

**Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik,
Abteilung für Hämatologie, Onkologie und klinische Immunologie
Direktor: Prof. Dr. med. R. Haas**

**Die Rolle von G-CSF und peripheren Stammzellen in der allogenen
Transplantation hämatopoetischer Stammzellen von HLA-identischen
Geschwisterspendern bei Patienten mit malignen hämatologischen
Erkrankungen**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Jan Eickmeyer,

2002

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Dieter Häussinger,
Dekan

Referent: Prof. Dr. Heyll

Koreferent: Priv.-Doz. Dr. Nürnberger

Abkürzungsverzeichnis

aGvHD	acute Graft versus Host Disease
ALL	Akute lymphatische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
APBSZ-T	Autologe periphere Blut Stammzell Transplantation
aPBSZT	Allogene periphere Blut Stammzell Transplantation
AUL	Akute undifferenzierte Leukämie
CD	cluster of differentiation
cGvHD	chronic Graft versus Host Disease
CML	Chronische myeloische Leukämie
CP	Chronische Phase
CR	Complete remission
CsA	Cyclosporin A
DFS	Disease free survival
EBMT	European Group for Blood and Marrow Transplantation
FUO	Fever of unknown origin
G-CFU	Granulocyte-Colony forming unit
G-CSF	Granulocyte-Colony stimulating factor
GM-CFU	Granulocyte-monocyte Colony forming unit
GM-CSF	Granulocyte-Monocyte-colony stimulating factor
GvHD	Graft versus Host Disease
GvL	Graft versus Leukemia
Gy	Gray, Einheit der Energiedosis
HLA	Humane Leukozyten-Antigene
HvG	Host versus Graft Reaktion
i.v.	intravenös
kgKG	Kilogramm Körpergewicht
KMSZ	Knochenmarkstammzellen
KMT	Knochenmarktransplantation
KO	Körperoberfläche
M-CFU	Monocyte-Colony forming unit
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MM	Multiples Myelom
MTX	Methotrexat
MSD	Matched sibling donor
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
ns	nicht signifikant
p.o.	per os
PBSZ	Periphere Blutstammzellen
PBSZ-T	Periphere Blutstammzell-Transplantation
rad	Einheit der Energiedosis, 1 Gray = 100 rad
Rez.	Rezidiv
r-met-HUG-CSF	Rekombinanter methylierter humaner Granulozytenstimulierender Wachstumsfaktor, Neupogen®
s.c.	subcutan
SAA	Schwere aplastische Anämie
SZT	Stammzelltransplantation
TBI	Total body irradiation
Tbl	Tablette
TRM	Transplantation related mortality
vs	versus
WHO	World-Health-Organisation

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG, DARSTELLUNG DER PROBLEMATIK	7
1.1	THERAPIEINDUZIERTE NEUTROPENIEN UND INFEKTIONSRSIKO	7
1.2	G-CSF	7
1.2.1	G-CSF zur supportiven Therapie nach Hochdosischemotherapie und autologer Stammzelltransplantation	8
1.2.2	Erste Erfahrungen mit G-CSF nach allogener Knochenmarktransplantation	8
1.2.3	Empfehlungen der American Society of Clinical Oncology zum Einsatz von G-CSF	8
1.3	PERIPHERE BLUTSTAMMZELLEN	8
1.3.1	Periphere Blutstammzellen zur autologen Transplantation hämatopoetischer Stammzellen	8
1.3.2	Erste Erfahrungen mit der Transplantation allogener mit G-CSF mobilisierter peripherer Blutstammzellen (PBSZ)	9
2	METHODEN	10
2.1	STUDIENZIELE UND FRAGESTELLUNG.....	10
2.2	UNTERSUCHTE PARAMETER	10
2.2.1	Parameter der Qualität der Stammzellpräparate.....	10
2.2.2	Parameter der Regeneration der Hämatopoese	10
2.2.3	Parameter der Inzidenz und Ausprägung von akuten und chronischen Graft-versus-Host-Diseases (GvHD).....	11
2.2.4	Parameter der Inzidenz und Ausprägung von Infektionen	11
2.2.5	Parameter der Dauer des stationären Aufenthaltes	11
2.2.6	Parameter der Inzidenz und Ausprägung der Toxizität sowie sonstiger Nebenwirkungen und Komplikationen	11
2.2.7	Parameter der Rezidiv- und Überlebenswahrscheinlichkeiten.....	13
2.2.8	Parameter der Analyse der in vitro Stammzellkultivierung	13
2.3	GRUPPENEINTEILUNG, RANDOMISATION	13
2.4	TRANSPLANTATION UND SUPPORTIVE THERAPIE.....	14
2.4.1	Vorbereitung zur Transplantation	14
2.4.2	Protokoll der Stammzellseparation	14
2.4.3	Protokolle der Konditionierungstherapie	14
2.4.4	Durchführung der Stammzelltransplantation	15
2.4.5	Protokoll der G-CSF-Therapie	16
2.4.6	Beendigung der G-CSF-Therapie.....	16
2.4.7	Protokoll der GvHD-Prophylaxe.....	16
2.4.8	Protokoll der Infektionsprophylaxe.....	16
2.4.9	Substitution von Blutprodukten.....	17
2.4.10	Veno-occlusive-disease (VOD).....	17
2.4.11	Kriterien für die Entlassung aus der stationären Überwachung.....	17
2.5	LABORMETHODEN	17
2.5.1	Protokoll für die CFU-GM-Stammzellassays.....	17
2.5.2	Bestimmung der CD34+Zellzahlen in den Präparaten der PBSZ	20
2.6	STATISTISCHE VERFAHREN	20
2.6.1	Erfassung	20
2.6.2	Überlebensanalyse nach Kaplan-Meier, Kaplan-Meier-Kurven, Log-Rank-Test.....	20
2.6.3	Mann-Whitney-U-Test (Wilcoxon's-Rank-Summ-Test, Mann-Whitney-Wilcoxon-Test, U-Test).....	21
2.6.4	Exakter Test nach Fisher	21
2.6.5	Boxplot	21
2.6.6	Bivariate Korrelation.....	21
2.6.7	Signifikanzniveau	21

