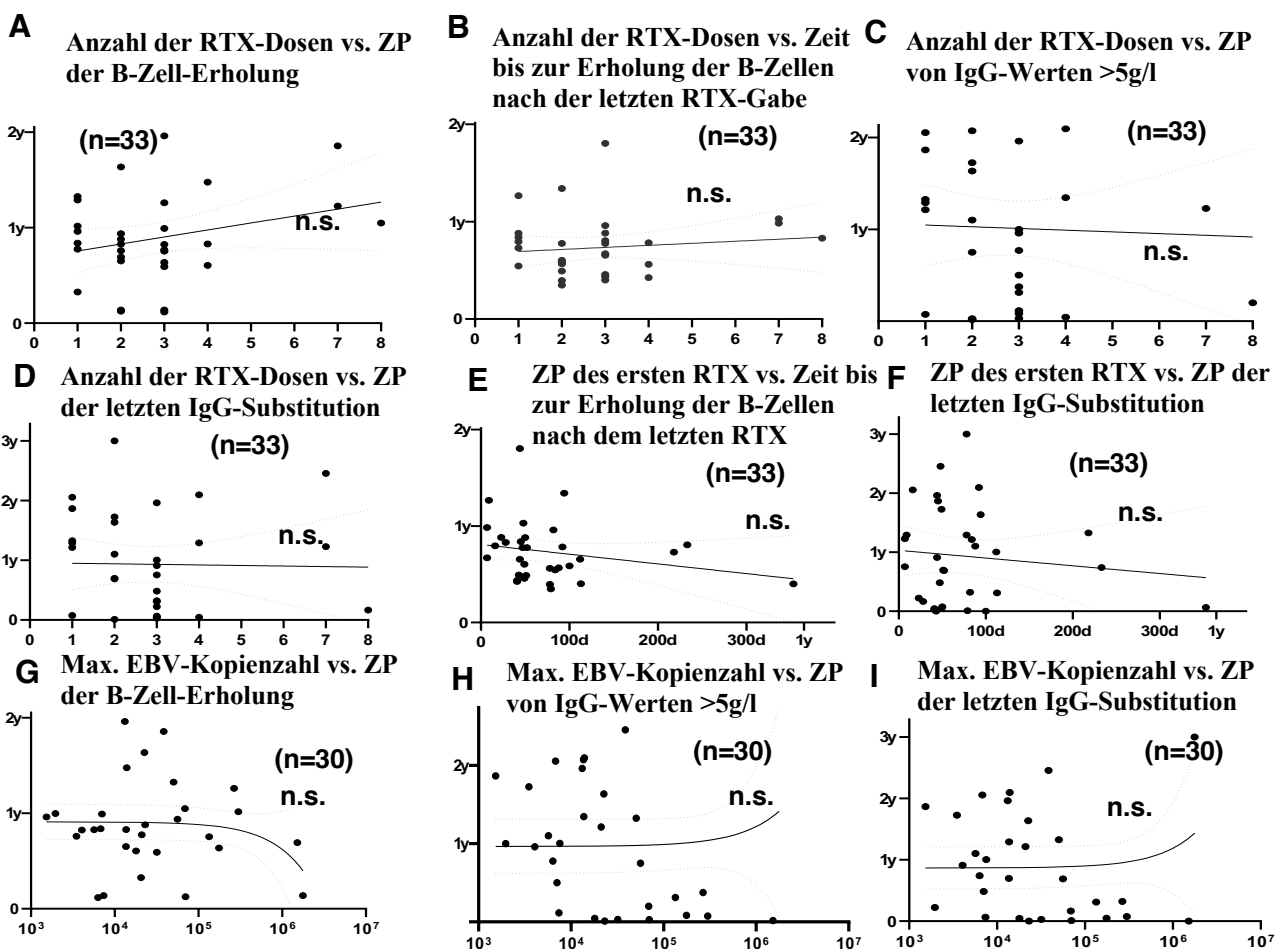


Abbildung 21: Die primären Endpunkte korrelieren nicht mit der Anzahl der erhaltenen RTX-Dosen, dem Zeitpunkt des Beginns der RTX-Behandlung oder der maximalen EBV-Viruslast. (A,B,C,D,E,F,G,H,I) Korrelationsanalyse nach Spearman für die Anzahl der erhaltenen RTX-Dosen (A,B,C,D), den Zeitpunkt der ersten RTX-Behandlung (E,F) und die maximal gemessene EBV-Kopienzahl im Blut (G,H, I) gegen unterschiedliche primäre Endpunkte (Zeitpunkt der B-Zell-Erholung, Zeit bis zur B-Zell-Erholung nach der letzten erhaltenen RTX-Dosis, Zeitpunkt des IgG-Spiegels >5g/l ohne IgG-Substitution und Zeitpunkt des letzten IgG). Jeder Punkt zeigt eine PatientIn aus der RTX-Gruppe. PatientInnen mit einem Drop-out-Ereignis vor Eintreffen des jeweiligen Endpunkts wurden aus der Analyse ausgeschlossen. RTX: Rituximab (Gruppe), EBV: Epstein Barr Virus, d()=Tag nach HSZT, y()=Jahr nach HSZT, ZP=Zeitpunkt, IgG=Immunglobulin G, n.s.=nicht signifikant

Im Einklang damit zeigte der Untergruppenvergleich zwischen EBV-positiven und EBV-negativen PatientInnen in beiden Gruppen keine relevanten Unterschiede bei den primären Endpunkten (Abbildung 22).

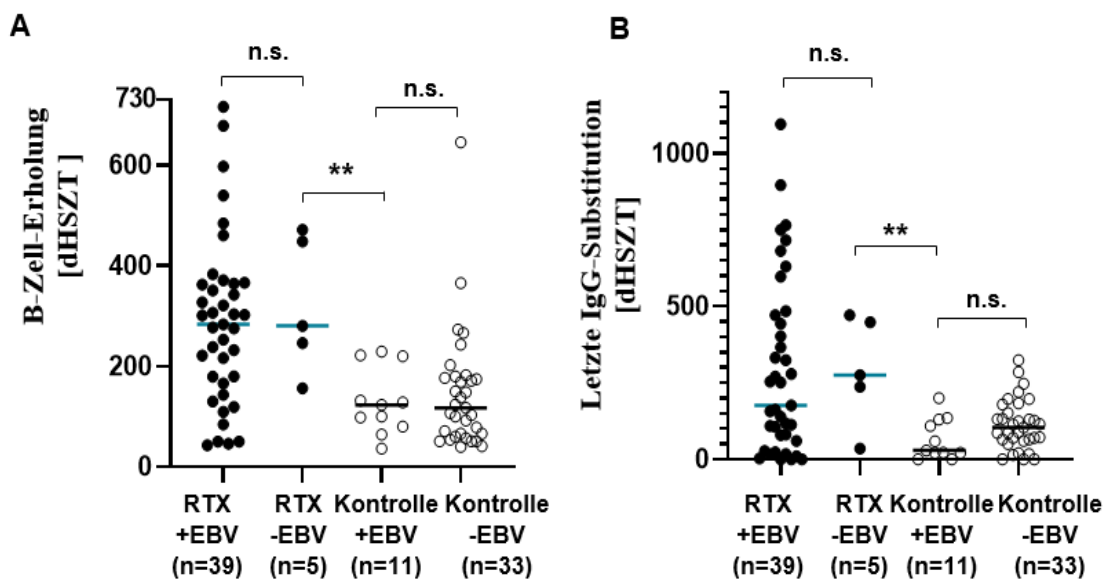


Abbildung 22: Vergleich der primären Endpunkte "Zeitpunkt der B-Zell-Erholung" und "Letzter Tag der IgG-Substitution" zwischen den Untergruppen der RTX- und Kontrollgruppe, die eine EBV-Infektion durchmachten oder nicht-durchmachten. (A,B) Es wurde gezeigt, dass eine EBV-Infektion weder in der RTX- noch in der Kontrollgruppe die B-Zell-Rekonstitution oder die Unabhängigkeit der Ig-Substitution signifikant verlängert. HSZT: Hämatopoetische Stammzelltransplantation, EBV: Epstein Barr Virus, RTX: Rituximab

*(Gruppe), Kontrolle: Kontrollgruppe, dHSZT: HSZT-Behandlungszeitpunkt (d0 = Tag der HSZT). Signifikanzniveaus: **: $p < 0,01$; n.s.: nicht signifikant*

Schließlich wurde in Bezug auf die hämatopoetische Rekonstitution festgestellt, dass die RTX-Gruppe signifikant mehr Zeit benötigte, um nach HSZT Thrombozytenzahlen von $> 50.000/\mu\text{l}$ unabhängig von Thrombozytentransfusionen zu erreichen (RTX-Median 49 Tage (11–600) versus 26,5 Tage (5–451 Tage)).

3.4 RTX bedingte sekundäre Komplikationen

Um weitere mögliche Quellen für Verzerrungen und sekundäre Komplikationen nach der RTX-Behandlung zu untersuchen, wurde eine explorative Analyse einer Reihe klinischer Parameter durchgeführt (Tabelle 5).

Tabelle 5: Sekundäre RTX bezogene Komplikationen

Charakteristika	RTX-Gruppe	Kontroll-Gruppe	p-Wert ^a
Anzahl der Rehospitalisierungen pro PatientIn ^{b,h}	2 (0 - 34)	1 (0 - 9)	0,64
Kumulative Dauer der Rehospitalisierungen nach HSZT, Tage ^{b,h}	20 (1 - 293)	9 (1 - 107)	0,0123
Vor erstem RTX	3 (2 - 293)	6 (1 - 22)	0,77
Nach erstem RTX	16 (1 - 141)	9 (1 - 107)	0,033
Anzahl der PatientInnen mit einer nicht-EBV viralen Infektion (>2000 Kopien/ml Blut), n (%)	28 (63,6)	16 (36,4)	0,008
Vor erstem RTX	23 (52,3)	15 (34,1)	0,08
Nach erstem RTX	9 (20,5)	5 (11,4)	0,22
Anzahl der PatientInnen mit einer ADV-Infektion (>2000 Kopien/ml Blut), n (%)	11 (25)	10 (22,7)	0,99
Anzahl der PatientInnen mit einer CMV-Infektion (>2000 Kopien/ml Blut), n (%)	14 (31,8)	7 (15,9)	0,14
Anzahl der PatientInnen mit einer HHV6 Infektion (>2000 Kopien/ml Blut), n (%)	0 (0)	0 (0)	0,99
Anzahl der PatientInnen mit einer BKV-Infektion (>2000 Kopien/ml Blut/Urin), n (%)	14 (31,8)	9 (20,5)	0,27
PatientInnen mit anderen antiviralen Medikamenten als RTX, n (%) ⁱ	25 (56,8)	14 (31,8)	0,024
Ganciclovir	14 (31,8)	7 (15,9)	
Valganciclovir	7 (15,9)	5 (11,4)	
Foscarnet	12 (27,2)	5 (11,4)	
Cidovovir	11 (25)	11 (25)	
Brincidovovir	4 (9,1)	0 (0)	
PatientInnen mit einer Initiation von anderen antiviralen Medikamenten als RTX, n (%) ⁱ			
Vor erstem RTX	18 (40,9)	7 (15,9)	0,003
Nach erstem RTX	14 (31,8)	10 (22,7)	0,39

Fortsetzung Tabelle 5

Charakteristika	RTX-Gruppe	Kontroll-Gruppe	p-Wert^a
Anzahl der Neutropenie Rezidive ^{b,j}	2 (0 - 19)	1 (0 - 8)	0,02
Vor erstem RTX	0 (0 - 5)	0 (0 - 4)	0,15
Nach erstem RTX	1 (0 - 17)	0 (0 - 8)	0,09
Anzahl der initiierten intravenösen antibiotischen Therapien ^b	3 (1 - 14)	1 (1 - 6)	0,0004
Vor erstem RTX	1 (0 - 5)	1 (0 - 3)	0,049
Nach erstem RTX	1 (0 - 11)	0 (0 - 6)	0,006
Anzahl der PatientInnen mit positiven bakteriellen Blutkulturen, n (%)	26 (59,1)	13 (29,55)	0,021
Vor erstem RTX	15 (34,1)	11 (25,0)	0,5
Nach erstem RTX	17 (38,6)	6 (13,64)	0,029
Anzahl der PatientInnen mit relevanter akuter GvHD, n (%) ^k	11 (25)	9 (20,5)	0,98
Anzahl der PatientInnen mit moderater bis schwerer chronischer GvHD nach HSZT, n (%)	5 (11,4)	0 (0)	0,025
Kumulative Anzahl der systemischen Steroid Therapien ^b	1 (0 - 7)	1 (0 - 4)	0,04
Vor erstem RTX	0 (0 - 3)	0 (0 - 3)	0,28
Nach erstem RTX	0 (0 - 5)	0 (0 - 3)	0,03
Anzahl der PatientInnen mit schweren unerwünschten Ereignissen, die überlebt wurden, n (%) ^g	6 (13,6)	2 (4,5)	0,29
Dauer der Hospitalisierung für die HSZT [Tage] ^b	61,5 (27 - 411)	59,5 (20 - 191)	0,27
Anzahl der PatientInnen mit einem Stammzellboost, n (%)	3 (6,8)	6 (13,6)	0,37
Anzahl der PatientInnen mit einer SpenderIn Lymphozyten Infusion, n (%)	6 (13,6)	9 (20,5)	0,55

Fortsetzung Tabelle 5

Charakteristika	RTX-Gruppe	Kontroll-Gruppe	p-Wert ^a
Anzahl der viralen Infektionen (ohne EBV) mit >2000 Kopien/ml pro PatientIn, n (%)			
0	16 (36,4)	28 (63,6)	
1	15 (34,1)	7 (15,9)	
2	11 (25)	5 (11,4)	
3	1 (2,3)	3 (6,8)	
4	0 (0)	1 (2,3)	
5	1 (2,3)	0 (0)	
Anzahl der PatientInnen mit PTLD, n (%)	3/38 (7,9)	0/11 (0)	
Anzahl der PatientInnen mit erhaltenen virus-spezifischen T Zellen, n (%)	9 (20,5)	4 (9)	0,23
Mittlere Dauer der erhöhten CRP-Blutkonzentrationen [Tage] ^b	20 (7 - 160)	23 (3 - 46)	0,9
Anzahl der PatientInnen mit systemischen antimykotischen Infusionen in therapeutischer Dosis, n (%)	15 (34,1)	19 (43,2)	0,52
Anzahl der systemischen Steroidtherapien nach HSZT pro PatientIn, n (%)			
0	16 (36,4)	22 (50)	0,04
1	11 (25)	15 (34,1)	
2	7 (15,9)	3 (6,8)	
3	6 (13,6)	1 (2,3)	
4	2 (4,5)	3 (6,8)	
5	1 (2,3)	0 (0)	
7	1 (2,3)	0 (0)	
Anzahl der PatientInnen mit extrakorporaler Photopherese, n (%)	10 (22,7)	6 (13,6)	0,45
Anzahl der PatientInnen mit einer Applikation von Vedulizumab, Basiliximab oder Infliximab, n (%)	6 (13,6)	4 (9,1)	0,72
Entwicklung einer VOD nach HSZT	9 (20,5)	7 (15,9)	0,8
Anzahl der Erythrozytenkonzentrate pro PatientIn ^b	9 (1 - 143)	6 (1 - 50)	0,17
Totale Menge an transfundierten Erythrozytenkonzentraten, n	720	445	

Fortsetzung Tabelle 5

Charakteristika	RTX-Gruppe	Kontroll-Gruppe	p-Wert^a
Anzahl der Thrombozytenkonzentrate pro PatientIn ^b	16 (1 - 177)	9 (0 - 109)	0,06
Totale Menge an transfundierten Thrombozytenkonzentrat, n	1212	730	

^a=Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-, McNemar-, Mann-Whitney U- oder Fischers exakter Test abhängig vom Datentyp und dem Matching, ^b=Median [Spannweite], ^c=orientiert sich an der CTCAE Grad 4

^b=Rehospitalisierungen ausschließlich für RTX Therapie wurden exkludiert, ⁱ=Aciclovir wurde aus dieser Analyse ausgeschlossen, da alle PatientInnen, unabhängig von der Studienkohorte, prophylaktisch Aciclovir erhielten, um eine Herpes-simplex-Infektion zu verhindern, ^j=nach mindestens 7 Tagen Neutrophilen-Regeneration (>1000/µl) sinken die Neutrophilen-Blutspiegel wieder auf <1000/µl (unabhängig von der Behandlung mit Granulozyten-Kolonie-stimulierendem Faktor), ^k=dazu gehören Episoden einer akuten GvHD, bei denen die PatientInnen eine systemische Therapie wie Steroide oder extrakorporale Photopherese erhalten haben,

EBV: Epstein Barr Virus, ADV: Adenovirus, CMV: Cytomegalievirus, HHV-6: humanes Herpesvirus 6, BKV: BK-Virus, GvHD: graft versus host Krankheit, PTLD: post transplantäre lymphoproliferative Erkrankung, CRP: c-reaktives Protein, VOD: venookklusive Erkrankung

Erstens wurden zunächst Daten zu schweren Ereignissen und Dauer und Häufigkeit von Krankenhausaufenthalten analysiert, um die RTX-induzierte Morbidität im Allgemeinen zu bewerten. Es gab 6 PatientInnen in der RTX-Gruppe mit mindestens einem überlebten CTCAE-Grad-4-Ereignis im Vergleich zu 2 in der Kontrollgruppe. Während keine Unterschiede in der Dauer des ersten Krankenhausaufenthalts für HSZT oder der Anzahl der erneuten Krankenhausaufenthalte beobachtet wurden, wurde eine signifikant höhere kumulative Dauer der erneuten Krankenhausaufenthalte in der RTX-Gruppe (Median 20 Tage (1-293) gegenüber 9 Tagen (1 – 107) festgestellt, was sich insbesondere nach, aber nicht vor Beginn der RTX-Therapie als signifikant herausstellte (Median vor: 3 versus. 6 Tage, nachher: 16 versus. 9 Tage), auch ohne Korrektur der kürzeren Gesamtbeobachtungsdauer in der RTX-Gruppe. Weiterhin wurden keine Unterschiede bei der Anzahl der PatientInnen gefunden, die Stammzellen-Boosts oder SpenderIn-Lymphozyten-Infusionen erhielten. Wie oben erläutert gab es 3 Fälle von PTLD in der RTX-Gruppe (gegenüber 0 in der Kontroll-Gruppe), die alle erfolgreich behandelt werden konnten.

Zweitens wurde eine Reihe von Parameter zu infektiösen Komplikationen erhoben. Bezüglich viraler Infektionen wurden signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen für die kumulierte Anzahl viraler Infektionen (>2000 Kopien/ml Blut) nach HSZT pro PatientIn für relevante Viren neben EBV gefunden. Das waren das Zytomegalovirus (CMV), Adenovirus

(ADV), humanes Herpesvirus 6 (HHV-6) und BK-Virus (BKV). Es wurden signifikant mehr Virusinfektionen in der RTX-Gruppe dokumentiert, jedoch unabhängig vom Zeitpunkt der RTX-Initiation (Median insgesamt 28 versus 16, vor RTX 23 versus 15 und nach RTX 9 versus 5), was auf ein allgemein erhöhtes Risiko für Virusinfektionen in der RTX-Gruppe unabhängig von der RTX-Behandlung hindeutet. Dies spiegelt sich auch in der Anzahl der PatientInnen wider, welche eine andere antivirale Therapie außer RTX vor der ersten RTX-Therapie erhielten. Dies waren in der RTX-Gruppe signifikant mehr als in der Kontrollgruppe (RTX-Gruppe 18 versus Kontrollgruppe 7, $n=0,003$). 9 (21 %) RTX-PatientInnen (versus 4 (9 %) in der Kontroll-Gruppe) erhielten virusspezifische T-Zellen. Abgesehen von der signifikant höheren Zahl an EBV-Infektionen hatten PatientInnen der RTX-Gruppe mehr CMV- und BKV-Infektionen, aber nur eine zusätzliche ADV-Infektion (**Tabelle 5**).

In Bezug auf bakterielle Infektionen wurden mehr Episoden von erneuter Neutropenie (2 (0 – 19) versus 1 (0 – 8)) und mehr Einleitungen einer intravenösen Antibiotikabehandlung, nicht nur, aber insbesondere nach Beginn der RTX-Behandlung, gefunden (Gesamtmedian 3 vs. 1, vor RTX 1 gegen 1, nach RTX 1 gegen 0). Zudem hatten signifikant mehr PatientInnen in der RTX-Gruppe positive Blutkulturbefunde nach Beginn der RTX-Behandlung (17 (39 %) versus 6 (14 %), aber nicht vor der RTX-Behandlung (15 (34 %) vs. 11 (25 %)). Dies deutet stark auf ein erhöhtes Risiko für eine bakterielle Infektion nach einer RTX-Behandlung im Rahmen einer HSZT hin. Um den Schweregrad bakterieller Infektionen zu bewerten, wurden Informationen über die mittlere Dauer erhöhter CRP-Werte und die mittleren höchsten CRP-Werte, während diese erhöht waren, erhoben. Hier wurden jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen gefunden. Als Surrogatmarker für mögliche Pilzinfektionen wurde die Anzahl der erhaltenen systemischen antimykotischen Behandlungen verglichen, wobei jedoch keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden konnten.

Drittens wurde das Auftreten von GvHD bewertet. Es wurde kein Unterschied bezüglich klinisch relevanter akuter GvHD (11 (25 %) versus 9 (20 %)) festgestellt, jedoch konnten Patienten mit mittelschwerer bis schwerer chronischer GvHD nur in der RTX-Gruppe 5 (11 %), nicht aber in der Kontroll-Gruppe gefunden werden. 4 dieser 5 PatientInnen hatten RTX bereits vor Beginn der chronischen GvHD erhalten und die aufgezeichneten Daten nannten die Verwendung von RTX in diesen Fällen nicht zur GvHD-Behandlung bei diesen PatientInnen beziehungsweise war jeweils eine weitere eindeutige RTX-Indikation dokumentiert (zum Beispiel EBV-Infektion/Reaktivierung). Da RTX eher für seine vorteilhafte Wirkung bei chronischer GvHD als für einen Risikofaktor bekannt ist, könnte eine mögliche Erklärung sein, dass diese PatientInnen

multimorbide PatientInnen mit einer hohen Koinzidenz von Komplikationen waren. Im Einklang mit den häufigeren GvHD-Fällen wurde eine etwas höhere Anzahl von PatientInnen in der RTX-Gruppe, die eine systemische Steroidbehandlung nach HSZT erhielten (28 (64 %) vs. 22 (50 %)) und einer etwas höheren kumulativen Anzahl systemischer Steroidbehandlungen (Median 1 (0 – 7) vs. 1 (0 – 4)) gefunden. Es wurde jedoch kein signifikanter Unterschied bei der Anzahl der PatientInnen gefunden, die extrakorporale Photopherese, Vedulizumab, Basiliximab oder Infliximab bekamen.

Beim Vergleich der Anzahl an Erythrozytenkonzentraten (EK) und Thrombozytenkonzentraten (TK) pro PatientIn und der Gesamtzahl, die nach HSZT erhalten wurde, wurde eine Tendenz zu einem höheren Transfusionsbedarf bei PatientInnen aus der RTX-Gruppe (EK pro PatientIn 9 (1 – 143) versus 6 (1 – 50) und TK pro PatientIn (16 (1 – 177) versus 9 (0 – 109) festgestellt. Dies könnte durch die höhere Anzahl viraler Infektionen in der RTX-Gruppe einschließlich EBV erklärt werden, die eine antivirale Behandlung mit myelotoxischer Virostatika erforderlich machten.

3.5 Subgruppenanalyse (RTX-Fälle mit einem persistenten Bedarf an IVIG mindestens 53 Wochen (ein Jahr) nach RTX-Behandlung bis zum Ende der Beobachtungsperiode)

In Anlehnung an frühere Berichte wurde eine Kohorte an PatientInnen definiert und gründlicher untersucht, die nach der RTX-Behandlung eine besonders lange und anhaltende B-Zell-Schädigung zeigten. Während des Prozesses zur Definition dieser Subgruppe „verlängerter B-Zellschaden“ (PBD) wurde eine Reihe von Definitionen getestet. Die endgültige Definition lautete „RTX-Fällen mit anhaltender IVIG-Substitutionsnotwendigkeit 53 Wochen (ein Jahr) nach RTX-Behandlung bis Ende des jeweiligen Beobachtungszeitraums“. Unter Verwendung dieser Definition wurden 9 von 24 PatientInnen (38 %) der RTX-Gruppe identifiziert, die länger als 365 Tage nach Beendigung der RTX-Behandlung beobachtet wurden und einen anhaltenden Ig-Mangel aufwiesen (**Abbildung 23**).

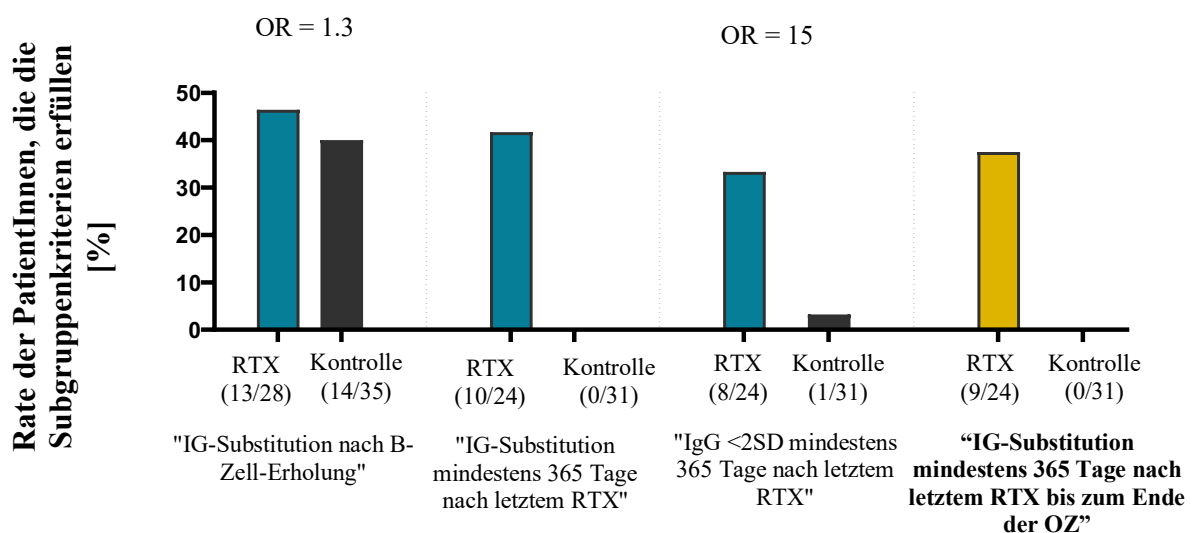


Abbildung 23: Subgruppendefinitionen und Zuordnung für anhaltende B-Zell-Schäden.

Identifizierung von 9 Fällen in der RTX-Gruppe, die die Definition "Immunglobulinsubstitution mindestens 365 Tage nach dem letzten RTX bis zum Ende des Beobachtungszeitraums" entsprachen. *SD*=Standardabweichung, *OZ*=Observationszeit, *OR*=Odds ratio

Um die PBD-Subgruppe zu charakterisieren und mögliche Risikofaktoren zu identifizieren, wurden diese 9 PatientInnen dann mit den anderen 15 PatientInnen aus der ursprünglichen RTX-Gruppe verglichen, die eine Beobachtungszeit von mehr als 365 Tagen nach Erhalt der letzten RTX-Dosis hatten (= RTX-Kontroll-Subgruppe) (Tabelle 6).

Tabelle 6: Charakteristika der PBD-Subgruppe und RTX-Kontroll-Subgruppe

Charakteristika	PBD-Subgruppe	RTX-Kontroll-Subgruppe	p-Wert ^a
Anzahl der PatientInnen, n	9	15	
Observationszeit [Tage] ^b	716 (471 - 1095)	972 (444 - 1095)	0,052
Alter zum Zeitpunkt der HSZT [Jahr] ^b	8 (2 - 19)	12 (4 - 21)	0,2
Geschlecht, n (%)			
Männlich	5 (55,5)	8 (53,3)	
Weiblich	4 (44,4)	7 (46,7)	
Körpergewicht zum Zeitpunkt der HSZT [kg] ^b	26,5 (11,5 - 90)	30,3 (16,3 - 85,7)	
Art der HSZT, n (%)			
MUD	5 (55,5)	9 (60)	
MSD	4 (44,4)	3 (20)	
MMRD/haploident	0 (0)	3 (20)	
Graft Manipulation: Jegliche TCRαβ-Depletion, n (%) ^c	4 (44,4)	5 (33,3)	0,68
Quelle der HSZ, n (%)			
KM	3 (33,3)	9 (60)	0,4
PBSC	6 (66,7)	6 (40)	
Drop-out Ereignisse, n (%)	0 (0)	0 (0)	
HSZT-Nummer, n (%)			
1	8 (88,9)	14 (93,3)	
2	1 (11,1)	0 (0)	
3	0 (0)	1 (6,7)	
Malignität, n (%)			
Benigne	4 (44,4)	9 (60)	
Maligne	5 (55,6)	6 (40)	

Fortsetzung Tabelle 6

Charakteristika	PBD-Subgruppe	RTX-Kontroll-Subgruppe	p-Wert ^a
HSZT-Indikation, n (%)			
Akute myeloische Leukämie	0 (0)	1 (6,7)	
Beta Thalassämie major	0 (0)	1 (6,7)	
B-Zell akute lymphoblastische Leukämie	3 (33,3)	4 (26,7)	
Fanconi Anämie	1 (11,1)	0 (0)	
Hyper IgM Syndrom	1 (11,1)	0 (0)	
ICF Syndrom Typ 3	0 (0)	1 (6,7)	
Myelodysplastisches Syndrom	1 (11,1)	1 (6,7)	
Morbus Glanzmann	0 (0)	1 (6,7)	
Osteopetrosis	1 (11,1)	0 (0)	
Sichelzellkrankheit	1 (11,1)	5 (33,3)	
T-lymphoblastisches Lymphom	1 (11,1)	0 (0)	
Yokohama Hämoglobinopathie	0 (0)	1 (6,7)	
RTX bezogene Daten			
ZP der ersten RTX Gabe [Tag nach HSZT] ^b	48 (9 - 94)	51 (41 - 353)	0,35
ZP der letzten RTX Gabe [Tag nach HSZT] ^b	58 (9 - 302)	79 (57 - 372)	0,4
Zeit bis die EBV-Viruslast <50% des Wertes zum ZP der ersten RTX-Dosis gesunken ist [Tage] ^b	1 (1 - 2)	2 (1 - 42)	0,049
Anzahl der RTX-Dosen pro Patient, n (%)	Durchschnitt: 2,6	Durchschnitt: 3,1	0,2
1-2	6 (66,7)	5 (33,3)	
3-4	2 (22,2)	9 (60)	
7-8	1 (11,1)	1 (6,7)	
Anzahl der RTX Zyklen, n (%) ^d			
1	7 (77,8)	15 (100)	0,13
2	2 (22,2)	0 (0)	
Indikation der RTX-Therapie, n (%)			
EBV	8 (72,7)	15 (100)	
AIHD	1 (9,1)	0 (0)	
Konditionierung/Behandlung	0 (0)	0 (0)	
Konditionierung/AIHD	1 (9,1)	0 (0)	
Immunezephalitis	1 (9,1)	0 (0)	
Maximale EBV Viruslast nach HSZT [Kopien pro ml] ^b	13550 (1530 - 1770000)	23100 (4050 - 299000)	0,16