3	ERGEBNISSE	22
3.1	PATIENTENKOLLEKTIV	22
3.1.1	Datum der Transplantation und Beobachtungszeitraum	22
3.1.2	Alter und Geschlecht	22
3.1.3	Grunderkrankungen und Stadien der Grunderkrankung bei Transplantation	22
3.1.4	Geschlechtsverhältnis von Spender und Empfänger	24
3.1.5	CMV-Status von Spender und Empfänger	24
3.1.6	Blutgruppeninkompatibilität	24
3.1.7	Konditionierung.....	24
3.2	QUALITÄT DER STAMMZELLPRÄPARATE.....	25
3.3	ENGRAFTMENT UND DES TRANSFUSIONSBEDARFES IN DEN DREI GRUPPEN	25
3.3.1	Anstieg der Granulozyten- und Leukozytenzahlen in den drei Gruppen	28
3.3.2	Regeneration der Erythropoese in den drei Gruppen	28
3.3.3	Regeneration der Megakaryozytopoese in den drei Gruppen	31
3.3.4	Blutbildwerte im Verlauf der ambulanten Nachbehandlung in den drei Gruppen	33
3.4	STAMMZELLKULTIVIERUNG	34
3.4.1	Einleitung	34
3.4.2	Stammzellkulturen und Anstieg der Leukozyten	35
3.4.3	Stammzellkulturen und Überleben im ersten Jahr	36
3.4.4	Stammzellkulturen und Rezidive im ersten Jahr	37
3.4.5	Stammzellkulturen und GvHD	37
3.4.6	Stammzellkulturen und Infektionen	39
3.4.7	Überprüfung der Genauigkeit der Methode der Stammzellkultivierung (interne Validität).....	39
3.4.8	Vergleich der Therapiegruppen anhand der Ergebnisse der Stammzellkulturen	40
3.4.9	Korrelation zwischen der Zahl der kernhaltigen Zellen der Stammzellpräparate und dem Wachstum in den Stammzellkulturen.....	43
3.4.10	Korrelation zwischen den CD34+Zellzahlen bei PBSZ-T und der Anzahl der CFU-G-Kolonien und -Cluster	44
3.5	EINFLUSS DER ANZAHL KERNHALTIGER ZELLEN AUF DIE HÄMATOPOETISCHE REGENERATION UND DEN KLINISCHEN VERLAUF NACH TRANSPLANTATION.....	45
3.5.1	Einleitung	45
3.5.2	Einfluss der Anzahl kernhaltiger Zellen in den KMSZ-Präparaten auf die hämatopoetische Regeneration und den klinischen Verlauf nach KMT.....	45
3.5.3	Einfluss der Anzahl kernhaltiger Zellen in den PBSZ-Präparaten auf die Regeneration der Hämatopoese und den klinischen Verlauf nach PBSZ-T	47
3.6	EINFLUSS DER ANZAHL DER CD34+ZELLEN IN DEN PBSZ-PRÄPARATEN AUF DIE REGENERATION DER HÄMATOPOESE UND DEN KLINISCHEN VERLAUF NACH PBSZ-T .	48
3.6.1	Einleitung	48
3.6.2	Einfluss der Anzahl der CD34+Zellen in den PBSZ-Präparaten auf die Regeneration der Hämatopoese nach PBSZ-T.....	48
3.6.3	Einfluss der Anzahl der CD34+Zellen in den PBSZ-Präparaten auf die Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeit nach PBSZ-T.....	49
3.6.4	Einfluss der Anzahl der CD34+Zellen in den PBSZ-Präparaten auf die Inzidenz und Ausprägung von akuten und chronischen GvHDs nach PBSZ-T.....	50
3.6.5	Einfluss der Anzahl der CD34+Zellen in den PBSZ-Präparaten auf die Inzidenz und Ausprägung von Infektionen	50
3.7	INZIDENZ UND AUSPRÄGUNG VON INFEKTIONEN IN DEN DREI GRUPPEN.....	51
3.8	INZIDENZ UND AUSPRÄGUNG VON GRAFT-VS-HOST DISEASES IN DEN DREI GRUPPEN..	53
3.8.1	Inzidenz und Ausprägung von akuten GvHDs in den drei Gruppen	53
3.8.2	Inzidenz und Ausprägung von chronischen GvHDs in den drei Gruppen	54
3.8.3	GvHD-Prophylaxe / Immunsuppression mit Cyclosporin A in den drei Gruppen.....	54

3.9	TOXIZITÄT UND NEBENWIRKUNGEN DER THERAPIE IN DEN DREI GRUPPEN	55
3.9.1	Nephrotoxizität.....	55
3.9.2	Hepatotoxizität	55
3.9.3	Kardiotoxizität.....	55
3.9.4	Neurotoxizität.....	55
3.9.5	Stomatitis.....	55
3.9.6	Blutungen	56
3.9.7	Veno occlusive disease.....	56
3.10	ÜBERLEBENS- UND REZIDIVWAHRSCHEINLICHKEITEN IN DEN DREI GRUPPEN.....	57
3.10.1	Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeiten in den drei Gruppen.....	58
3.10.2	Todesursachen im ersten Jahr nach Transplantation in den drei Gruppen	59
3.11	DAUER DES STATIONÄREN AUFENTHALTES IN DEN DREI GRUPPEN.....	60
4	DISKUSSION	61
4.1	EINFLUSS DER GABE VON G-CSF NACH ALLOGENER KMT AUF DIE HÄMATOPOETISCHE REGENERATION UND DEN KLINISCHEN VERLAUF	61
4.1.1	Übersicht	61
4.1.2	Einfluss von G-CSF nach allogener KMT auf die hämatopoetische Regeneration	62
4.1.3	Einfluss von G-CSF nach allogener KMT auf die Inzidenz und Ausprägung von Infektionen.....	65
4.1.4	Einfluss von G-CSF nach allogener KMT auf die Dauer der stationären Therapie nach Transplantation.....	66
4.1.5	Einfluss von G-CSF nach allogener KMT auf die Inzidenz und Ausprägung von akuten und chronischen GvHDs.....	66
4.1.6	Einfluss von G-CSF nach allogener KMT auf die Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeiten.....	67
4.2	PERIPHERE BLUTSTAMMZELLEN ZUR ALLOGENEN STAMMZELLTRANSPLANTATION VON HLA-IDENTISCHEN GESCHWISTERSPENDERN.....	69
4.2.1	Stammzell-Mobilisierung zur allogenen PBSZ-T	69
4.2.2	Diskussion zum Einfluss der CD34+Zellzahl in den PBSZ-Präparaten auf die hämatopoetische Regeneration und den klinischen Verlauf nach allogener PBSZ-T.....	71
4.2.3	Studien zum Vergleich der hämatopoetischen Regeneration und dem klinischen Verlauf nach allogener PBSZ-T im Vergleich zur allogenen KMT.....	72
4.2.4	Einfluss von PBSZ zur allogenen SZT auf das Engraftment und den Bedarf an Transfusionen	72
4.2.5	Einfluss von PBSZ zur allogenen SZT auf die Inzidenz und Ausprägung von infektionsbedingten Komplikationen	77
4.2.6	Einfluss von PBSZ zur allogenen SZT auf die Inzidenz und Ausprägung von Graft versus Host Diseases	77
4.2.7	Einfluss von PBSZ zur allogenen SZT auf die Dauer des stationären Aufenthaltes nach Transplantation.....	79
4.2.8	Einfluss von PBSZ zur allogenen SZT auf die Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeiten.....	79
4.3	CFU-GM-STAMMZELLASSAYS ZUR ÜBERWACHUNG DER HÄMATOPOETISCHEN REGENERATION	80
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	82
6	LITERATURVERZEICHNIS	83