Fortsetzung Tabelle 6

Charakteristika	PBD-Subgruppe	RTX-Kontroll-Subgruppe	p-Wert ^a
Anzahl der PatientInnen mit einer EBV-Viruslast <2000 Kopien/ml 28 Tage nach dem 1. RTX, n (%)	9 (100)	14 (93,3)	>0,99
Start der RTX-Therapie bei einer EBV-Viruslast <10000 Kopien/ml, n (%)	3 (33,3)	5 (33,3)	
Start der RTX-Therapie bei einer EBV-Viruslast <3000 Kopien/ml, n (%)	2 (22,2)	2 (13,3)	0,61
Rekonstitution			
ZP der B-Zell-Erholung nach HSZT [Tage] ^b	471 (50 - 716)	301 (43 - 460)	0,026
Zeit bis zur B-Zell-Erholung nach dem letzten RTX [Tage] ^b	306 (144 - 658)	214 (127 - 350)	0,029
B-Zell Zahl < 0,01/nl an Tag 365, n (%)	3 (33,3)	0 (0)	0,04
IgG Konzentration [g/l] an Tag 365 ^b	5,96 (2,22 - 9,72)	9,02 (3,02 - 13,96)	0,025
IgM Konzentration [g/l] an Tag 365 ^b	0,11 (0,08 - 0,46)	0,58 (0,36 - 0,97)	<0,0001
Kumulative IVIG Dosis [g/kgKG] ^b	7,88 (0,96 - 28,05)	0,89 (0,02 - 3,79)	0,0002
Anzahl der PatientInnen mit IVIG nach B-Zell-Erholung, n (%)	6 (66,7)	3 (20)	0,036
Lymphozytenkonzentration /nl an Tag 365 ^b	2,02 (0,48 - 4,39)	2,54 (0,9 - 4,64)	0,14
CD3+ Zellzahl /nl an Tag 365 ^b	1,17 (0,62 - 3,5)	1,85 (0,53 - 3,76)	0,27
CD4+ Zellzahl /nl an Tag 365 ^b	0,34 (0,17 - 1,1)	0,52 (0,4 - 1,42)	0,049
CD8+ Zellzahl /nl an Tag 365 ^b	0,62 (0,19 - 3,5)	1,22 (0,14 - 3,11)	0,53
B-Zellzahl /nl an Tag 365 ^b	0,04 (0 - 1,2)	0,36 (0,05 - 1,25)	0,057
B/T Zell Verhältnis an Tag 365 ^b	0,05 (0 - 0,5)	0,21 (0,01 - 1,11)	0,22
ZP von IgG >5g/l ohne IVIG-Substitution nach HSZT [Tage] ^b	-	73 (4 - 757)	

Fortsetzung Tabelle 6

Charakteristika	PBD-Subgruppe	RTX-Kontroll-Subgruppe	p-Wert ^a
Tetanustoxid IgG 2 Jahre nach HSZT [IU/ml] ^{b,f}	0,86 (0,34 - 1,56) (n=8)	1,3 (0,1 - 6,3) (n=15)	0,47
Pneumokokkenkapsel Polysaccharid IgG1 2 Jahre nach HSZT [IU/ml] ^{b,f}	33,4 (6,4 - 62,8) (n=7)	36,8 (5,2 - 74,3) (n=12)	0,55
Pneumokokkenkapsel Polysaccharid IgG2 2 Jahre nach HSZT [IU/ml] ^{b,f}	11,5 (2,5 - 25,4) (n=7)	7,1 (1,3 - 36,2) (n=12)	0,9
Erstmalig Thrombozyten >50000/ μ l nach HSZT ohne Transfusion [Tage] ^b	85 (17 - 402)	29 (13 - 600)	0,2
Erstmalig neutrophile Granulozyten >500/ μ l nach HSZT [Tage] ^b	17 (9 - 25)	17 (10 - 33)	>0,99
Erstmalig neutrophile Granulozyten >1000/ μ l nach HSZT [Tage] ^b	18 (9 - 79)	19 (10 - 67)	0,99
Anzahl der PatientInnen mit Senkung des Spenderchimärismus <50%, n (%)	1 (11,1)	2 (13,3)	
Komplikationen			
Anzahl der Rehospitalisierungen pro PatientIn ^{b,h}	5 (0 - 34)	1 (0 - 9)	0,036
Vor erstem RTX	0 (0 - 1)	0 (0 - 3)	0,56
Nach erstem RTX	4 (0 - 34)	1 (0 - 8)	0,021
Anzahl der PatientInnen mit jeglicher nicht-EBV Virusinfektion (>2000 Kopien/ml im Blut), n (%)	9 (100)	9 (60)	0,052
Vor erstem RTX	8 (88,9)	9 (60)	0,19
Nach erstem RTX	3 (33,3)	0 (0)	0,042
PatientInnen mit anderen antiviralen Medikamenten als RTX, n (%) ⁱ	9 (100)	7 (46,7)	0,01
Ganciclovir	5 (55,6)	4 (26,7)	
Valganciclovir	5 (55,6)	1 (6,7)	
Foscarnet	3 (33)	6 (40)	
Cidofovir	2 (22,2)	2 (13,3)	
Brincidofovir	1 (11,1)	3 (20)	
PatientInnen mit Initiation von anderen antiviralen Medikamenten als RTX, n (%) ⁱ			
Vor dem ersten RTX	8 (88,9)	7 (46,7)	0,08
Nach dem ersten RTX	7 (77,8)	2 (13,3)	0,003

Fortsetzung Tabelle 6

Charakteristika	PBD-Subgruppe	RTX-Kontroll-Subgruppe	p-Wert ^a
Anzahl der Neutropenie Rezidive nach HSZT ^{bj}	4 (0 - 7)	1 (0 - 6)	0,03
Anzahl der Initiationen von intravenösen antibiotischen Behandlungen ^b	4 (1 - 14)	2 (1 - 4)	0,034
Vor erstem RTX	2 (1 - 3)	1 (0 - 3)	0,053
Nach erstem RTX	2 (1 - 11)	1 (0 - 3)	0,04
Anzahl der PatientInnen mit positiven Blutkulturen, n (%)	5 (55,6)	8 (53,3)	>0,99
Vor erstem RTX	2 (22,2)	5 (33,3)	0,67
Nach erstem RTX	5 (55,6)	5 (33,3)	0,4
Anzahl der PatientInnen mit schweren unerwünschten Ereignissen, die überlebt wurden, n (%) ^g	2 (22,2)	2 (13,3)	
Dauer der Hospitalisierungen für HSZT [Tage] ^b	87 (38 - 411)	49 (33 - 201)	0,27
Kumulative Dauer der Rehospitalisierungen nach HSZT [Tage] ^{b,h}	15 (1 - 141)	18 (2 - 45)	0,74
Vor dem ersten RTX	0 (0 - 2)	0 (0 - 28)	0,48
Nach dem ersten RTX	14 (1 - 141)	16 (2 - 38)	0,55
Anzahl der PatientInnen mit Stammzellboost nach HSZT, n (%)	0 (0)	2 (13,3)	
Anzahl der PatientInnen mit Donor Lymphozyten Infusionen nach HSZT, n (%)	3 (33,3)	1 (6,7)	
Anzahl der viralen Infektionen (ohne EBV) mit >2000 Kopien/ml Blut nach dem ersten RTX pro PatientIn, n (%)			0,034
0	5 (55,5)	12 (90,9)	
1	2 (22,2)	1 (6,7)	
2	2 (22,2)	2 (13,3)	
3	0 (0)	0 (0)	
Anzahl der PatientInnen mit PTLN, n (%)	0 (0)	2 (13,3)	0,51
Anzahl der PatientInnen mit ADV-Infektionen (>2000 Kopien/ml Blut), n (%)	4 (44,4)	3 (20)	0,36

Fortsetzung Tabelle 6

Charakteristika	PBD-Subgruppe	RTX-Kontroll-Subgruppe	p-Wert^a
Anzahl der PatientInnen mit CMV-Infektion (>2000 Kopien/ml Blut), n (%)	4 (44,4)	4 (26,7)	0,38
Anzahl der PatientInnen mit BKV-Infektion (>2000 Kopien/ml Blut/Urin), n (%)	5 (55,5)	6 (40)	>0,99
Anzahl der PatientInnen mit virusspezifischen T-Zellen, n (%)	0 (0)	3 (20)	0,27
Anzahl der PatientInnen mit systemischer antimykotischer Behandlung in therapeutischer Dosis, n (%)	3 (33,3)	1 (6,7)	0,13
Anzahl der PatientInnen mit relevanter akuter GvHD, n (%) ^k	4 (44,4)	3 (20)	0,36
Anzahl der PatientInnen mit relevanter chronischer GvHD, n (%)	2 (22,2)	2 (13,3)	0,61
Anzahl der systemischen Steroidbehandlungen nach HSZT pro PatientIn, n (%)			
0	2 (22,2)	7 (46,7)	
1	2 (22,2)	3 (20)	
2	2 (22,2)	3 (20)	
3	2 (22,2)	1 (6,7)	
4	0 (0)	1 (6,7)	
5	0 (0)	0 (0)	
7	1 (11,1)	0 (0)	
Anzahl der PatientInnen mit ECP-Prozeduren, n (%)	4 (44,4)	3 (20)	
Anzahl der PatientInnen mit Applikationen von Vedulizumab, Basiliximab oder Infliximab nach HSZT, n (%)	2 (22,2)	0 (0)	
Entwicklung von VOD nach HSZT, n (%)	1 (11,1)	3 (20)	
Anzahl der Erythrozytenkonzentrate pro PatientIn ^b	12 (2-143)	6 (1-15)	0,09
Anzahl der Thrombozytenkonzentrate pro PatientIn ^b	19 (3-94)	12 (3-41)	0,31

^a=Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-, McNemar-, Mann-Whitney U- oder Fischers exakter Test abhängig vom Datentyp und dem Matching, ^b=Median [Spannweite], ^c=exkludiert ausschließlich Erythrozytendepletion und Plasmadepletion als Graft Depletion, ^d=ein Zyklus wiederholter Gaben von RTX wurde als abgeschlossen definiert, wenn RTX für ≥ 28 Tage nicht verabreicht wurde, ^e=eine Episode wurde als kontinuierliche EBV-Viruslast von 2000 Kopien/ml Blut bei Reihemessungen definiert, ^f=n exkludiert alle PatientInnen mit Dropout-Events aber schließt alle verfügbaren Daten bis zum 20. Januar 2022 ein (auch wenn die Daten außerhalb des Beobachtungszeitraum liegen), ^g=Orientiert sich an der CTCAE Grad 4, ^h=Rehospitalisierungen ausschließlich für RTX Therapie wurden exkludiert, ⁱ=Aciclovir wurde aus dieser Analyse ausgeschlossen, da alle PatientInnen, unabhängig von der Studienkohorte, prophylaktisch Aciclovir erhielten, um eine Herpes-simplex-Infektion zu verhindern, ^j=nach mindestens 7 Tagen Neutrophilen-Regeneration ($>1000/\mu\text{l}$) sinken die Neutrophilen-Blutspiegel wieder auf $<1000/\mu\text{l}$ (unabhängig von der Behandlung mit Granulozyten-Kolonie-stimulierendem Faktor), ^k=dazu gehören Episoden einer akuten GvHD, bei denen die PatientInnen eine systemische Therapie wie Steroide oder extrakorporale Photopherese erhalten haben, PBD: Subgruppe mit verlängerter B-Zell-Schaden innerhalb der RTX-Gruppe, RTX-Kontroll-Subgruppe: nicht-PBD-Subgruppe innerhalb der RTX-Gruppe als Kontrolle zur PBD-Subgruppe, HSZT: hämatopoetische Stammzelltransplantation, MUD: matched unrelated donor, MSD: matched sibling donor, MMRD: mismatched related donor, MRD: matched related donor, HSZ: hämatopoetische Stammzellen, KM: Knochenmark, PBSZ: Stammzellen aus peripherem Blut, CD: cluster of differentiation, Oberflächenantigen, TZR $\alpha\beta$ -Depletion: T-Zell-Rezeptor $\alpha\beta$ -Depletion, KG: Körpergewicht, ZP: Zeitpunkt, IVIG: intravenöse Immunglobuline, GvHD: graft versus host disease, ECP: extrakorporale Photopherese

Wie in der gesamten RTX-Kohorte wurden keine Anomalien bei der T-Zell-Erholung nach HSZT gefunden, aber die B-Zell-Erholung und Funktion waren in der PBD-Subgruppe besonders stark beeinträchtigt. Betroffene PatientInnen zeigten einen ausgeprägteren Rückgang der B-Zellzahlen nach der RTX-Behandlung und 3 (33%) Patienten aus der PBD-Untergruppe hatten unmessbar niedrige B-Zellzahlen bis zu 365 Tagen nach HSZT. Obwohl die PatientInnen der PBD-Untergruppe die erste oder letzte RTX-Dosis nicht signifikant später als RTX-Kontroll-PatientInnen erhielten, trat die Erholung der B-Zellen signifikant später nach der HSZT auf (Median Tag 471 (50 – 716) versus 301 Tage (43 – 460)). Auch die Zeit bis zur Erholung der B-Zellzahl nach Erhalt der letzten RTX-Dosis war in der PBD-Gruppe signifikant länger (Median 306 Tage (144 – 658) versus 214 Tage (127 – 350)). In Bezug auf eine anhaltende funktionelle Beeinträchtigung wurden signifikant niedrigere IgG- und IgM-Spiegel trotz einer signifikant höheren Menge an IVIG-Substitutionen beobachtet. Signifikant mehr PatientInnen aus der PBD-Untergruppe erhielten IVIG-Substitutionen sogar nach der Erholung der B-Zell-Zahlen. Allerdings konnte eine gewisse B-Zell-Funktionalität zwei Jahre nach HSZT bestätigt werden, da PatientInnen aus beiden Gruppen ähnliche und ausreichende Tetanus- und PCP-Impftiter aufwiesen. PBD-PatientInnen zeigten insbesondere hohe CD8 positive und CD3 positive T-Zell-Zahlen am Tag 730 nach HSZT (**Abbildung 24**).

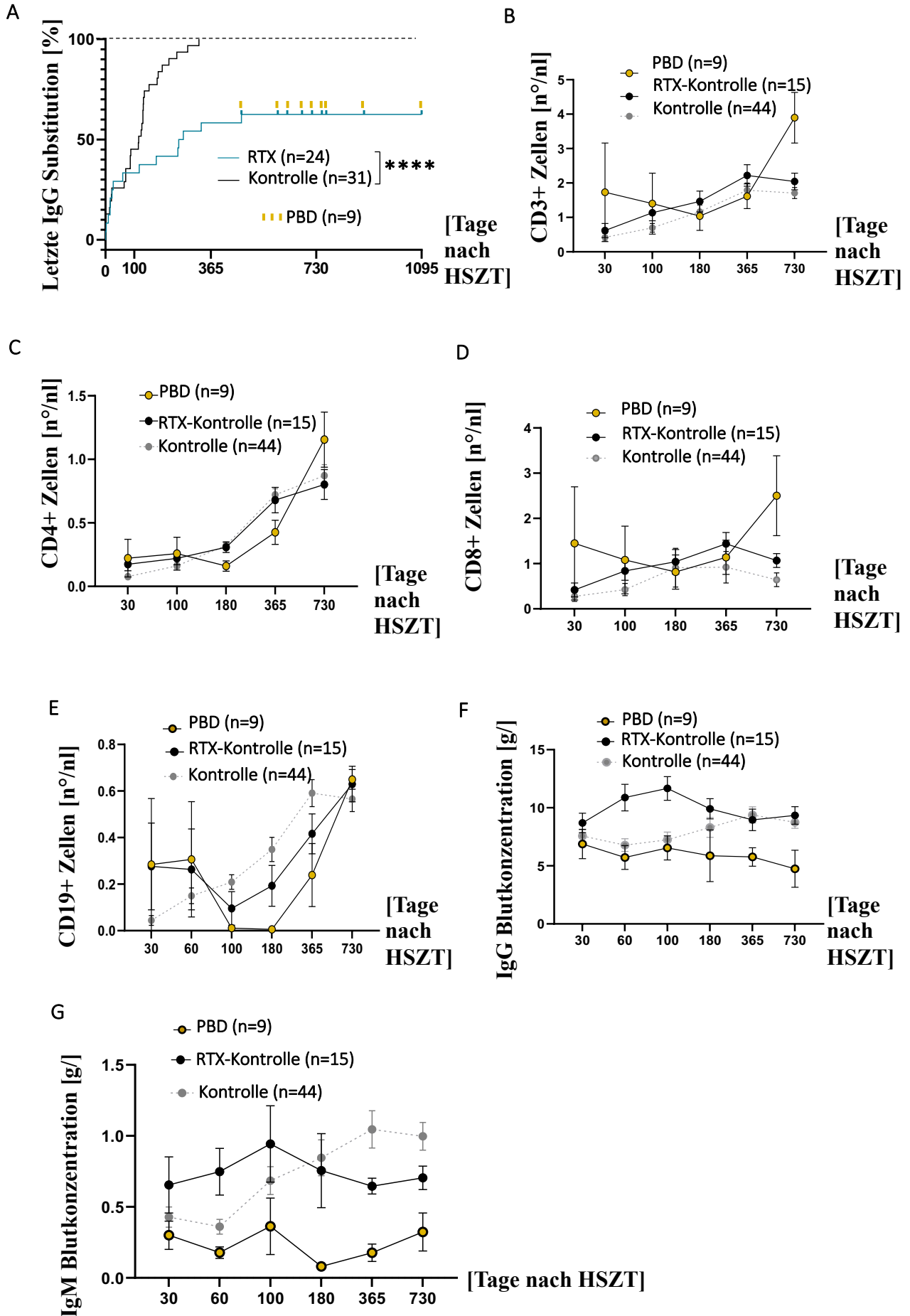


Abbildung 24: Subgruppenspezifischer Vergleich der relevanten Immunrekonstitutionsparameter zwischen PBD-, RTX-Kontroll- und Nicht-RTX-Kontrollgruppe. (A) Inverse Kaplan-Meier-Kurve, die die Rate der PatientInnen zeigt, die eine IgG-Substitutionsunabhängigkeit aus der Gruppe der PatientInnen erreichten, die mindestens 365 nach der letzten RTX-Behandlung (oder dem äquivalenten Zeitpunkt in der Kontrollgruppe) verfolgt wurden. (B-G) Entwicklung der CD3+, CD4+, CD8+ T-Zellen und CD19+ B-Zellen sowie des IgG- und IgM-Blutspiegels im Zeitverlauf nach HSZT bei PatientInnen mit anhaltendem B-Zell-Schaden (PBD), der RTX-Kontrollgruppe (RTX-Kontrolle) und der Nicht-RTX-Kontrollgruppe (Kontrolle). Mittelwert & Standardfehler des Mittelwerts pro Gruppe und Tag nach HSZT.