1 Einleitung, Darstellung der Problematik

1.1 Therapieinduzierte Neutropenien und Infektionsrisiko

Infektionen sind häufige Komplikationen während der Neutropenie in der Frühphase nach Chemotherapie. Bodey GP et al haben 1966 den Zusammenhang zwischen dem Ausmaß und der Dauer der Granulozytopenie und dem Auftreten von Infektionen bei Patienten mit akuten Leukämien im Anschluß an die Chemotherapie untersucht. Sie wiesen nach, dass der Anteil der Tage, an denen die Patienten an sicher nachgewiesenen Infektionen litten, ab einer Granulozytenzahl von unter 1000 / μ l steil ansteigt. Bei Granulozytenzahlen von über 1000 / μ l waren es 10 % der Tage, bei Granulozytenzahlen von 500 bis 1000 / μ l 20 % der Tage, bei Granulozytenzahlen von 100 bis 500 / μ l 35 % der Tage und bei Granulozytenzahlen von unter 100 / μ l 55 % der Tage, an denen die Patienten an sicher nachgewiesenen Infektionen litten. Auch die Inzidenz von schweren Infektionen, definiert als Organinfektionen und generalisierte Infektionen, stieg unterhalb einer Granulozytenzahl von 1000 pro μ l steil an. Oberhalb von 1000 Granulozyten pro μ l fanden Bodey GP et al 1966 keinen wesentlichen Einfluss der Granulozytenzahlen auf den Anteil der Patiententage mit nachgewiesenen Infektionen sowie auf die Inzidenz von schweren Infektionen. Außerdem zeigte sich in dieser Untersuchung eine deutliche Abhängigkeit der infektiösen Komplikationen vom Remissionszustand der Patienten vor Beginn der Chemotherapie. Patienten in kompletter Remission zeigten deutlich seltener infektiöse Komplikationen. Eine Abhängigkeit der Inzidenz von Fieber unklarer Genese (fever of unknown origin, FUO) von den Granulozytenzahlen konnten Bodey GP et al 1966 nicht nachweisen.

Entsprechend hoch ist die Inzidenz von bakteriellen und sonstigen Infektionen im Rahmen der meist zwei bis vier Wochen anhaltenden Agranulozytose (Granulozyten < 500 / μ l) nach Hochdosischemotherapie, Ganzkörperbestrahlung und allogener Knochenmarktransplantation. In einer von Martin-Algarra S et al 1994 veröffentlichten Untersuchung dauerte die Agranulozytose bei 38 Patienten nach verschiedenen Konditionierungsprotokollen mit Etoposid, Cyclophosphamid, Ganzkörperbestrahlung und anschließender allogener Knochenmarktransplantation im Median 20 (11-36) Tage. 78 % der Patienten erlitten sicher nachgewiesene Infektionen (Martin-Algarra S et al 1994). In der Klinik für Hämatologie, Onkologie und klinische Immunologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf wurden in der Zeit von 1988 bis 1991, dem Beginn der hier vorgestellten Studie zum Einsatz von G-CSF in der allogenen Knochenmarktransplantation im Jahre 1991, 28 Patienten (allogen n=26, autolog n=2) transplantiert. Während der Phase der Agranulozytose entwickelten 22 Patienten Fieber, bei 11 Patienten konnten in der Blutkultur Erreger nachgewiesen werden. (Enterokokken n=3, koagulase negative Staphylokokken n=3, Streptokokkus sanguis n= 4, Streptokokkus mitis n=1). Von den 3 Patienten, die in der Akutphase nach allogener Knochenmarktransplantation verstarben, wies ein Patient eine Sepsis mit Enterokokken auf, die gegen sämtliche ausgetesteten Antibiotika in vivo resistent waren. Trotz der Verbesserung in der supportiven Therapie und der Verfügbarkeit hochwirksamer Antibiotika muß davon ausgegangen werden, dass bakterielle Infektionen in der Phase der Agranulozytose wesentlich zur Morbidität und Mortalität der allogenen Knochenmarktransplantation beitragen.

1.2 G-CSF

G-CSF ist ein Eiweißmolekül mit einem Molekulargewicht von 18-22 Kilo-Dalton. Sein Gen ist auf dem Chromosom 17 (17q11-122) lokalisiert. G-CSF wird von Makrophagen, Endothelzellen, Fibroblasten und Stromazellen des Knochenmarkes, jedoch nicht von T-Lymphozyten gebildet. Stromazellen des Knochenmarkes binden G-CSF und andere Wachstumsfaktoren an extrazelluläre Matrixmoleküle, um sie Knochenmarkstammzellen zu präsentieren, mit denen sie über Adhäsionsmoleküle in Kontakt stehen. Das Muster der von den Stromazellen präsentierten Wachstumsfaktoren entscheidet darüber, ob sich die Stammzellen selbst erneuern (self-renewal) oder in Richtung welcher Zelllinie sie ausdifferenzieren. Das in dieser Studie verwandte G-CSF-Produkt Filgrastim wird gentechnologisch von E. coli Bakterien hergestellt. Es ist aus diesem Grunde im Gegensatz zu menschlichem G-CSF nicht glykolysiert (Dexter TM et al 1993).