Außerdem entwickelten PatientInnen aus der PBD-Untergruppe signifikant mehr Komplikationen nach Beginn der RTX-Behandlung im Vergleich zur RXT-Kontroll-Gruppe, wie durch signifikant mehr Rehospitalisierungen (Median 4 (0 – 34) versus 1 (0 – 8)), eine höhere Rate an Nicht-EBV-Virusinfektionen (3 (33 %) vs. 0 (0 %)) und mehr Einleitungen von intravenösen Antibiotikabehandlungen (Median 2 (1 – 11) vs. 1 (0 – 3)) nahegelegt wird. Allerdings konnten in Bezug auf das Gesamtüberleben, Entwicklung schwerer unerwünschter Ereignisse oder GvHD und systemischer Steroidbehandlung vor oder nach Beginn der RTX-Therapie keine Unterschiede festgestellt werden.

Auf der Suche nach Risikofaktoren für die PBD-Zuordnung wurden bei den 8 PatientInnen der PBD-Gruppe, die RTX zur Behandlung einer EBV-Infektion erhielten, im Vergleich zur RTX-Kontroll-Gruppe ein signifikant schnelleres Ansprechen auf die Therapie festgestellt ($p=0,049$) (**Tabelle 6**). Dies steht im Einklang mit der Tendenz, dass PatientInnen der PBD-Subgruppe weniger RTX-Dosen erhielten (1-2 Dosen: PBD 67 % vs. RTX-Kontrolle 33 %). Gleichzeitig wurden keine signifikanten Unterschiede in der gemessenen maximalen EBV-Kopienzahl oder der Rate der PatientInnen beobachtet, bei denen die Behandlung mit RTX bereits bei sehr niedrigen EBV-Kopienzahlen begonnen wurde. Abgesehen von einer Tendenz zu jüngerem Alter (Differenz Median 4 Jahre (PBD: 8 (2 – 19) vs. RTX-Kontrolle 12 (4 – 21))) wurden keine signifikanten Unterschiede bei der Betrachtung allgemeiner transplantationsrelevanter Daten (das heißt Geschlecht, Körpergewicht, Quelle der Stammzellen, HSZT-Indikation), RTX-bezogener Daten (Gesamtanzahl der RTX-Dosen, Anzahl der RTX-Zyklen, Indikation für die RTX-Therapie und Schweregrad der EBV-Infektion) oder Auftreten von Komplikationen vor Beginn der RTX-Behandlung (Infektionskrankheiten und GvHD) festgestellt (**Abbildung 24, Tabelle 6**).

Bei der Nachverfolgung der IVIG-Substitution über den Beobachtungszeitraum der Studie hinaus bei den 9 PBD-PatientInnen bis zum 30.06.2022 hat sich ergeben, dass 3 von den 9 PatientInnen von IVIG-Substitutionen unabhängig geworden waren. Somit lag die neue Beobachtungszeit bei einem Median von 1112 (867-1628) Tagen. Damit verblieben summa summarum 6 aus 24 (25 %) PatientInnen mit einer anhaltenden B-Zell-Schädigung von solchem Schweregrad, dass kontinuierliche IgG-Substitutionen über zwei Jahre nach HSZT notwendig waren.

Diskussion

4.1 Limitationen der Studie

Es konnte eine Reihe von Störvariablen/Confoundern ermittelt werden, die bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden müssen.

Die PatientInnen wurden nach einem System gematcht, welches bereits durch die große Anzahl an Matching Variablen ein hohes Risiko für nicht-ideale Paarungen mit sich brachte. Dabei wurden acht hierarchisch geordnete Matching Parameter auf der Grundlage der essenziellen Datenliste der JACIE angewendet (Cornish, 2008). In dem Kontext war nur der HSZT Matching Status (zum Beispiel MUD, MSD oder haploident) als Parameter mit höchster Priorität ohne Mismatch gematcht worden. Während weitere Matchingkriterien wie die Stammzellquelle, die Nummer der aktuellen HSZT, Geschlecht und die Malignität eine akzeptable Mismatchrate haben, wiesen die restlichen Parameter wie die grundlegende Erkrankung, Graft Manipulation und Altersgruppe eine höhere Mismatchrate von >40% auf (vergleiche **Abbildung 6**). Insbesondere die hohe Rate an Mismatches der Graft Manipulation ist von großer Relevanz, da die unterschiedlichen Manipulationen des Transplantates unterschiedliche Wirkung auf die Immunrestitution und das Risiko für eine PTLD haben (Schumm et al., 2019, Styczynski and Giebel, 2019). Die hohe Anzahl von Transplantat-Manipulations-Mismatches lässt sich durch ein Ergebnis dieser Studie erklären. Bei RTX-PatientInnen war die Wahrscheinlichkeit signifikant höher, dass sie ein TZR $\alpha\beta$ -depletiertes Transplantat hatten.

Dadurch konnte keine ausreichende Anzahl von PatientInnen mit einem TZR $\alpha\beta$ -depletiertem Transplantat gefunden werden, die keine EBV-Infektion/Reaktivierung entwickelten und dementsprechend keine präventive RTX-Behandlung erhielten. Jedoch ist diese Studie nicht darauf ausgelegt, die Hypothese zu überprüfen, ob eine TZR $\alpha\beta$ -Depletion das Risiko für Virusinfektionen erhöht. Eine andere ebenso mögliche Erklärung dafür könnte sein, dass im Zuge einer Änderung der Strategie in unserem Zentrum sowohl die TZR $\alpha\beta$ -Depletion als auch RTX in späteren Jahren häufiger eingesetzt wurden. Es könnte sich also eher um einen zeitlich korrelierenden Zufall als um einen kausalen Zusammenhang handeln. Dies muss in einem anderen Studenumfeld untersucht werden und war nicht Gegenstand dieser Studie. Unabhängig davon wurde aufgrund dieses unvollkommenen Matchings und der Feststellung eines allgemein erhöhten Risikos für Virusinfektionen sowohl vor als auch nach der RTX-Therapie davon abgesehen, dieses Risiko für Virusinfektionen auf RTX zurückzuführen. Andere Komplikationen traten jedoch eindeutig erst nach Beginn der RTX-Therapie auf, mit eindeutigen statistischen Testergebnissen

aus mehreren verschiedenen Items/Endpunkten und Analyseansätzen, so dass davon ausgegangen wird, dass die gesamte statistische Aussagekraft dieser Studie mögliche Verzerrungen aufgrund von Transplantat-Manipulations-Mismatches bei einigen PatientInnen kompensiert.

Ähnliches gilt für die grundlegende Erkrankung und das Alter der PatientInnen, welche beide ebenso einen Einfluss auf die Immunrekonstitution nach einer HSZT haben (de Koning et al., 2016). Die niedrige Mismatchanzahl von vier in Bezug auf einen malignen oder benignen Charakter der Grunderkrankung gleicht zumindest die hohe Mismatchrate der exakten Grunderkrankungen teilweise aus, da die Malignität der Grunderkrankung eine hohe Relevanz für die HSZT hat. Die hohe Altersinkongruenz lässt sich durch die folgenden Fakten erklären: Die Altersgruppe hatte beim Matching die geringste Priorität. Es wurden fünf vordefinierte Altersgruppen mit strengen Altersgrenzen festgelegt, was dazu führte, dass zum Beispiel ein 11-jähriges und ein 12-jähriges Kind als Fehlpaarung betrachtet wurden. Ein Mismatch, das weniger relevant wäre als das Mismatch eines Säuglings mit einem Jugendlichen. Altersinkongruenzen zwischen benachbarten Altersgruppen machten 62,5 % aller Altersinkongruenzen aus. Altersübereinstimmungen in pädiatrischen Kohorten mit "seltenen Eingriffen" (hier 248 pädiatrische HSZT-Patienten) sind im Allgemeinen durch die geringe Anzahl von Fällen in jeder Altersgruppe begrenzt. Die Aufschlüsselung der PatientInnen pro Altersgruppe (**Tabelle 1**) zeigt, dass insgesamt in beiden Gruppen ähnlich viele PatientInnen pro Altersgruppe eingeschlossen wurden. Dies steht im Einklang mit der Tatsache, dass sich das mediane Gesamtalter zwischen den beiden Gruppen nicht wesentlich unterscheidet. Daher wird angenommen, dass, auch wenn die Altersübereinstimmung in vielen Fällen unvollkommen war, eine mögliche Altersverzerrung minimal sein sollte.

Weiterhin wurden die p-Werte in dieser der Dissertation zugrundeliegenden Studie nicht auf multiples Testing adjustiert. Aufgrund dieser Tatsache ist es möglich, dass Ergebnisse überinterpretiert werden oder gegebenenfalls falsch positive Ergebnisse entstanden sein könnten. Daher sind statistisch signifikante Ergebnisse einzelner Vergleiche/Items mit Bedacht einzuordnen. Dieses Vorgehen erschien akzeptabel, da die Studie mit einem explorativen Design konzipiert worden war, bei dem auf Korrektur multiplen Testings zugunsten einer größeren Daten/Itembreite verzichtet wurde. Außerdem wurde zu keinem Zeitpunkt Schlussfolgerungen auf der Grundlage eines einzelnen Tests gezogen. Es wurden immer Gruppen von Tests und Items zu bestimmten Fragestellungen gebündelt und verschiedene statistische Methoden für einzelne Fragestellungen angewandt. Dies waren zum Beispiel die Berücksichtigung einer verfrühten statistischen Zuordnung von PatientInnen zur RTX-Gruppe und die damit einhergehende zeit- und

gruppenangepasste statistische Analyse mit Behandlungswechsel in Bezug auf die primären Endpunkte (**Abbildung 18 und 19**).

Der signifikant längere Beobachtungszeitraum in der Kontrollgruppe (31489 Tage versus 25434 Tage in der RTX-Gruppe) erhöht die Wahrscheinlichkeit einer Verzerrung in Richtung höherer Raten/Mediane des primären Endpunkts oder sekundärer Komplikationen in der Kontrollgruppe. Es erhöhte sich also statistisch die Wahrscheinlichkeit einer Verzerrung in Richtung höherer Raten an Komplikationen in der Kontrollgruppe. Dies wurde bei den statistischen Tests nicht korrigiert, da bei keinem der Items signifikant höhere Raten oder Mediane in der Kontrollgruppe festgestellt wurden. Dies impliziert wiederum, dass jeder beobachtete signifikante Unterschied zwischen den beiden Gruppen mit niedrigeren Raten/Medianen in der RTX-Gruppe bei korrigierten Analysen oder ähnlichen Beobachtungszeiträumen noch signifikanter wäre, wenn gleiche Beobachtungszeiträume zwischen beiden Gruppen bestanden hätten. Dieses Problem wurde weiterhin durch die Verwendung von Kaplan-Meier-Kurven zur transparenten Darstellung von Zensierungen angegangen. Die Entstehung dieses längeren Beobachtungszeitraumes als möglichen Confounders lässt sich damit erklären, dass RTX häufiger zum Ende der 5-Jahresperiode appliziert wurde und somit PatientInnen aus der RTX-Gruppe aufgrund der Begrenzung des Beobachtungszeitraumes auf den 31.12.2020 bei der Datenerhebung seltener die vollen drei Jahre an Beobachtungszeitraum erreicht hatten. Gleichzeitig hatten PatientInnen aus der Kontroll-Gruppe häufiger frühere Transplantationstermine aufgrund der Tatsache, dass es mehr PatientInnen gab, die nicht den Inklusionskriterien der RTX-Gruppe entsprachen. Somit war die Chance auch höher, dass PatientInnen aus der RTX-Gruppe, die zum Beispiel 2018 eine HSZT erhielten, mit einer KontrollpatientIn gemacht zu werden, die 2015 transplantiert worden war, was den Effekt eines längeren Beobachtungszeitraum der PatientInnen der Beobachtungsgruppe aufgrund häufigerer RTX-Gaben in späteren Jahren zusätzlich verstärkte. Dieser Umstand wurde zwar teilweise im Matching berücksichtigt, jedoch nur in Fällen wo mehrere PatientInnen mit gleich vielen übereinstimmenden Matching Kriterien für eine/n RTX-PatientIn zur Auswahl standen.

Da die Mehrheit der RTX-PatientInnen RTX aufgrund einer EBV-Infektion erhielt und nur wenige PatientInnen in der Kontrollgruppe eine EBV-Infektion hatten, ist angesichts der geringen Stichprobengröße Vorsicht geboten, wenn es darum geht, zu entscheiden, ob die beobachteten Auswirkungen auf die EBV-Infektion oder die RTX-Behandlung zurückzuführen sind. Ein kausaler Zusammenhang zwischen den beobachteten Effekten und der EBV-Infektion ist jedoch höchst unwahrscheinlich, da frühere Studien zu RTX-Effekten ähnliche Effekte unabhängig von

einer EBV-Infektion zeigten und in der RTX-Gruppe keine Korrelation zwischen der EBV-Viruslast und den primären Endpunkten festgestellt werden konnte (**Abbildung 21**) (Adeli et al., 2009, Casulo et al., 2013, Choquet et al., 2006, Labrosse et al., 2021, Ottaviano et al., 2020).