1.2.1 G-CSF zur supportiven Therapie nach Hochdosischemotherapie und autologer Stammzelltransplantation

Es konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass G-CSF in der Lage ist, die Dauer durch Chemotherapie induzierter Agranulozytosen bei Patienten mit verschiedenen Malignomen zu verkürzen und die Rate von Fieberepisoden und Infektionen in der Akutphase nach Chemotherapie zu senken (Morstyn G et al 1988, Ohno R et al. 1990, Sheridan WP et al 1989).

Ebenso konnte in mehreren Studien zur autologen Knochenmarktransplantation gezeigt werden, dass sich durch die Gabe von G-CSF nach der Transplantation die Dauer der Agranulozytose verkürzt und die Anzahl der Fieberepisoden abnimmt (Stahel RA et al 1992, Schmitz N et al 1992, Blaise D et al 1992, Linch DC et al 1993).

1.2.2 Erste Erfahrungen mit G-CSF nach allogener Knochenmarktransplantation

Im Rahmen einer japanischen Studie wurde über erste Erfahrungen mit dem Einsatz von G-CSF nach allogener KMT berichtet (Masaoka T et al 1989). Die untersuchten Patienten waren überwiegend wegen akuter lymphatischer Leukämie (ALL) (n=10), akuter myeloischer Leukämie (AML) (n=8) und chronischer myeloischer Leukämie (CML) (n=9) mit dem Knochenmark eines HLA-identischen Geschwisters transplantiert worden. Durch die Gabe von G-CSF in einem Dosisbereich von 200 bis 800 $\mu\text{g} / \text{m}^2 \text{KO}$ konnte der Anstieg der Granulozyten auf über 500 / μl auf den Tag 14 bis 15 nach allogener KMT vorverlegt werden, im Vergleich zu einer historischen Kontrollgruppe, die keine Wachstumsfaktoren erhielt und 500 Granulozyten am Tag 27 nach KMT erreichte. Die Inzidenz der GvHD betrug 47 % (16 von 34 Patienten), wobei die Mehrzahl der betroffenen Patienten lediglich eine akute GvHD vom Schweregrad I entwickelten. Als Nebenwirkungen der G-CSF-Therapie wurden von 36 auswertbaren Patienten bei 3 Patienten Knochenschmerzen und bei 2 Patienten eine Erythrodermie beobachtet. Nebenwirkungen, die eine Unterbrechung der G-CSF-Therapie notwendig machten, wurden nicht beobachtet. Bei einer Nachbeobachtungszeit von 6 bis 12 Monaten wurde bei 4 Patienten ein Rezidiv gesichert (2 ALL, 1 AML, 1 CML). Zusammenfassend ergibt sich, dass durch G-CSF die Phase der Agranulozytose nach allogener KMT verkürzt werden konnte, ohne dass relevante Nebenwirkungen auftraten. Insbesondere ergab sich kein Hinweis auf eine erhöhte GvHD-Inzidenz oder ein erhöhtes Rezidivrisiko.

1.2.3 Empfehlungen der American Society of Clinical Oncology zum Einsatz von G-CSF

Die American Society of Clinical Oncology (ASCO) hat 1994 Richtlinien für den Gebrauch von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren veröffentlicht. Die ASCO kam in ihren Richtlinien zu dem Schluß, dass der Einsatz von G-CSF nach autologer KMT die Dauer der Neutropenie abkürzt und infektiöse Komplikationen vermindert. Sie stellte weiterhin fest, dass die Datenlage zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieser Richtlinien einen ähnlichen Effekt für die allogenen KMT nahelegte, die Daten jedoch weniger einheitlich waren. Die ASCO empfahl den Einsatz von G-CSF daher nur im Rahmen von kontrollierten klinischen Studien (Miller LL et al 1994).

1.3 Periphere Blutstammzellen

1.3.1 Periphere Blutstammzellen zur autologen Transplantation hämatopoetischer Stammzellen

Bei der autologen Transplantation hämatopoetischer Stammzellen konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass sich auch durch die Transplantation von mit G-CSF mobilisierten, aus dem peripheren Blut gewonnenen Stammzellen, die Dauer der Agranulozytose gegenüber der Transplantation von autologem Knochenmark verkürzen läßt (Liberti G et al 1994, Hennon et al 1990, Iacone et al 1990). Eine Metanalyse von 25 Studien zum Thema autologe Stammzelltransplantation (Handelsmann DO et al 1995) kam zu dem Ergebnis, dass die Agranulozytosezeit bei der autologen PBSZ-T 5 Tage kürzer ist als bei der autologen KMT [gewichteter Mittelwert der Mediane (Spannweite der Mediane): 15 (9-31) versus 20 (13-33.5) Tage]. Auch Thrombozytenzahlen von $50 \times 10^3 / \mu\text{l}$ wurden im Mittel der Medianwerte der 25 Studien bereits am Tag 21 anstatt am Tag 29 erreicht. Des weiteren war die

Dauer des stationären Aufenthaltes bei den mit peripheren Stammzellen transplantierten Patienten mit im Median 22 Tagen um 10 Tage kürzer als bei den mit Knochenmark transplantierten.

1.3.2 Erste Erfahrungen mit der Transplantation allogener mit G-CSF mobilisierter peripherer Blutstammzellen (PBSZ)

1994 wurden annähernd zeitgleich erste Erfahrungen mit der Transplantation allogener, mit G-CSF mobilisierter, peripherer Blutstammzellen (PBSZ) von HLA-identischen Geschwisterspendern aus Washington (Bensinger WI et al 1994) und Kiel (Schmitz N et al 1994) veröffentlicht. Beide Gruppen transplantierten jeweils 8 Patienten mit verschiedenen malignen hämatologischen Erkrankungen. Bei Bensinger WI et al 1994 erreichten die Patienten 500 Granulozyten pro μl im Median am Tag 18 (12-22), und Thrombozytenzahlen von $20 \times 10^3 / \mu\text{l}$ am Tag 12 nach Transplantation. Bei Schmitz N et al 1994 erreichten die Patienten 500 Granulozyten pro μl im Median am Tag 16 und Thrombozytenzahlen von $50 \times 10^3 / \mu\text{l}$ im Median am Tag 34.

Die ersten Erfahrungen der European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) mit der allogenen Transplantation von PBSZ wurden 1995 veröffentlicht (Schmitz N et al 1995). 59 Patienten im Alter von 2-54 Jahren, die eine erstmalige Transplantation mit unmanipulierten peripheren Blutstammzellen ihrer HLA-identischen Geschwister erhielten, wurden der EBMT bis 1994 gemeldet. Die überwiegende Anzahl der Patienten litt an akuten Leukämien in verschiedenen Remissionsstadien (AML: n = 23, ALL: n = 13). Daneben wurden Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie (n = 9), Lymphomen (n = 7) und sonstigen Diagnosen (n = 7) transplantiert. Die Agranulozytose dauerte bei den Patienten im Median 15 (9-27) Tage an, also 12 Tage kürzer als bei den mit Knochenmarkstammzellen (KMSZ) transplantierten Patienten der Kontrollgruppe in der oben zitierten Arbeit von Masaoka et al 1988 (Median 26 Tage). Angaben zu infektiösen Komplikationen wurden in der Veröffentlichung der EBMT nicht gemacht. Thrombozytenzahlen von $50 \times 10^3 / \mu\text{l}$ unabhängig von Thrombozytengaben erreichten die der EBMT gemeldeten Patienten im Median am Tag 18 (12-100). 66 % (+/- 8 %) der Patienten entwickelten eine moderate bis schwere akute GvHD (Grad II-IV). Im Vergleich dazu erlitten in der oben zitierten Veröffentlichung von Martin-Algarra S et al 1994 die mit Knochenmark transplantierten Patienten in 39 % der Fälle eine akute GvHD vom Schweregrad II-IV. Zusammenfassend gibt es Hinweise darauf, dass sich durch den Einsatz peripherer Blutstammzellen auch in der allogenen Stammzelltransplantation (SZT) die Dauer der Agranulozytose senken läßt und sich somit infektiöse Komplikationen vermindern lassen (Bensinger et al 1994, Schmitz N et al 1994 und 1995). Auf der anderen Seite gibt es Hinweise darauf, dass die Inzidenz von moderaten und schweren akuten GvHDs durch Verwendung von PBSZ in der allogenen SZT zunehmen könnte (Schmitz N et al 1995).

2 Methoden

An der Klinik für Hämatologie, Onkologie und klinische Immunologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf wurde im Jahr 1991 eine randomisierte Therapiestudie zum Einsatz von G-CSF nach allogener Transplantation von Knochenmark HLA-identischer Geschwisterspender begonnen. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität genehmigt.

Nach Abschluss dieser Studie im Jahr 1995 wurde an dieser Klinik damit begonnen, alle weiteren Patienten mit allogenen peripheren Blutstammzellen zu transplantieren. Die Daten der Patienten, die im Rahmen der G-CSF Studie behandelt wurden und die Daten der mit allogenen peripheren Blutstammzellen HLA-identischer Geschwisterspender transplantierten Patienten wurden in der vorliegenden Arbeit analysiert. Prospektiv randomisiert wurde der Einsatz von G-CSF nach allogener KMT untersucht, während der Vergleich der mit Knochenmark transplantierten Patienten mit den Patienten, die periphere Blutstammzellen erhielten, retrospektiv ist.

2.1 Studienziele und Fragestellung

Ziel dieser Arbeit ist es zu klären, in welchem Maße die Gabe von G-CSF nach allogener KMT und die Verwendung von peripheren Blutstammzellen (PBSZ) die folgenden Faktoren im Vergleich zur allogenen Knochenmarktransplantation ohne G-CSF-Gabe beeinflusst:

- Regeneration der Hämatopoese,
- Häufigkeit und Schweregrad von chronischen und akuten Graft-versus-Host-Diseases (GvHD),
- Häufigkeit und Schweregrad von infektionsbedingten Komplikationen,
- Überlebenswahrscheinlichkeit und rezidivfreie Überlebenswahrscheinlichkeit
- Rezidivwahrscheinlichkeit und transplantationsbedingte Mortalität
- Toxizität sowie Häufigkeit und Ausprägung von sonstigen Nebenwirkungen und Komplikationen.

Als zusätzliches Korrelat für die Regeneration der Hämatopoese wurden *in vitro* Stammzellkulturen angelegt. Es soll untersucht werden, inwieweit das *in vitro* Wachstum von Stammzellen mit den oben genannten klinisch-relevanten Faktoren korreliert. Des Weiteren soll untersucht werden, wie sich die Verwendung von G-CSF nach allogener KMT sowie die Transplantation von peripheren Blutstammzellen auf das Wachstum in den Stammzellkulturen auswirkt.

Zusätzlich soll die Qualität der Stammzellpräparate und deren Einfluß auf die oben genannten klinischen Faktoren untersucht werden (siehe unten).

2.2 Untersuchte Parameter

2.2.1 Parameter der Qualität der Stammzellpräparate

- Anzahl kernhaltiger Zellen pro Kilogramm Körpergewicht des Patienten in den Präparaten der PBSZ und KMSZ
- Anzahl CD34+Zellen pro Kilogramm Körpergewicht des Patienten in den Präparaten der PBSZ

2.2.2 Parameter der Regeneration der Hämatopoese

Zeit bis zum Erreichen von

- Granulozytenwerten von 500, 1000 und 1500 pro μl ,
- Leukozytenzahlen von 1000, 2000 und 3000 pro μl ,
- Thrombozytenzahlen von 50 000 und 100 000 pro μl ,
- Hämoglobinwerten von 10 und 12 g / dl,
- Unabhängigkeit von Erythrozytenkonzentraten,
- Unabhängigkeit von Thrombozytenkonzentraten.

Das Erreichen der Grenzen für die Hämoglobinwerte von 10 und 12 g/dl wurde nur dann registriert, wenn nach einem Mindestabstand von 7 Tagen nach der letzten Gabe von Erythrozytenkonzentraten ein stetiger Anstieg des Hämoglobinwertes auftrat und der Hämoglobinwert mindestens 7 Tage über der angegebenen Grenze verweilte. Wurden bereits durch Transfusionen Hämoglobinwerte von über

10 oder gar von über 12 g / dl erreicht und fielen die Werte nicht wieder unter die Grenzen ab, so wurde nach

mindestens 7 Tagen Abstand derjenige Tag registriert, an dem ein stetiger, mindestens 7 Tage andauernder Anstieg der Hämoglobinwerte begann.