4.2 B-Zell Schaden und Komplikationen nach RTX-Therapie

Obwohl Mismatches in Bezug auf die Faktoren Alter, Transplantat Manipulation und chronische GvHD als potenzielle Confounder/Störfaktoren bezüglich Immunrekonstitution vorliegen, bestätigt die dieser Dissertation zugrundeliegenden Studie zum ersten Mal in einer Kohorte mit n=44 Kindern und Jugendlichen, dass eine RTX-Therapie <365 Tage nach der HSZT zu einer signifikant verzögerten B-Zell-Erholung führt. Dies betrifft sowohl die B-Zell-Zahl als auch die Funktion, sodass eine verlängerte IgG-Substitution notwendig ist, um das Risiko sekundärer Komplikationen zu minimieren (**Abbildung 18 und 19**) (Choquet et al., 2006, Faye et al., 2001). Darüber hinaus deuten die Daten darauf hin, dass ein erhebliches Risiko besteht, eine anhaltende B-Zell-Schädigung über einen längeren Zeitraum von mindestens zwei Jahren nach HSZT zu entwickeln, wenn RTX innerhalb des ersten Jahres nach der Transplantation verabreicht wird. Dies ist eine Komplikation, die bisher nur in Fallberichten nach HSZT beschrieben wurde und die in den Fachinformationen für RTX-Arzneimittel nicht aufgeführt ist (Produktinformation, 2009, Luterbacher et al., 2021). Komplementär zu den Ergebnissen dieser Studie waren 17 von 53 Kindern aus der Studie von Ottaviano et al. mit Autoimmunzytopenien auf eine IgG-Substitution von länger als 365 Tage nach dem letzten RTX angewiesen und als Subgruppe mit persistenter Hypogammaglobulinämie/B-Zell-Schaden definiert worden. 9 aus diesen 17 PatientInnen wurde dann jedoch im Gegensatz zu der vorliegenden Studie ein primärer Immundefekt diagnostiziert, der erst durch die Anwendung von RTX klinisch imponiert hat. Zudem befanden sich diese Kinder nicht im Zustand nach einer HSZT. Bei 6 aus den 17 PatientInnen war die B-Zell-Erholung nach Ende derer Beobachtungszeiträume nicht abgeschlossen und alle 9 von den 17 PatientInnen aus der Subgruppe waren nach Abschluss des Beobachtungszeitraumes noch Ig-Substitutionspflichtig (53%). Im Einklang mit diesen Erkenntnissen über höhere RTX-Ansprechraten bei diesen PatientInnen, die eine persistierende Hypogammaglobulinämie in einem nicht HSZT-bedingten Umfeld entwickelten, liefert das auch in dieser Studie vorliegende Ergebnis eines verstärkten Ansprechens auf die RTX-Therapie in der RTX-Gruppe einen weiteren Beleg für die Hypothese einer erhöhten RTX-Empfindlichkeit zum Zeitpunkt der ersten RTX-Anwendung bei PatientInnen, die später eine persistierende B-Zell-Schädigung entwickeln werden (Ottaviano et al., 2020). Dies passt ebenso zu der Tatsache, dass keine Korrelation zwischen der Anzahl der erhaltenen RTX-Dosen und den Ergebnissen des primären Endpunkts festgestellt werden konnte (**Abbildung 21**).

Allerdings war es nicht möglich, abgesehen von einer Tendenz zu einem jüngeren Alter ähnlich zu den Ergebnissen von Ottaviano et al. spezifische Risikofaktoren zu identifizieren, die eine

RTX-Empfindlichkeit und eine Prädisposition für die Entwicklung einer anhaltenden oder persistierenden B-Zell-Schädigung zu einem späteren Zeitpunkt verursachen könnten (Ottaviano et al., 2020). Ein Aspekt, der hervorzuheben ist, ist, dass zwei der sechs PatientInnen, die weiterhin IVIG erhalten (Stand 30.06.2022), multimorbide PatientInnen mit schwerer und anhaltender chronischer GvHD und intensiver systemischer immunsuppressiver und steroidaler Behandlung sind. Dies könnte eine Situation sein, die die RTX-Empfindlichkeit fördert und die Erholung des Immunsystems nach Beendigung der RTX-Behandlung behindert. Im Gegensatz dazu gibt es jedoch auch 2 der 15 PatientInnen aus der RTX-Kontroll-Subgruppe mit chronischer GvHD, die innerhalb von 2 Jahren nach der RTX-Behandlung wieder normale IVIG-Spiegel erreichten. Die für diese Studie erhobenen Daten erlauben keinen Vergleich der chronischen GvHD- und Behandlungsintensität zwischen diesen PatientInnen. Hinsichtlich sekundärer infektiöser Komplikationen nach einer RTX-Behandlung sind die Ergebnisse bisher veröffentlichter Studien nicht einheitlich, und die Interpretation muss aufgrund der Fülle von Störfaktoren/Confoundern und der prophylaktischen Behandlung in Form einer IVIG-Substitution stets mit Vorsicht erfolgen. Im Gegensatz zu den Erkenntnissen von Arai et al. wurde in der vorliegenden Dissertation keine verringerte allogene B-Zell-Immunität und Inzidenz von chronischer GvHD festgestellt (Arai et al., 2012). Während die vorliegenden Ergebnisse im Einklang mit Petropoulou et al. auf ein erhöhtes Risiko für sekundäre bakterielle Infektionen und längere Rehospitalisierungsraten nach RTX-Behandlung hindeuten, ist jedoch zu beachten, dass in der RTX-Gruppe auch eine allgemein höhere Rate an Virusinfektionen gefunden wurde, unabhängig von der RTX-Behandlung ($p=0,008$) (Petropoulou et al., 2012). Signifikante Unterschiede zwischen der RTX- und der Kontrollgruppe in Bezug auf andere sekundäre infektiöse Komplikationen könnten daher auf dieses erhöhte allgemeine Risiko, an Virusinfektionen zu erkranken zurückzuführen sein, was auch zum Beispiel das Risiko für bakterielle Infektionen oder längere Hospitalisierung erhöht. Die erhöhte Anfälligkeit für virale Infektionen könnte zudem auch die verlängerte Rekonstitution der Thrombozyten und den dadurch einhergehenden erhöhten Transfusionsbedarf sowie die höhere Anzahl an Neutropenie Episoden erklären, da Virostatika bekanntermaßen myelosuppressiv wirken. Die höhere Virusinfektionsrate in der RTX-Gruppe könnte wiederum kausal mit einer höheren Rate von TZR $\alpha\beta$ -depletierten Transplantaten zusammenhängen. Auf der anderen Seite liegt eine RTX-bedingte erhöhte Wahrscheinlichkeit für bakterielle Infektionen durchaus nahe, da die Gruppenvergleiche für die „Anzahl der initiierten intravenösen antibiotischen Therapien“ ($p=0,006$) sowie die „Anzahl der PatientInnen mit positiven bakteriellen Blutkulturen“ ($p=0,029$) jeweils nicht vor, sondern nur nach der ersten RTX-Gabe deutlich signifikante Unterschiede zeigte. Dies geht einher mit der Erhöhung der „Kumulativen Dauer der Rehospitalisierungen nach

HSZT“ nach der ersten RTX-Gabe ($p=0,033$). Dieser Umstand wird außerdem verstärkt durch die Tatsache, dass sich der unterschiedlich häufige Einsatz von myelotoxischen und damit Infekt begünstigenden Virostatika auf den Zeitraum vor Beginn der RTX-Therapie begrenzt. (**Tabelle 5**). Insgesamt erscheint es damit höchst unwahrscheinlich, dass generell mehr Virusinfekte und vermehrter Einsatz von Virostatika allein die häufigeren bakteriellen Infekte nach Beginn der RTX-Therapie erklären können. Vielmehr ist auf Grundlage der hier gewonnenen Erkenntnisse in Zusammenschau mit der bekannten Literatur und pathophysiologischen Überlegungen davon auszugehen, dass die Verwendung von RTX nach HSZT das Risiko für bakterielle Infektionen in vielen Fällen vorübergehend, in einzelnen Fällen möglicherweise dauerhaft erhöht.

Zumindest in Bezug auf die Entwicklung einer GvHD oder das Gesamtüberleben wurde, anders als bei Arai et al. und Petropoulou et al. weder ein erhöhtes Risiko noch eine Schutzfunktion für RTX gefunden (**Abbildung 9**) (Arai et al., 2012, Petropoulou et al., 2012).

4.3 Schlussfolgerung und Implikationen für eine RTX-Gabe

Es kann zusammengefasst werden, dass eine RTX-Anwendung, kurz nach HSZT, ein nicht zu vernachlässigendes Risiko für anhaltende B-Zell-Schäden und sekundäre Komplikationen darstellt. Wie in der Einleitung erwähnt, können Kinder mit einer angeborenen Agammaglobulinämie/B-Zell-Mangel durch eine engmaschige IVIG-Substitution adäquat therapiert werden mit wenig Komplikationen und guten Überlebensraten (Amboss, 2022, Kalden and Eger, 2011). Durch die vielen weiteren behandlungsbedürftigen Implikationen nach einer HSZT, bedingt durch eine neu stattfindende Immunrekonstitution mit initial schwachen T-Zellen (vor allem bei T-Zell-depletierten Transplantaten), befindet sich die Kohorte an PatientInnen, die in dieser Studie untersucht wurden jedoch in einer ganz anderen Ausgangslage und es bleibt daher zweifelhaft, ob eine regelmäßige IVIG-Substitution das mit der RTX-Behandlung einhergehende ungünstige Nebenwirkungsprofil vollständig ausgleichen kann. Eine ähnliche Gesamtüberlebenszeit in der RTX- und Kontroll-Gruppe bekräftigt allerdings, dass eine IVIG-Substitution und adäquate Behandlung sekundärer Komplikationen in der Lage ist unmittelbare lebensbedrohliche Folgen zu verhindern. 38 % (Untergruppe 9 von 24) der RTX-PatientInnen in der vorliegenden Studie benötigten eine IgG-Substitution länger als 365 Tage nach Beendigung der RTX-Therapie bis zum Ende derer Beobachtungszeiträume - ein Zeitpunkt, zu dem keine PatientIn, die kein RTX erhielt, eine IgG-Substitution benötigte. Damit wird ein eindeutiges und relevantes Risiko von 20-40 % postuliert, eine besonders langanhaltende B-Zell-Schädigung bei der Anwendung von RTX innerhalb von 365 Tagen nach einer HSZT zu entwickeln. Neben dem erhöhten Risiko für sekundäre Komplikationen wie bakteriellen Infektionen ergibt sich dadurch eine erhebliche Einschränkung der Lebensqualität, da PatientInnen jahrelang, zum Teil wöchentliche, intravenöse oder subkutane Gaben von Immunglobulinen erhalten müssen, um das Infektionsrisiko zu kontrollieren. Dies bedeutet außerdem eine relevante Belastung der verfügbaren Ressourcen des Gesundheitssystems. Dieses Risiko sollte folglich in die Fachinformation aufgenommen und gemeinsam mit den beteiligten Ärzten, Erziehungsberechtigten und PatientInnen im Sinne eines shared-decision-makings erörtert werden, wenn die Einleitung einer RTX-Behandlung erwogen wird. Eine mögliche Lösung für anhaltende B-Zell-Schäden könnten Spenderstammzell-Boosts in Fällen ohne GvHD darstellen, die zwar den akuten Mangel nicht abmildern können, aber eine langfristige Abhängigkeit von Ig-Substitutionen verhindern und den anhaltenden B-Zell-Funktionsverlust aufheben könnten. Dies gelang in einem einzelnen in einer Studie publizierten Fall (Masjosthusmann et al., 2009).

In diesem Zusammenhang erscheint es ratsam, die anfängliche Indikation für eine RTX-Therapie sorgfältig zu stellen und es wird empfohlen, die RTX-Therapie generell nicht zu früh bei niedrigen EBV-Werten (zum Beispiel unter 10000 Kopien/ml) zu initiieren, sofern keine besonderen Risikofaktoren wie zum Beispiel ein sehr früher Zeitpunkt einer EBV-Infektion/Reaktivierung nach HSZT dafürsprechen. Bei den vorliegenden Daten war die EBV-Viruslast, bei der eine RTX-Therapie angefangen wurde, sehr variabel und reichte im Median von 13550-13700 Kopien/ml an Tag -1 und Tag 0 mit einer Spannweite von 0-1.770.000 Kopien/ml. Diese große Spannweite kann durch die Dynamik der EBV-Viruslast zustande kommen, wo zum Teil sprunghafte Anstiege der EBV-Werte innerhalb eines Tages entstehen können (Gulley and Tang, 2010, Styczynski and Giebel, 2019). Eine Viruslast von <10000 Kopien/ml wurde in der Kontrollgruppe konservativ behandelt. Daher wurden zwei Aspekte identifiziert, die eine Entscheidung für oder gegen eine RTX-Therapie in diesen Fällen beeinflusst haben könnten: Erstens könnten PatientInnen mit einer gleichzeitigen GvHD, die vor der ersten RTX-Applikation systemische Steroide bekommen haben, die Behandelnden dazu bewegt haben früher mit einer zusätzlich immunsuppressiv wirkenden RTX Therapie frühzeitig zu beginnen. Dies wird unterstützt von der Tatsache, dass zehn von den 19 PatientInnen (53%) aus der RTX-Gruppe, die mit systemischen Steroiden vor der ersten RTX-Gabe behandelt worden waren, die erste Dosis RTX bei einer Viruslast von <10000 Kopien/ml erhalten haben (**Abbildung 12**). Zweitens konnte gezeigt werden, dass der Zeitpunkt der ersten RTX-Dosis nach HSZT zur Behandlung von einer EBV-Infektion in der RTX-Gruppe signifikant früher aufgetreten ist als der Hochpunkt der EBV-Viruslast in der Kontroll-Gruppe (**Abbildung 10**). KlinikerInnen dürften dazu geneigt gewesen sein, mit der RTX-Behandlung zu warten, wenn die Immunrekonstitution nach HSZT bereits weiter fortgeschritten war, denn es ist bekannt, dass ein früherer Zeitpunkt der EBV-Infektion nach HSZT erhöht aufgrund der weniger weit fortgeschrittenen Immunrekonstitution das PTLD-Risiko deutlich erhöht (Enok Bonong et al., 2021, Gulley and Tang, 2010, Styczynski and Giebel, 2019, Styczynski et al., 2016). Damit ergibt sich die abschließende Empfehlung unter Berücksichtigung patientenindividueller Risikofaktoren (zum Beispiel GvHD) und dem Zeitpunkt des Auftretens einer EBV-Infektion, niedrigere-EBV-Viruslasten täglich zu überwachen und in diesen Situationen den Beginn einer RTX-Therapie täglich zu reevaluieren.

4.4 Ausblick

Die vorliegenden Ergebnisse bekräftigen nochmals die Dringlichkeit einer weiteren Eruiierung derjenigen Faktoren, die eine Empfindlichkeit gegenüber RTX bedingen könnten. Die genaue Bestimmung des individuellen Risikos jeder PatientIn, nach einer RTX-Therapie einen anhaltenden B-Zell-Schaden zu entwickeln, könnte dabei helfen, PatientInnen zu identifizieren, die für alternative Behandlungskonzepte wie zum Beispiel EBV-spezifische ZTZ oder DLI prädisponiert sind (Prockop et al., 2020, Qian et al., 2018).

Ein evidenzbasierter Behandlungsalgorithmus/ein Flussdiagramm für den optimalen Umgang mit EBV-Infektionen/Reaktivierungen als Hauptindikation von RTX nach HSZT wäre wünschenswert. Aus den folgenden Gründen liefert die vorliegende Studie jedoch nicht die notwendigen Beweise für einen solchen endgültigen Vorschlag: Erstens konzentrierte sich diese Studie in erster Linie auf die Auswirkungen von RTX während der Immunrestitution und die primären Endpunkte dieser Studie waren Endpunkte der Immunrestitution (B-Zell-, IgG-Erhöhung und letzte IgG-Gabe). Daher könnte ein endgültiger Vorschlag am Ende auf eine "watch and wait"-Strategie hinauslaufen, um das Risiko einer anhaltenden B-Zell-Schädigung zu vermeiden, die in dieser Studie die wichtigste Komplikation war. Gleichzeitig erlaubten der Studien-/Gruppenaufbau und die Kohortendaten keine umfassende Untersuchung der EBV-Behandlung und des individuellen Risikos der PTLD-Entwicklung. Es scheint, dass in der in dieser Studie untersuchten Kohorte RTX sehr frühzeitig präventiv eingesetzt wurde, was möglicherweise zu einer sehr niedrigen PTLD-Inzidenz und einer PTLD-Mortalität von Null führte. Allerdings, wie die Studie ergab, zu dem Preis einer relativ hohen Rate von PatientInnen mit anhaltenden B-Zell-Schäden. Um jedoch eine eindeutige evidenzbasierte Empfehlung aussprechen zu können, müssen auch Daten zum Ergebnis der PTLD-Behandlung gesammelt und analysiert werden, wenn RTX nicht präventiv, sondern erst nach der PTLD-Diagnose verabreicht wird. Dies konnte in dieser Kohorte aufgrund der geringen Anzahl von PTLD-Fällen, die alle präventiv RTX erhalten hatten, nicht untersucht werden. Weiterhin fehlt die Evidenz von Virostatika wie Ganciclovir oder Foscarnet, die in dieser Studienkohorte wiederholt zur EBV-Behandlung eingesetzt wurden. Da der Erfahrung nach viele Behandlungszentren dies ebenfalls tun, muss ihre Rolle als mögliche Alternative zu RTX im Rahmen einer EBV-Infektion/Reaktivierung nach HSCT weiter untersucht werden, bevor eine endgültige evidenzbasierte Empfehlung ausgesprochen werden kann. Ein weiterer Aspekt sind EBV-spezifische ZTZ, die eine weitere mögliche Behandlungsoption zu sein scheinen. Auch hier fehlen randomisierte klinische Studien für den frühen EBV-spezifischen ZTZ

anstelle von RTX und die Verfügbarkeit ist derzeit von Behandlungszentrum zu Behandlungszentrum sehr unterschiedlich.