Das Überschreiten der Grenzen für die Thrombozytenzahlen wurde dann registriert, wenn zur Gabe des letzten Thrombozytenkonzentrates mindestens 3 Tage Abstand bestanden und die Thrombozytenzahlen mindestens 3 Tage über der jeweiligen Grenze blieben.

Anzahl von

- Thrombozytenkonzentraten pro Patient,
 - Erythrozytenkonzentraten pro Patient,
- Blutbildwerte an den Tagen 50, 100 und 365 nach KMT / PBSZ-T.

2.2.3 Parameter der Inzidenz und Ausprägung von akuten und chronischen Graft-versus-Host-Diseases (GvHD)

- Schweregrad der akuten und chronischen GvHD (siehe Tabelle 2.2.1 und 2.2.2).
- Dauer der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CsA).

2.2.4 Parameter der Inzidenz und Ausprägung von Infektionen

Anzahl von

- Tagen mit Temperatur > 38° C pro Patient,
- Patienten mit positiven Blutkulturen,
- Patienten mit pulmonalen Infiltraten,
- Tagen mit systemischer intravenöser Therapie mit Breitbandantibiotika,

Inzidenz von

- Fieber vom Schweregrad 3 und höher nach WHO (s. Tabelle 2.2.3)
- Infektionen vom Schweregrad 3 und höher nach WHO (siehe Tabelle 2.2.3) hierunter fallen im einzelnen Organinfektionen mit Beeinträchtigung lebenswichtiger Organfunktionen:
 - Pneumonie,
 - Meningitis, Enzephalitis,
 - Enteritis, Pankreatitis, Hepatitis,
 - Endokarditis,
 - Myokarditis,
 - Sepsis

innerhalb der ersten 100 Tage nach Transplantation.

2.2.5 Parameter der Dauer des stationären Aufenthaltes

- Dauer des stationären Aufenthaltes bis zur (1.) Entlassung nach Transplantation.

2.2.6 Parameter der Inzidenz und Ausprägung der Toxizität sowie sonstiger Nebenwirkungen und Komplikationen

Nebenwirkungen der Konditionierungstherapie nach WHO-Skala (siehe Tabelle 2.2.3).

Anzahl von Patienten

- mit der Diagnose VOD ,
- die eine Dialyse benötigten,
- die maschinell beatmet werden mußten,
- mit Knochenschmerzen.

Laborwerte:

- Maximalwerte für: Kreatinin, Harnstoff-N, Harnsäure, Bilirubin, SGOT, SGPT, AP, γ -GT, LDH im Serum
- Minimalwerte für CHE, Quickwert und Gesamteiweiß im Serum.

Tabelle 2.2.1: Akute GvHD, klinische Einteilung des Stadiums der Beteiligung der einzelnen Organsysteme sowie des Schweregrades der Gesamt GvHD.

Stadium	Hautbeteiligung	Leber	Intestinaltrakt
0	keine	Bilirubin < 2 mg/100ml	Stuhlvolumen < 500 ml/d
+	makulopapulös < 25 % der KOF	Bilirubin 2-3 mg/100ml	Stuhlvolumen > 500 ml/d
++	makulopapulös 25-50% der KOF	Bilirubin 3-6 mg/100ml	Stuhlvolumen > 1000 ml/d
+++	makulopapulös >50% der KOF / generalisiertes Erythem	Bilirubin 6-15 mg/100ml	Stuhlvolumen > 1500 ml/d
++++	generalisiert bullös / Desquamation	Bilirubin > 15 mg/100ml	Schwere abdominale Schmerzen mit oder ohne Ileus.
Grad der GesamtGvHD			
I	Hautbeteiligung + bis ++, keine Beteiligung der Leber oder des Gastrointestinaltraktes, keine Einschränkung des Allgemeinzustandes		
II	Haut + bis ++, Leber + und / oder Gastrointestinaltrakt +, leichte Einschränkung des Allgemeinzustandes		
III	Haut + bis ++, Leber ++ bis +++ und / oder Gastrointestinaltrakt ++ bis ++, deutliche Einschränkung des Allgemeinzustandes		
IV	Haut + bis ++, Leber ++ bis +++ und / oder Gastrointestinaltrakt ++ bis ++, extreme Einschränkung des Allgemeinzustandes		

KOF = Körperoberfläche, **d** = Tag

Thomas ED et al 1975

Tabelle 2.2.2: chronische GvHD, klinische Gradeinteilung

Limited disease

Eines der beiden oder beide folgende Manifestationen:

- Lokalisierte Hautbeteiligung
- Hepatische Dysfunktion durch die cGvHD

Extensive disease:

Entweder

- Generalisierte Hautbeteiligung

oder zusätzlich zu den Symptomen der limited disease eines der folgenden Symptome:

- Zeichen der chronisch aggressiven Hepatitis in der Leberhistologie, Brückennekrosen oder Zirrhose
- Augenbeteiligung (Schirmer-Test < 5 mm)
- bioptisch gesicherte Beteiligung der kleinen Speicheldrüsen oder der Mundschleimhaut
- Beteiligung eines beliebigen weiteren Organes

Shulman H et al 1980

Tabelle 2.2.3: Nebenwirkung der Konditionierungstherapie nach WHO.

Nebenwirkungen	Grad 1	Grad 2	Grad 3	Grad 4
Stomatitis	Wundgefühl, Rötung	Erythem, Geschwüre, feste Kost möglich	Geschwüre, nur flüssige Kost	Ernährung oral nicht möglich
Fieber	unter 38 °C	38 - 40 °C	über 40 °C	mit Hypotonie
Infektionen	milde	mäßig	stark	stark mit Hypotonie
Herzrhythmus- störungen	Sinustachykardie > 100 / min	monotope VES, Vorhoffarrhythmie	multifokale VES	ventrikuläre Tachykardie
Herzfunktion	asymptomatisch, aber abnorme Zeichen	vorübergehende symptomatische Dysfunktion, keine Therapie	symptomatische Dysfunktion, Reaktion auf Therapie	symptomatische Dysfunktion, therapierefraktär
Ödeme	Beine	1+ Stamm	2+ Kopf / Arme	1-3 + Lungen- ödem
Blutungen	Petechien	geringer Blutverlust	starker Blutverlust	kreislaufwirksam
Hämaturie	Mikrohämaturie	Makrohämaturie	2 mit Gerinseln	destruktive Uropathie
Lungenfunktion	leichte Symptome	Belastungs- dyspnoe	Ruhedyspnoe	absolut Bettruhe nötig

2.2.7 Parameter der Rezidiv- und Überlebenswahrscheinlichkeiten

- Rezidivwahrscheinlichkeit
- Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit
- Rezidivfreie Überlebenswahrscheinlichkeit (disease-free-survival, DFS)
- Transplantationsbedingte Mortalität (TRM)

2.2.8 Parameter der Analyse der in vitro Stammzellkultivierung

- Anzahl von CFU-G-, CFU-M- und CFU-GM-Clustern und -Kolonien in den in vitro Stammzellkulturen, die mit Knochenmark angezüchtet wurden, das den Patienten an den Tagen 14, 21 und 28 nach Transplantation entnommen wurde. Die Auszählung erfolgte jeweils nach einer und zwei Wochen Kultivierungszeit.

2.3 Gruppeneinteilung, Randomisation

In die G-CSF-Studie wurden zwischen 1991 und 1995 alle Patienten aufgenommen, bei denen die Indikation zur allogenen Stammzelltransplantation bestand, die HLA-identische Geschwisterspender aufwiesen, welche zur Spende bereit und tauglich waren und die nach ausführlicher Aufklärung eine entsprechende Einverständniserklärung unterzeichneten. Ausschlusskriterien waren eine bereits erfolgte Transplantation, gesundheitliche Risiken und Kontraindikationen gegen die Stammzelltransplantation, wie bestehende Infektionen oder Organfunktionsstörungen, sowie das fehlende Einverständnis des Patienten oder des Spenders. Diese Patienten wurden randomisiert der Therapiegruppe KMT+G-CSF oder dem Kontrollarm Gruppe KMT zugeordnet.

Ab Januar 1995 erhielten alle weiteren Patienten, die die oben genannten Kriterien zur allogenen Stammzelltransplantation erfüllten, eine Transplantation mit peripheren Blutstammzellen. Diese Patienten wurden in die Gruppe PBSZ-T aufgenommen.

Außer der Therapie mit r-methHUG-CSF bzw. der Verwendung von peripheren Blutstammzellen waren alle übrigen Therapiemodalitäten und diagnostischen Verfahren in den Studienarmen gleich.

Lediglich die Konditionierungstherapie unterschied sich von Patient zu Patient in Abhängigkeit von Grundkrankheit und Stadium.

Tabelle 2.3.1: Gruppeneinteilung

Therapieform	Gruppenname	Gruppennummer	Anzahl Patienten
allogene Knochenmark-transplantation	KMT	0	23
allogene Knochenmark-transplantation, nachfolgend G-CSF	KMT+G-CSF	1	22
allogene periphere Blutstammzell-Transplantation	PBSZ-T	2	29

2.4 Transplantation und supportive Therapie

2.4.1 Vorbereitung zur Transplantation

Die Vorbereitung zur Transplantation diente der Suche nach Risikofaktoren, die eine myeloablative Chemotherapie verboten hätten. Sie bestand aus

1. einer eingehenden Überprüfung der Organfunktionen (Herz, Leber, Lunge, Niere, ZNS) und
2. dem Ausschluß von Infektionen.

Auch die Spender wurden einer eingehenden Voruntersuchung unterzogen, die die allgemeine Überprüfung der Spendertauglichkeit sowie die Suche nach latenten Infektionen beinhaltetete.

2.4.2 Protokoll der Stammzellseparation

Das Protokoll zur Gewinnung der peripheren Stammzellen bei den HLA-identischen Geschwisterspendern der Patienten der Gruppe PBSZ-T sah wie folgt aus:

Die Spender erhielten 12,5 µg / kg / Tag r-metHUG-CSF, Handelsname Neupogen®, bis zum Tag der letzten Separation. Am Tag 4 wurde die Konzentration der CD34+Zellen im peripheren Blut der Spender bestimmt. Spender mit weniger als 20 CD34+Zellen / µl peripheren Blutes erhielten bis zum Tag der letzten Separation abends eine zweite Gabe mit identischer Dosis. Die Separation begann am Tag 5 und erfolgte an bis zu 4 aufeinanderfolgenden Tagen, bis eine Gesamtzahl von mindestens 3 x 10⁶ CD34+Zellen pro Kilogramm Körpergewicht des Empfängers erreicht wurden.

Dieses Protokoll wurde ebenfalls von der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität genehmigt. Alle Spender unterzeichneten nach eingehender Aufklärung eine entsprechende Einverständniserklärung.

2.4.3 Protokolle der Konditionierungstherapie

Die Patienten erhielten je nach Art und Stadium ihrer Grunderkrankung eine Konditionierung mit Hochdosischemotherapie und / oder Ganzkörperbestrahlung (siehe Tabelle 2.4.1).

Die Ganzkörperbestrahlung zur Konditionierung erfolgte in Abhängigkeit von der Grunderkrankung entweder in einfacher fraktionierter Bestrahlung mit jeweils 2,5 Gray an 4 aufeinanderfolgenden Tagen (nach Quast U et al 1985) oder in hyperfraktionierter Bestrahlung mit jeweils 2 mal 2 Gray an 3 aufeinanderfolgenden Tagen (Baume D et al 1989). Es wurden in Translationstechnik jeweils 50 % in Bauch- und Rückenlage verabreicht. Die Dosis in Lungenmitte wurde mittels individuell angepaßter Transmissionsblöcke auf 80 % der Zielvolumendosis reduziert.