Zusammenfassend wird diese Studie als systematischer Ansatz gesehen, um Hinweise auf relevante Komplikationen (insbesondere persistierende B-Zell-Schäden) nach einer RTX-Therapie zu liefern. Darüber hinaus wurden eine Reihe von Möglichkeiten zur Vermeidung dieser Komplikation vorgeschlagen (Untersuchung von Prädispositionen, alternative Behandlung: EBV-spezifische ZTZ, Abwarten und sorgfältigeres RTX-Timing). Es sollte nun also eine Folgestudie speziell auf die Frage ausgerichtet sein, welche dieser Möglichkeiten am besten geeignet sein könnte, um das Risiko zu reduzieren und schließlich einen Behandlungsalgorithmus für EBV-Infektionen/Reaktivierungen nach HSZT auszuarbeiten. Um das Risiko einer erhöhten PTLD-Mortalität zu verringern, sollte diese Studie auch eine Meta-Analyse der vorhandenen Daten zur Risikoreduktion der PTLD-Entwicklung durch präventive Behandlung für verschiedene Risikogruppen im Vergleich zur RTX-Behandlung nach der PTLD-Diagnose und einen internationalen und interdisziplinären Expertenkonsens über einen definitiven Behandlungsalgorithmus umfassen.

Referenzen

- ADELI, M. M., EICHNER, B. H., THORNBURG, C. & WILLIAMS, L. 2009. Persistent antibody depletion after rituximab in three children with autoimmune cytopenias. *Pediatr Hematol Oncol*, 26, 566-72.
- AL HAMED, R., BAZARBACHI, A. H. & MOHTY, M. 2020. Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disease (EBV-PTLD) in the setting of allogeneic stem cell transplantation: a comprehensive review from pathogenesis to forthcoming treatment modalities. *Bone Marrow Transplant*, 55, 25-39.
- AMBOSS. 2022. *Immunsystem* [Online]. Available: <https://next.amboss.com/de/article/x50Emg?q=immunsystem#Z933338e958fdad82836ad33a6e75e1667> [Aufgerufen am 15.08.2022 10:00].
- ANDREANI, M., GASPARI, S. & LOCATELLI, F. 2020. Human leucocyte antigen diversity: A biological gift to escape infections, no longer a barrier for haploidentical Hemopoietic Stem Cell Transplantation. *Int J Immunogenet*, 47, 34-40.
- ARAI, S. & MIKLOS, D. B. 2010. Rituximab in hematopoietic cell transplantation. *Expert Opin Biol Ther*, 10, 971-82.
- ARAI, S., SAHAF, B., NARASIMHAN, B., CHEN, G. L., JONES, C. D., LOWSKY, R., SHIZURU, J. A., JOHNSTON, L. J., LAPORT, G. G., WENG, W. K., BENJAMIN, J. E., SCHAENMAN, J., BROWN, J., RAMIREZ, J., ZEHNDER, J. L., NEGRIN, R. S. & MIKLOS, D. B. 2012. Prophylactic rituximab after allogeneic transplantation decreases B-cell alloimmunity with low chronic GVHD incidence. *Blood*, 119, 6145-54.
- ATKINSON, E. A. & BLEACKLEY, R. C. 1995. Mechanisms of lysis by cytotoxic T cells. *Crit Rev Immunol*, 15, 359-84.
- ATKINSON, K., BIGGS, J. C., DOWNS, K., JUTTNER, C., BRADSTOCK, K., LOWENTHAL, R. M., DALE, B. & SZER, J. 1991. GM-CSF after allogeneic bone marrow transplantation: accelerated recovery of neutrophils, monocytes and lymphocytes. *Aust N Z J Med*, 21, 686-92.
- AYUK, F. & BALDUZZI, A. 2019. The EBMT Handbook. In: CARRERAS, E., MOHTY, M., DUFOUR, C. & KRÖGER, N. (eds.) *Donor Selection for Adults and Pediatrics*. Springer Cham. S.87-97. https://doi.org/10.1007/978-3-030-02278-5_12 [Aufgerufen am 10.09.2022 20:30].
- BADER, P. 2019. The EBMT Handbook. In: CARRERAS, E., MOHTY, M., DUFOUR, C. & KRÖGER, N. (eds.) *Documentation of Engraftment and Chimerism after HSCT*. Springer Cham. S.143-147. https://doi.org/10.1007/978-3-030-02278-5_20 [Aufgerufen am 10.09.2022 20:30].
- BAE, K. W., KIM, B. E., KOH, K. N., IM, H. J. & SEO, J. J. 2012. Factors influencing lymphocyte reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children. *Korean J Hematol*, 47, 44-52.
- BANCHEREAU, J. & ROUSSET, F. 1992. Human B lymphocytes: phenotype, proliferation, and differentiation. *Adv Immunol*, 52, 125-262.
- BARRIGA, F., RAMÍREZ, P., WIETSTRUCK, A. & ROJAS, N. 2012. Hematopoietic stem cell transplantation: clinical use and perspectives. *Biol Res*, 45, 307-16.
- BARTELINK, I. H., BELITSER, S. V., KNIBBE, C. A., DANHOF, M., DE PAGTER, A. J., EGBERTS, T. C. & BOELEN, J. J. 2013. Immune reconstitution kinetics as an early predictor for mortality using various hematopoietic stem cell sources in children. *Biol Blood Marrow Transplant*, 19, 305-13.
- BENSINGER, W. I., CLIFT, R., MARTIN, P., APPELBAUM, F. R., DEMIRER, T., GOOLEY, T., LILLEBY, K., ROWLEY, S., SANDERS, J., STORB, R. & BUCKNER, C. D. 1996. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in patients with advanced

- hematologic malignancies: a retrospective comparison with marrow transplantation. *Blood*, 88, 2794-800.
- BERGHEN, N., VULSTEKE, J. B., WESTHOVENS, R., LENAERTS, J. & DE LANGHE, E. 2019. Rituximab in systemic autoimmune rheumatic diseases: indications and practical use. *Acta Clin Belg*, 74, 272-279.
- BOOTH, C., LAWSON, S. & VEYS, P. 2013. The current role of T cell depletion in paediatric stem cell transplantation. *Br J Haematol*, 162, 177-90.
- BOSCH, M., DHADDA, M., HOEGH-PETERSEN, M., LIU, Y., HAGEL, L. M., PODGORNÝ, P., UGARTE-TORRES, A., KHAN, F. M., LUIDER, J., AUER-GRZESIAK, I., MANSOOR, A., RUSSELL, J. A., DALY, A., STEWART, D. A., MALONEY, D., BOECKH, M. & STOREK, J. 2012. Immune reconstitution after anti-thymocyte globulin-conditioned hematopoietic cell transplantation. *Cytotherapy*, 14, 1258-75.
- BUSER, A., STERN, M., ARBER, C., MEDINGER, M., HALTER, J., ROVO, A., FAVRE, G., LOHRI, A., TICHELLI, A. & GRATWOHL, A. 2008. Impaired B-cell reconstitution in lymphoma patients undergoing allogeneic HSCT: an effect of pretreatment with rituximab? *Bone Marrow Transplant*, 42, 483-7.
- CALVI, L. M. & LINK, D. C. 2015. The hematopoietic stem cell niche in homeostasis and disease. *Blood*, 126, 2443-51.
- CASULO, C., MARAGULIA, J. & ZELENETZ, A. D. 2013. Incidence of hypogammaglobulinemia in patients receiving rituximab and the use of intravenous immunoglobulin for recurrent infections. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 13, 106-11.
- CHARRIER, E., CORDEIRO, P., BRITO, R. M., MEZZIANI, S., HERBLOT, S., LE DEIST, F. & DUVAL, M. 2013. Reconstitution of maturing and regulatory lymphocyte subsets after cord blood and BMT in children. *Bone Marrow Transplant*, 48, 376-82.
- CHEN, D. M., ODUYUNGBO, A., CSINADY, E., GEARHART, L., LEHANE, P., CHEU, M., MAHO-VAILLANT, M., PROST-SQUARCIONI, C., HEBERT, V., HOUIVET, E., CALBO, S., CAILLOT, F., GOLINSKI, M. L., LABELLE, B., PICARD-DAHAN, C., PAUL, C., RICHARD, M. A., BOUAZIZ, J. D., DUVERT-LEHEMBRE, S., BERNARD, P., CAUX, F., ALEXANDRE, M., INGEN-HOUSZ-ORO, S., VABRES, P., DELAPORTE, E., QUEREUX, G., DUPUY, A., DEBARBIEUX, S., AVENEL-AUDRAN, M., D'INCAN, M., BEDANE, C., BÉNÉTON, N., JULLIEN, D., DUPIN, N., MISERY, L., MACHET, L., BEYLOT-BARRY, M., DEREURE, O., SASSOLAS, B., BENICHO, J., MUSETTE, P. & JOLY, P. 2020. Rituximab is an effective treatment in patients with pemphigus vulgaris and demonstrates a steroid-sparing effect. *Br J Dermatol*, 182, 1111-1119.
- CHOQUET, S., LEBLOND, V., HERBRECHT, R., SOCIÉ, G., STOPPA, A. M., VANDENBERGHE, P., FISCHER, A., MORSCHHAUSER, F., SALLES, G., FEREMANS, W., VILMER, E., PERALDI, M. N., LANG, P., LEBRANCHU, Y., OKSENHENDLER, E., GARNIER, J. L., LAMY, T., JACCARD, A., FERRANT, A., OFFNER, F., HERMINE, O., MOREAU, A., FAFI-KREMER, S., MORAND, P., CHATENAUD, L., BERRIOT-VAROQUEAUX, N., BERGOUGNOUX, L. & MILPIED, N. 2006. Efficacy and safety of rituximab in B-cell post-transplantation lymphoproliferative disorders: results of a prospective multicenter phase 2 study. *Blood*, 107, 3053-7.
- CONIGLIARO, P., TRIGGIANESE, P., BALLANTI, E., PERRICONE, C., PERRICONE, R. & CHIMENTI, M. S. 2019. Complement, infection, and autoimmunity. *Curr Opin Rheumatol*, 31, 532-541.
- CORNISH, J. M. 2008. JACIE accreditation in paediatric haemopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*, 42 Suppl 2, S82-6.

- CRANE, G. M., JEFFERY, E. & MORRISON, S. J. 2017. Adult haematopoietic stem cell niches. *Nat Rev Immunol*, 17, 573-590.
- CURTIS, R. E., TRAVIS, L. B., ROWLINGS, P. A., SOCIÉ, G., KINGMA, D. W., BANKS, P. M., JAFFE, E. S., SALE, G. E., HOROWITZ, M. M., WITHERSPOON, R. P., SHRINER, D. A., WEISDORF, D. J., KOLB, H. J., SULLIVAN, K. M., SOBOCINSKI, K. A., GALE, R. P., HOOVER, R. N., FRAUMENI, J. F., JR. & DEEG, H. J. 1999. Risk of lymphoproliferative disorders after bone marrow transplantation: a multi-institutional study. *Blood*, 94, 2208-16.
- DE KONING, C., PLANTINGA, M., BESSELING, P., BOELENS, J. J. & NIERKENS, S. 2016. Immune Reconstitution after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation in Children. *Biol Blood Marrow Transplant*, 22, 195-206.
- DE VRIES, E., VAN TOL, M. J., VAN DEN BERGH, R. L., WAAIJER, J. L., TEN DAM, M. M., HERMANS, J. & VOSSSEN, J. M. 2000. Reconstitution of lymphocyte subpopulations after paediatric bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 25, 267-75.
- DONG, C. 2021. Cytokine Regulation and Function in T Cells. *Annu Rev Immunol*, 39, 51-76.
- EBMT-HANDBOOK 2019. The EBMT Handbook. In: CARRERAS, E., DUFOUR, C., MOHTY, M. & KRÖGER, N. (eds.). Springer Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-02278-5> [Aufgerufen am 10.09.2022 20:30].
- EMA, H. & NAKAUCHI, H. 2000. Expansion of hematopoietic stem cells in the developing liver of a mouse embryo. *Blood*, 95, 2284-8.
- ENOK BONONG, P. R., BUTEAU, C., DUVAL, M., LACROIX, J., LAPORTE, L., TUCCI, M., ROBITAILLE, N., SPINELLA, P. C., CUVELIER, G. D. E., LEWIS, V., VERCAUTEREN, S., ALFIERI, C. & TROTTIER, H. 2021. Risk factors for post-transplant Epstein-Barr virus events in pediatric recipients of hematopoietic stem cell transplants. *Pediatr Transplant*, 25, e14052.
- EYRICH, M., LEILER, C., LANG, P., SCHILBACH, K., SCHUMM, M., BADER, P., GREIL, J., KLINGEBIEL, T., HANDGRETINGER, R., NIETHAMMER, D. & SCHLEGEL, P. G. 2003. A prospective comparison of immune reconstitution in pediatric recipients of positively selected CD34+ peripheral blood stem cells from unrelated donors vs recipients of unmanipulated bone marrow from related donors. *Bone Marrow Transplant*, 32, 379-90.
- FAYE, A., QUARTIER, P., REGUERRE, Y., LUTZ, P., CARRET, A. S., DEHÉE, A., ROHRLICH, P., PEUCHMAUR, M., MATTHIEU-BOUÉ, A., FISCHER, A. & VILMER, E. 2001. Chimaeric anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) in post-transplant B-lymphoproliferative disorder following stem cell transplantation in children. *Br J Haematol*, 115, 112-8.
- FEDERMANN, B., BORNHAUSER, M., MEISNER, C., KORDELAS, L., BEELEN, D. W., STUHLER, G., STELLJES, M., SCHWERDTFEGER, R., CHRISTOPEIT, M., BEHRE, G., FAUL, C., VOGEL, W., SCHUMM, M., HANDGRETINGER, R., KANZ, L. & BETHGE, W. A. 2012. Haploidentical allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults using CD3/CD19 depletion and reduced intensity conditioning: a phase II study. *Haematologica*, 97, 1523-31.
- FU, J., HEINRICHS, J. & YU, X. Z. 2014. Helper T-cell differentiation in graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 62, 277-301.
- GABAY, C. & KUSHNER, I. 1999. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med*, 340, 448-54.
- GEKAS, C., DIETERLEN-LIÈVRE, F., ORKIN, S. H. & MIKKOLA, H. K. 2005. The placenta is a niche for hematopoietic stem cells. *Dev Cell*, 8, 365-75.

- GLASS, B., HASENKAMP, J., WULF, G., DREGER, P., PFREUNDSCHUH, M., GRAMATZKI, M., SILLING, G., WILHELM, C., ZEIS, M., GÖRLITZ, A., PFEIFFER, S., HILGERS, R., TRUEMPER, L. & SCHMITZ, N. 2014. Rituximab after lymphoma-directed conditioning and allogeneic stem-cell transplantation for relapsed and refractory aggressive non-Hodgkin lymphoma (DSHNHL R3): an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet Oncol*, 15, 757-66.
- GORIN, N. C. 2019. The EBMT Handbook. In: CARRERAS, E., MOHTY, M., DUFOUR, C. & KRÖGER, N. (eds.) *Bone Marrow Harvesting for HSCT*. Springer Cham. S.109-115. https://doi.org/10.1007/978-3-030-02278-5_14 [Aufgerufen am 10.09.2022 20:30].
- GRANT, J. S., KINNEY, M. & GUZZETTA, C. E. 1990. Using magnitude estimation scaling to examine the validity of nursing diagnoses. *Nurs Diagn*, 1, 64-9.
- GUILLAUME, T., RUBINSTEIN, D. B. & SYMANN, M. 1998. Immune reconstitution and immunotherapy after autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 92, 1471-90.
- GULLEY, M. L. & TANG, W. 2010. Using Epstein-Barr viral load assays to diagnose, monitor, and prevent posttransplant lymphoproliferative disorder. *Clin Microbiol Rev*, 23, 350-66.
- HANDGRETINGER, R., KLINGEBIEL, T., LANG, P., SCHUMM, M., NEU, S., GEISELHART, A., BADER, P., SCHLEGEL, P. G., GREIL, J., STACHEL, D., HERZOG, R. J. & NIETHAMMER, D. 2001. Megadose transplantation of purified peripheral blood CD34(+) progenitor cells from HLA-mismatched parental donors in children. *Bone Marrow Transplant*, 27, 777-83.
- HUBER, T. L., KOUSKOFF, V., FEHLING, H. J., PALIS, J. & KELLER, G. 2004. Haemangioblast commitment is initiated in the primitive streak of the mouse embryo. *Nature*, 432, 625-30.
- INSTITUTE, N. C. 2014. *Using the Immune System in the Fight Against Cancer: Discovery of Rituximab* [Online]. Available: <https://www.cancer.gov/research/progress/discovery/blood-cancer> [Aufgerufen am 15.07.2022 11:00].
- JÄGER, U., BARCELLINI, W., BROOME, C. M., GERTZ, M. A., HILL, A., HILL, Q. A., JILMA, B., KUTER, D. J., MICHEL, M., MONTILLO, M., RÖTH, A., ZEERLEDER, S. S. & BERENTSEN, S. 2020. Diagnosis and treatment of autoimmune hemolytic anemia in adults: Recommendations from the First International Consensus Meeting. *Blood Rev*, 41, 100648.
- KALDEN, J. R. & EGER, G. 2011. Erhöhte Infektanfälligkeit – primäre und sekundäre Immundefekte. In: GRETEN, H., RINNINGER, F. & GRETEN, T. (eds.) *Innere Medizin*. 13. Auflage ed.: Thieme Verlag KG. <https://eref.thieme.de/G9AQ5> [Aufgerufen am 25.09.2022 19:13].
- KÄRRE, K. 1995. Express yourself or die: peptides, MHC molecules, and NK cells. *Science*, 267, 978-9.
- KAYNAR, L., DEMIR, K., TURAK, E. E., ÖZTÜRK Ç, P., ZARARSIZ, G., GÖNEN, Z. B., GÖKAHMETOĞLU, S., ŞIVGIN, S., ESER, B., KÖKER, Y., SOLMAZ, M., ÜNAL, A. & ÇETIN, M. 2017. TcR $\alpha\beta$ -depleted haploidentical transplantation results in adult acute leukemia patients. *Hematology*, 22, 136-144.
- KIM, B. K., KANG, H. J., HONG, K. T., AN, H. Y., CHOI, J. Y., LEE, J. S., PARK, S. S. & SHIN, H. Y. 2019. Successful preemptive therapy with single-dose rituximab for Epstein-Barr virus infection to prevent post-transplant lymphoproliferative disease after pediatric hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis*, 21, e13182.
- KÖHLER, G. & MILSTEIN, C. 1975. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, 256, 495-7.

- KOOK, H., GOLDMAN, F., PADLEY, D., GILLER, R., RUMELHART, S., HOLIDA, M., LEE, N., PETERS, C., COMITO, M., HULING, D. & TRIGG, M. 1996. Reconstruction of the immune system after unrelated or partially matched T-cell-depleted bone marrow transplantation in children: immunophenotypic analysis and factors affecting the speed of recovery. *Blood*, 88, 1089-97.
- KÜHN, H. 2018. Kommunikation, Signaltransduktion, Immunabwehr: 24 Immunsystem. In: PÜSCHEL, G. P., KÜHN, H., KIETZMANN, T., HÖHNE, W., CHRIST, B., DOENECKE, D. & KOOLMAN, J. (eds.) *Taschenlehrbuch Biochemie*. 2. Auflage ed.: Georg Thieme Verlag KG. S.666 & 669.
https://eref.thieme.de/ebooks/2384887#/ebook_2384887_SL82935901 [Aufgerufen am 24.09.2022 22:00].
- LA FATA, G., WEBER, P. & MOHAJERI, M. H. 2018. Probiotics and the Gut Immune System: Indirect Regulation. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 10, 11-21.
- LABROSSE, R., BARMETTLER, S., DERFALVI, B., BLINCOE, A., CROS, G., LACOMBE-BARRIOS, J., BARSALOU, J., YANG, N., ALRUMAYYAN, N., SINCLAIR, J., ONG, M. S., CAMARGO, C. A., JR., WALTER, J. & HADDAD, E. 2021. Rituximab-induced hypogammaglobulinemia and infection risk in pediatric patients. *J Allergy Clin Immunol*, 148, 523-532.e8.
- LANG, P., FEUCHTINGER, T., TELTSCHIK, H. M., SCHWINGER, W., SCHLEGEL, P., PFEIFFER, M., SCHUMM, M., LANG, A. M., LANG, B., SCHWARZE, C. P., EBINGER, M., URBAN, C. & HANDGRETINGER, R. 2015. Improved immune recovery after transplantation of TCR $\alpha\beta$ /CD19-depleted allografts from haploidentical donors in pediatric patients. *Bone Marrow Transplant*, 50 Suppl 2, S6-10.
- LANG, P., TELTSCHIK, H. M., FEUCHTINGER, T., MÜLLER, I., PFEIFFER, M., SCHUMM, M., EBINGER, M., SCHWARZE, C. P., GRUHN, B., SCHRAUDER, A., ALBERT, M. H., GREIL, J., URBAN, C. & HANDGRETINGER, R. 2014. Transplantation of CD3/CD19 depleted allografts from haploidentical family donors in paediatric leukaemia. *Br J Haematol*, 165, 688-98.
- LEE, W. J., LEE, S. T., SHIN, Y. W., LEE, H. S., SHIN, H. R., KIM, D. Y., KIM, S., LIM, J. A., MOON, J., PARK, K. I., KIM, H. S., CHU, K. & LEE, S. K. 2021. Teratoma Removal, Steroid, IVIG, Rituximab and Tocilizumab (T-SIRT) in Anti-NMDAR Encephalitis. *Neurotherapeutics*, 18, 474-487.
- LINDEMANS, C. A., CHIESA, R., AMROLIA, P. J., RAO, K., NIKOLAJEVA, O., DE WILDT, A., GERHARDT, C. E., GILMOUR, K. C., M, B. B., VEYS, P. & BOELENS, J. J. 2014. Impact of thymoglobulin prior to pediatric unrelated umbilical cord blood transplantation on immune reconstitution and clinical outcome. *Blood*, 123, 126-32.
- LOCATELLI, F., MERLI, P., PAGLIARA, D., LI PIRA, G., FALCO, M., PENDE, D., RONDELLI, R., LUCARELLI, B., BRESCIA, L. P., MASETTI, R., MILANO, G. M., BERTAINA, V., ALGERI, M., PINTO, R. M., STROCCHIO, L., MEAZZA, R., GRAPULIN, L., HANDGRETINGER, R., MORETTA, A., BERTAINA, A. & MORETTA, L. 2017. Outcome of children with acute leukemia given HLA-haploidentical HSCT after $\alpha\beta$ T-cell and B-cell depletion. *Blood*, 130, 677-685.
- LUTERBACHER, F., BERNARD, F., BALEYDIER, F., RANZA, E., JANDUS, P. & BLANCHARD-ROHNER, G. 2021. Case Report: Persistent Hypogammaglobulinemia More Than 10 Years After Rituximab Given Post-HSCT. *Front Immunol*, 12, 773853.
- MARIS, J. M. 2010. Recent advances in neuroblastoma. *N Engl J Med*, 362, 2202-11.
- MASCHAN, M., SHELIKHOVA, L., ILUSHINA, M., KURNIKOVA, E., BOYAKOVA, E., BALASHOV, D., PERSIANTSEVA, M., SKVORTSOVA, Y., LABERKO, A., MUZALEVSKII, Y., KAZACHENOK, A., GLUSHKOVA, S., BOBRYNINA, V., KALININA, V., OLSHANSKAYA, Y., BAIDILDINA, D., NOVICHKOVA, G. &

- MASCHAN, A. 2016. TCR-alpha/beta and CD19 depletion and treosulfan-based conditioning regimen in unrelated and haploidentical transplantation in children with acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant*, 51, 668-74.
- MASJOSTHUSMANN, K., EHLERT, K., EING, B. R., ROTH, J., KOEHLER, G., JUERGENS, H., FRUEHWALD, M. & GROLL, A. H. 2009. Delay in B-lymphocyte recovery and function following rituximab for EBV-associated lymphoproliferative disease early post-allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*, 43, 679-84.
- MAURI, C. & BOSMA, A. 2012. Immune regulatory function of B cells. *Annu Rev Immunol*, 30, 221-41.
- MCCOMB, S., THIRIOT, A., AKACHE, B., KRISHNAN, L. & STARK, F. 2019. Introduction to the Immune System. *Methods Mol Biol*, 2024, 1-24.
- MCLAUGHLIN, P., WHITE, C. A., GRILLO-LÓPEZ, A. J. & MALONEY, D. G. 1998. Clinical status and optimal use of rituximab for B-cell lymphomas. *Oncology (Williston Park)*, 12, 1763-9; discussion 1769-70, 1775-7.
- MICHONNEAU, D. & SOCIÉ, G. 2019. The EBMT Handbook. In: CARRERAS, E., MOHTY, M., DUFOUR, C. & KRÖGER, N. (eds.) *GvHD Prophylaxis (Immunosuppression)*. Springer Cham.
- MILLER, R. A., MALONEY, D. G., WARNKE, R. & LEVY, R. 1982. Treatment of B-cell lymphoma with monoclonal anti-idiotypic antibody. *N Engl J Med*, 306, 517-22.
- NADLER, L. M., STASHENKO, P., HARDY, R., KAPLAN, W. D., BUTTON, L. N., KUFE, D. W., ANTMAN, K. H. & SCHLOSSMAN, S. F. 1980. Serotherapy of a patient with a monoclonal antibody directed against a human lymphoma-associated antigen. *Cancer Res*, 40, 3147-54.
- NAGLER, A. & SHIMONI, A. 2019. The EBMT Handbook. In: CARRERAS, E., MOHTY, M., DUFOUR, C. & KRÖGER, N. (eds.) *Conditioning*. Springer Cham.
- NGUYEN, A. V. & SOULIKA, A. M. 2019. The Dynamics of the Skin's Immune System. *Int J Mol Sci*, 20.
- NIETHAMMER, D., BADER, P., HANDGRETINGER, R. & KLINGEBIEL, T. 2013. Stem cell transplantation. *Klin Padiatr*, 225 Suppl 1, S94-8.
- NOMBELA-ARRIETA, C., PIVARNIK, G., WINKEL, B., CANTY, K. J., HARLEY, B., MAHONEY, J. E., PARK, S. Y., LU, J., PROTOPOPOV, A. & SILBERSTEIN, L. E. 2013. Quantitative imaging of haematopoietic stem and progenitor cell localization and hypoxic status in the bone marrow microenvironment. *Nat Cell Biol*, 15, 533-43.
- OKAMURA, K., DIJKSTRA, J. M., TSUKAMOTO, K., GRIMHOLT, U., WIEGERTJES, G. F., KONDOW, A., YAMAGUCHI, H. & HASHIMOTO, K. 2021. Discovery of an ancient MHC category with both class I and class II features. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 118.
- OKEKE, E. B. & UZONNA, J. E. 2019. The Pivotal Role of Regulatory T Cells in the Regulation of Innate Immune Cells. *Frontiers in Immunology*, 10.
- OLKINUORA, H., VON WILLEBRAND, E., KANTELE, J. M., VAINIO, O., TALVENSAARI, K., SAARINEN-PIHKALA, U., SIITONEN, S. & VETTENRANTA, K. 2011. The impact of early viral infections and graft-versus-host disease on immune reconstitution following paediatric stem cell transplantation. *Scand J Immunol*, 73, 586-93.
- OSHRINE, B. R., LI, Y., TEACHEY, D. T., HEIMALL, J., BARRETT, D. M. & BUNIN, N. 2013. Immunologic recovery in children after alternative donor allogeneic transplantation for hematologic malignancies: comparison of recipients of partially T cell-depleted peripheral blood stem cells and umbilical cord blood. *Biol Blood Marrow Transplant*, 19, 1581-9.

- OTTAVIANO, G., MARINONI, M., GRAZIANI, S., SIBSON, K., BARZAGHI, F., BERTOLINI, P., CHINI, L., CORTI, P., CANCRINI, C., D'ALBA, I., GABELLI, M., GALLO, V., GIANCOTTA, C., GIORDANO, P., LASSANDRO, G., MARTIRE, B., ANGARANO, R., MASTRODICASA, E., BAVA, C., MIANO, M., NAVIGLIO, S., VERZEGNASSI, F., SARACCO, P., TRIZZINO, A., BIONDI, A., PIGNATA, C. & MOSCHESE, V. 2020. Rituximab Unveils Hypogammaglobulinemia and Immunodeficiency in Children with Autoimmune Cytopenia. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 8, 273-282.
- PARKIN, J. & COHEN, B. 2001. An overview of the immune system. *Lancet*, 357, 1777-89.
- PETROPOULOU, A. D., PORCHER, R., PEFFAULT DE LATOUR, R., XHAARD, A., WEISDORF, D., RIBAUD, P., RODRIGUEZ-OTERO, P., AGBALIKA, F., TALBOT, A., TOUBERT, A., MOINS-TEISSERENC, H., CARMAGNAT, M., SOCIÉ, G. & ROBIN, M. 2012. Increased infection rate after preemptive rituximab treatment for Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation*, 94, 879-83.
- PRESS, O. W., APPELBAUM, F., LEDBETTER, J. A., MARTIN, P. J., ZARLING, J., KIDD, P. & THOMAS, E. D. 1987. Monoclonal antibody 1F5 (anti-CD20) serotherapy of human B cell lymphomas. *Blood*, 69, 584-91.
- PROCKOP, S., DOUBROVINA, E., SUSER, S., HELLER, G., BARKER, J., DAHI, P., PERALES, M. A., PAPADOPOULOS, E., SAUTER, C., CASTRO-MALASPINA, H., BOULAD, F., CURRAN, K. J., GIRALT, S., GYURKOCZA, B., HSU, K. C., JAKUBOWSKI, A., HANASH, A. M., KERNAN, N. A., KOBOS, R., KOEHNE, G., LANDAU, H., PONCE, D., SPITZER, B., YOUNG, J. W., BEHR, G., DUNPHY, M., HAQUE, S., TERUYA-FELDSTEIN, J., ARCILA, M., MOUNG, C., HSU, S., HASAN, A. & O'REILLY, R. J. 2020. Off-the-shelf EBV-specific T cell immunotherapy for rituximab-refractory EBV-associated lymphoma following transplantation. *J Clin Invest*, 130, 733-747.
- PRODUKTINFORMATION. 2009. *MabThera (rituximab)* [Online]. European Medicines Agency. Available: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/mabthera#product-information-section> [Aufgerufen am 16.02.2022 10:30].
- QIAN, C., WANG, Y., REPEL, L., D'AVENI, M., CAMPIDELLI, A., DECOT, V. & BENSOUSSAN, D. 2018. Viral-specific T-cell transfer from HSCT donor for the treatment of viral infections or diseases after HSCT. *Bone Marrow Transplant*, 53, 114-122.
- REMBERGER, M., RINGDÉN, O., LJUNGMAN, P., HÄGGLUND, H., WINIARSKI, J., LÖNNQVIST, B. & ASCHAN, J. 1998. Booster marrow or blood cells for graft failure after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 22, 73-8.
- RÉNARD, C., BARLOGIS, V., MIALOU, V., GALAMBRUN, C., BERNOUX, D., GOUTAGNY, M. P., GLASMAN, L., LOUNDOU, A. D., POITEVIN-LATER, F., DIGNAT-GEORGE, F., DUBOIS, V., PICARD, C., CHABANNON, C., BERTRAND, Y. & MICHEL, G. 2011. Lymphocyte subset reconstitution after unrelated cord blood or bone marrow transplantation in children. *Br J Haematol*, 152, 322-30.
- RIBOT, J. C., LOPES, N. & SILVA-SANTOS, B. 2021. $\gamma\delta$ T cells in tissue physiology and surveillance. *Nat Rev Immunol*, 21, 221-232.
- RINGHOFFER, M., WIESNETH, M., HARSDORF, S., SCHLENK, R. F., SCHMITT, A., REINHARDT, P. P., MOESSNER, M., GRIMMINGER, W., MERTENS, T., RESKE, S. N., DÖHNER, H. & BUNJES, D. 2004. CD34 cell selection of peripheral blood progenitor cells using the CliniMACS device for allogeneic transplantation: clinical results in 102 patients. *Br J Haematol*, 126, 527-35.

- SALLES, G., BARRETT, M., FOÀ, R., MAURER, J., O'BRIEN, S., VALENTE, N., WENGER, M. & MALONEY, D. G. 2017. Rituximab in B-Cell Hematologic Malignancies: A Review of 20 Years of Clinical Experience. *Adv Ther*, 34, 2232-2273.
- SALLUSTO, F., GEGINAT, J. & LANZAVECCHIA, A. 2004. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance. *Annu Rev Immunol*, 22, 745-63.
- SATTLER, S. 2017. The Role of the Immune System Beyond the Fight Against Infection. *Adv Exp Med Biol*, 1003, 3-14.
- SCHOFIELD, R. 1978. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells*, 4, 7-25.
- SCHUMM, M., LANG, P. & HANDGRETINGER, R. 2019. The EBMT Handbook. In: CARRERAS, E., MOHTY, M., DUFOUR, C. & KRÖGER, N. (eds.) *Graft Manipulation*. Springer Cham. S.137-142. https://doi.org/10.1007/978-3-030-02278-5_19 [Aufgerufen am 10.09.2022 20:30].
- SIMONSEN, O., BENTZON, M. W. & HERON, I. 1986. ELISA for the routine determination of antitoxic immunity to tetanus. *J Biol Stand*, 14, 231-9.
- SINGAVI, A. K., HARRINGTON, A. M. & FENSKE, T. S. 2015. Post-transplant lymphoproliferative disorders. *Cancer Treat Res*, 165, 305-27.
- SIPKINS, D. A., WEI, X., WU, J. W., RUNNELS, J. M., CÔTÉ, D., MEANS, T. K., LUSTER, A. D., SCADDEN, D. T. & LIN, C. P. 2005. In vivo imaging of specialized bone marrow endothelial microdomains for tumour engraftment. *Nature*, 435, 969-73.
- SMALL, T. N., ROBINSON, W. H. & MIKLOS, D. B. 2009. B cells and transplantation: an educational resource. *Biol Blood Marrow Transplant*, 15, 104-13.
- SMITH, M. R. 2003. Rituximab (monoclonal anti-CD20 antibody): mechanisms of action and resistance. *Oncogene*, 22, 7359-68.
- SOLOMON, S. R., SIZEMORE, C. A., RIDGEWAY, M., ZHANG, X., BROWN, S., HOLLAND, H. K., MORRIS, L. E., SOLH, M. & BASHEY, A. 2019. Safety and efficacy of rituximab-based first line treatment of chronic GVHD. *Bone Marrow Transplant*, 54, 1218-1226.
- SPANGLER, J. B., MORAGA, I., MENDOZA, J. L. & GARCIA, K. C. 2015. Insights into cytokine-receptor interactions from cytokine engineering. *Annu Rev Immunol*, 33, 139-67.
- SPENCER, J. A., FERRARO, F., ROUSSAKIS, E., KLEIN, A., WU, J., RUNNELS, J. M., ZAHER, W., MORTENSEN, L. J., ALT, C., TURCOTTE, R., YUSUF, R., CÔTÉ, D., VINOGRADOV, S. A., SCADDEN, D. T. & LIN, C. P. 2014. Direct measurement of local oxygen concentration in the bone marrow of live animals. *Nature*, 508, 269-73.
- STASI, R., STIPA, E., DEL POETA, G., AMADORI, S., NEWLAND, A. C. & PROVAN, D. 2006. Long-term observation of patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis treated with rituximab. *Rheumatology (Oxford)*, 45, 1432-6.
- STYCZYNSKI, J. & GIEBEL, S. 2019. The EBMT Handbook. In: CARRERAS, E., MOHTY, M., DUFOUR, C. & KRÖGER, N. (eds.) *Post transplant Lymphoproliferative Syndromes*. Springer Cham. S.347-352. https://doi.org/10.1007/978-3-030-02278-5_45 [Aufgerufen am 10.09.2022 20:30].
- STYCZYNSKI, J., GIL, L., TRIDELLO, G., LJUNGMAN, P., DONNELLY, J. P., VAN DER VELDEN, W., OMAR, H., MARTINO, R., HALKES, C., FARACI, M., THEUNISSEN, K., KALWAK, K., HUBACEK, P., SICA, S., NOZZOLI, C., FAGIOLI, F., MATTHES, S., DIAZ, M. A., MIGLIAVACCA, M., BALDUZZI, A., TOMASZEWSKA, A., CAMARA RDE, L., VAN BIEZEN, A., HOEK, J., IACOBELLI, S., EINSELE, H. & CESARO, S. 2013. Response to rituximab-based therapy and risk factor analysis in Epstein Barr Virus-related lymphoproliferative disorder after hematopoietic stem cell

- transplant in children and adults: a study from the Infectious Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Clin Infect Dis*, 57, 794-802.
- STYCZYNSKI, J., VAN DER VELDEN, W., FOX, C. P., ENGELHARD, D., DE LA CAMARA, R., CORDONNIER, C. & LJUNGMAN, P. 2016. Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematologica*, 101, 803-11.
- THOMAS, E., STORB, R., CLIFT, R. A., FEFER, A., JOHNSON, F. L., NEIMAN, P. E., LERNER, K. G., GLUCKSBERG, H. & BUCKNER, C. D. 1975a. Bone-marrow transplantation (first of two parts). *N Engl J Med*, 292, 832-43.
- THOMAS, E. D., STORB, R., CLIFT, R. A., FEFER, A., JOHNSON, L., NEIMAN, P. E., LERNER, K. G., GLUCKSBERG, H. & BUCKNER, C. D. 1975b. Bone-marrow transplantation (second of two parts). *N Engl J Med*, 292, 895-902.
- TILL, J. E. & MCCULLOCH, E. A. 2012. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. 1961. *Radiat Res*, 178, Av3-7.
- VAN DEN HOOGEN, M. W., KAMBUROVA, E. G., BAAS, M. C., STEENBERGEN, E. J., FLORQUIN, S., HJ, M. K., JOOSTEN, I. & HILBRANDS, L. B. 2015. Rituximab as induction therapy after renal transplantation: a randomized, double-blind, placebo-controlled study of efficacy and safety. *Am J Transplant*, 15, 407-16.
- VAN ESSER, J. W., NIESTERS, H. G., VAN DER HOLT, B., MEIJER, E., OSTERHAUS, A. D., GRATAMA, J. W., VERDONCK, L. F., LÖWENBERG, B. & CORNELISSEN, J. J. 2002. Prevention of Epstein-Barr virus-lymphoproliferative disease by molecular monitoring and preemptive rituximab in high-risk patients after allogeneic stem cell transplantation. *Blood*, 99, 4364-9.
- VARTABEDIAN, V. F., SAVAGE, P. B. & TEYTON, L. 2016. The processing and presentation of lipids and glycolipids to the immune system. *Immunol Rev*, 272, 109-19.
- VON ELM, E., ALTMAN, D. G., EGGER, M., POCOCK, S. J., GÖTZSCHE, P. C. & VANDENBROUCKE, J. P. 2008. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol*, 61, 344-9.
- WILLIAMS, K. M., HAKIM, F. T. & GRESS, R. E. 2007. T cell immune reconstitution following lymphodepletion. *Semin Immunol*, 19, 318-30.
- WORTH, A., CONYERS, R., COHEN, J., JAGANI, M., CHIESA, R., RAO, K., GOULDEN, N., VEYS, P. & AMROLIA, P. J. 2011. Pre-emptive rituximab based on viraemia and T cell reconstitution: a highly effective strategy for the prevention of Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disease following stem cell transplantation. *Br J Haematol*, 155, 377-85.
- WUBBEN, R., EFSTATHIOU, C. & STEVENSON, N. J. 2021. The interplay between the immune system and viruses. *Vitam Horm*, 117, 1-15.
- WUCHTER, P. 2019. The EBMT Handbook. In: CARRERAS, E., MOHTY, M., DUFOUR, C. & KRÖGER, N. (eds.) *Processing, Cryopreserving and Controlling the Quality of HSCs*. Springer Cham. S.127-130. https://doi.org/10.1007/978-3-030-02278-5_17 [Aufgerufen am 10.09.2022 20:30].

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Dennis Temel, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Folgen und Implikationen einer Rituximab Therapie im Rahmen einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation bei Kindern und Jugendlichen/Consequences and implications of rituximab therapy in the setting of hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Dennis Temel hatte folgenden Anteil an der Publikation:

Michael Launspach, Dennis Temel, Emily Ohlendorf, Felix Zirngibl, Bianca Materne, Lena Oevermann, Hedwig E. Deubzer, Anton G. Henssen, Annette Künkele, Patrick Hundsdörfer, Horst von Bernuth, Axel Pruß, Angelika Eggert, Arend von Stackelberg, Peter Lang, Johannes H. Schulte: **Rituximab therapy after pediatric hematopoietic stem cell transplantation can cause prolonged B cell impairment and increases the risk for infections - a retrospective matched cohort study**, Haematologica, 01.01.2023.

Herr Temel führte selbstständig den überwiegenden Teil der Datenerhebung durch: Er erhob sämtliche Daten ausgenommen von Daten zu erhaltenen Transfusionen (Prof. Axel Pruß) und antiviraler Therapie neben Rituximab (Emily Ohlendorf). Damit sind **alle Tabellen Table 1 und S1 und Abbildungen Figure 1, Figure 2 und Figure S1 und S2 auf Grundlage von Herrn Temels Datenerhebung entstanden**. Die beigesteuerten Daten zu erhaltenen Transfusionen und antiviraler Therapie sind als ergänzend einzuordnen. Er führte zudem das PatientInnenmatching, sowie die Prüfung von Ein- und Ausschlusskriterien durch. Herr Temel hatte weiterhin einen großen Anteil an der Auswertung der Daten: **Er erstellte alle Tabellen und führte die dazugehörigen statistischen Tests durch, inklusive der Ermittlung von p-Werten**. An der Erstellung und Formatierung aller weiteren Graphen Figure 1, Figure 2 und Figure S1 und S2 war er in gemeinsamer Zusammenarbeit mit Dr. Michael Launspach und Bianca Materne beteiligt. Die formulierten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit entstanden aus einer Integration aller erhobenen qualitativen und quantitativen Daten bzw. Analysen in Diskussionen zwischen Herrn Temel mit Dr. Michael Launspach, Dr. Felix Zirngibl, PD Dr. Lena Oevermann, PD Hedwig E. Deubzer, Prof. Anton G. Henssen, Prof. Annette Künkele-Langer, PD Dr. Patrick Hundsdörfer, Prof. Horst von Bernuth, Prof. Angelika Eggert, PD Dr. Arend von Stackelberg, Prof. Peter Lang, sowie Prof. Johannes H. Schulte. Herr Temel war weiterhin in Zusammenarbeit mit Dr. Michael Launspach zu einem großen Anteil an der für die Publikation nötigen Literaturrecherche beteiligt. Herr Temel war außerdem beteiligt an den Diskussionsrunden zur Einordnung der Ergebnisse, dem Verfassen des Manuskripts (Review und Formulierungsvorschläge zu den Manuskript-Entwürfen von Dr. Michael Launspach), sowie des Review-Prozesses (Diskussion und Formulierungsvorschläge).

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

Unterschrift des Doktoranden

Lebenslauf

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

Publikationsliste

Michael Launspach, **Dennis Temel**, Emily Ohlendorf, Felix Zirngibl, Bianca Materne, Lena Oevermann, Hedwig E. Deubzer, Anton G. Henssen, Annette Künkele, Patrick Hundsdörfer, Horst von Bernuth, Axel Pruß, Angelika Eggert, Arend von Stackelberg, Peter Lang, Johannes H. Schulte: *Rituximab therapy after pediatric hematopoietic stem cell transplantation can cause prolonged B cell impairment and increases the risk for infections - a retrospective matched cohort study*, Haematologica, 2023

Danksagung

Zunächst möchte ich meiner Familie und meinen Freunden danken, die mir die nötige Energie und das Durchhaltevermögen zur Erstellung dieser Arbeit gaben. Weiterhin gilt Dr. Michael Launspach meinen besonderen Dank für die freundliche sowie jederzeit sehr kompetente Betreuung.

Zuletzt möchte ich Prof. Dr. Johannes Schulte für die Überlassung dieses Themas zur Promotion danken.

Akkreditierung des Statistikers



CharitéCentrum für Human- und Gesundheitswissenschaften

Charité | Campus Charité Mitte | 10117 Berlin

Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBikE)

Direktor: Prof. Dr. Geraldine Rauch

Name, Vorname: Temel, Dennis
Emailadresse: dennis.temel@charite.de
Matrikelnummer: 223852
PromotionsbetreuerIn: Prof. Johannes Schulte
Promotionsinstitution / Klinik: CC17

Postanschrift:
Charitéplatz 1 | 10117 Berlin
Besucheranschrift:
Reinhardtstr. 58 | 10117 Berlin

Tel. +49 (0)30 450 562171
geraldine.rauch@charite.de
<https://biometrie.charite.de/>



Bescheinigung

Hiermit bescheinige ich, dass Herr *Dennis Temel* innerhalb der Service Unit Biometrie des Instituts für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBikE) bei mir eine statistische Beratung zu einem Promotionsvorhaben wahrgenommen hat. Folgende Beratungstermine wurden wahrgenommen:

- Termin 1: 24.03.2021
- Termin 2: 15.09.2021

Folgende wesentliche Ratschläge hinsichtlich einer sinnvollen Auswertung und Interpretation der Daten wurden während der Beratung erteilt:

- Limitation in der Rituximab-Effekt-Schätzung, da Interventions- und Kontrollgruppe sich bezüglich des Vorhandenseins/Fehlens von Gründen für Rituximab-Vergabe unterscheiden.
- Problem der Zensierung könnte auf zwei Arten behandelt werden: 1) Kaplan-Meier Schätzer verwenden; 2) Verwendung eines konventionellen Tests zum Gruppenvergleich mit dem Hinweis auf die Zensierung. Nur möglich wenn die Zensierung lediglich wenig Patienten betrifft und die Ergebnisse nicht so verzerren kann, dass ein stärkerer Effekt festgestellt wird, als eigentlich vorliegt.
- Bei Verwendung eines konventionellen Tests zum Gruppenvergleich: Endpunkterteilung (Substitutionsdauer) visuell auf Normalverteilung prüfen und dann t-Test für verbundene Stichproben bzw. Vorzeichen-Rang-Test nach Wilcoxon zum Vergleich anwenden

Diese Bescheinigung garantiert nicht die richtige Umsetzung der in der Beratung gemachten Vorschläge, die korrekte Durchführung der empfohlenen statistischen Verfahren und die richtige Darstellung und Interpretation der Ergebnisse. Die Verantwortung hierfür obliegt allein dem Promovierenden. Das Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie übernimmt hierfür keine Haftung.

Datum:

Name des Beraters/der Beraterin:

Unterschrift BeraterIn, Institutsstempel