Tabelle 2.4.1: Konditionierungsprotokolle:

1. Standardprotokoll für AML, CML und MDS in erster kompletter Remission (1.CR) bzw. chronischer Phase (CP) und ohne zusätzliche Risikofaktoren (Kersey JH et al 1970):
 - Tag -7 bis -4: je 250 rad Ganzkörperbestrahlung (fraktioniert, nach Quast U et al 1985)
 - Tag -3 und -2: je 60 mg / kgKG Cyclophosphamid

2. Alternativprotokoll für vorbestrahlte Patienten (Tuschka PE et al 1987):
 - Tag -7 bis -4: je 4 mg / kgKG Busulphan
 - Tag -3 und -2: je 60 mg / kgKG Cyclophosphamid

3. Standardprotokoll für ALL und maligne Lymphome sowie intensiviertes Protokoll für AML, CML und MDS > 1.CR bzw. > CP oder anderen Risikofaktoren (Giralt SA 1994).
 - Tag -7 bis -5: je 2 x 200 rad Ganzkörperbestrahlung (hyperfraktioniert, Baume D et al 1988)
 - Tag -4: 40 mg / kgKG Etoposid (VP 16)
 - Tag -3 und -2: je 60 mg / kgKG Cyclophosphamid

4. Alternativ für maligne Lymphome CVB (Zander AR et al 1987)
 - Tag -6 bis -3: CY je 1500 mg / m²KO
 - Tag -6 bis -3: VP16 je 250 mg / m²KO
 - Tag -6: BCNU 300 mg / m²KO
 - (Tag -14 bis -12: Idarubicin 3x20 mg / m²KO)

5. Multiples Myelom (Helenglass G et al 1988) :
 - Tag -4: 70 mg / m² Melphalan anstatt VP 16
 - sonst wie Protokoll 3

6. Schwere aplastische Anämie (Santos GW et al 1976)
 - Tag -5 bis -2: je 50 mg / kgKG Cyclophosphamid.

7. Ewingsarkom (Young MM et al 1989):
 - Tag -7 bis -5: TBI je 2 x 150 rad
 - Tag -6: Melphalan 30mg / m²
 - Tag -4: Carboplatin 200mg / m²
 - Tag -3: VP16 2300mg

(Siehe auch Review bei Copelan EA et al 1992)

2.4.4 Durchführung der Stammzelltransplantation

Die Knochenmarktransplantation erfolgte klassisch nach der in der Arbeit von Donnall E 1970 beschriebenen Methode. Dabei wurde eine Zahl von 3×10^8 kernhaltigen Knochenmarkzellen pro kg Körpergewicht des Patienten angestrebt. Die Infusion des Knochenmarkes erfolgte am Tag der Entnahme. Bei Patienten mit Major-ABO-Inkompatibilität wurde eine Buffy-Coat-Präparation durchgeführt und zusätzlich vor Transfusion 250 mg Methylprednisolon appliziert. Auch wenn bei

PBSZ-T die Stammzellseparation an mehreren Tagen durchgeführt wurde, wurden die Separate am gleichen Tag transfundiert.

2.4.5 Protokoll der G-CSF-Therapie

Eine Ampulle r-metHUG-CSF Handelsname Neupogen® enthält 1 ml Lösung entsprechend 300 µg r-metHUG-CSF. R-metHUG-CSF wurde bei einer Temperatur von 2 - 8 °C gelagert. Die Lösung wurde unverdünnt in einer Tagesdosis subkutan injiziert.

Tag 1 bis 5 nach KMT:

Unabhängig von der Granulozytenzahl erhielten die Patienten des Therapiearmes eine Tagesdosis von 10 µg / kgKG r-metHU-G-CSF s.c..

Ab Tag 6 war die Dosis abhängig von der im peripheren Blut gemessenen Zahl neutrophiler Granulozyten. War die Granulozytenzahl nach dem Tag 6 an drei aufeinanderfolgenden Tagen größer als 1000 / µl, so wurde die Dosis auf 5 µg / kgKG / Tag reduziert. Lagen die Granulozytenzahlen drei weitere Tage über 1000 pro µl, so wurde die Dosis weiter auf 1 µg / kgKG / Tag reduziert. Lag die Granulozytenzahl drei weitere Tage über 1000 pro µl, so wurde r-metHU-G-CSF ganz abgesetzt.

Sank die Granulozytenzahl nach Dosisreduktion unter 1000 / µl, so wurde die Dosis wieder auf die vorherige Dosis erhöht. Sie wurde um eine weitere Dosisstufe erhöht, falls die Granulozytenzahl nach drei weiteren Tagen nicht wieder auf über 1000 / µl angestiegen war und erst wieder reduziert, wenn die Zahl wieder an drei aufeinanderfolgenden Tagen über 1000 / µl lag.

Am Tag 21 sollten die Granulozytenzahlen 1000 pro µl erreicht haben. Falls dies nicht der Fall war, wurde die Dosis auf 20 µg / kgKG erhöht. Lagen die Werte am Tag 28 noch unter 1000 pro µl, so wurde die Dosis weiter auf 30 µg / kgKG erhöht. Falls am Tag 35 die Grenze von 1000 pro µl Granulozyten immer noch nicht erreicht war, wurde die Dosis auf die Maximaldosis von 60 µg / kgKG erhöht. Eine weitere Dosiserhöhung war nicht geplant.

2.4.6 Beendigung der G-CSF-Therapie

Die G-CSF-Therapie wurde bei Erreichen von Granulozytenzahlen von über 5000 / µl abgesetzt und erst wieder in der nächst niedrigeren Dosierungsstufe begonnen, wenn die Granulozytenzahlen wieder unter 1500 / µl absanken.

Die G-CSF-Therapie wurde des Weiteren bei Nachweis eines Blastenanteils von über 5% im Knochenmarkausstrich sofort abgebrochen.

2.4.7 Protokoll der GvHD-Prophylaxe

Die Standard GvHD-Prophylaxe erfolgte mit Kurzkurs Methotrexat und Cyclosporin-A (Seattle Protokoll, Beelen et al 1990).

MTX erhielten die Patienten am Tag 1 in einer Dosis von 15 mg / m², sowie am Tag 3 und 6 in einer Dosis von 10 mg / m²KO.

CsA wurde zunächst ab dem Tag -1 als 12-Stunden-Kurzinfusion in einer initialen Dosis von 4 mg / kgKG intravenös verabreicht. Sechs Stunden nach Ende der Infusion wurden die CSA-Talspiegel im peripheren venösen Blut der Patienten bestimmt. Die CSA-Dosis wurde an diese Spiegel sowie an die Nierenfunktion angepaßt. Angestrebt wurde ein CSA-Spiegel von 300-400 ng / ml periphervenöses Blut am Tag 8.

Vor Rekontamination und Ausschleusung aus der sterilen Therapieeinheit erfolgte die Umstellung auf orale CSA-Gabe. Begonnen wurde mit dem 3-fachen der letzten i.v.-Dosis, verteilt auf täglich 2 Gaben. Vor der ersten morgendlichen Gabe wurden die Talspiegel bestimmt. Angestrebt wurden minimale Talspiegel von 200 ng/ml.

Bei Patienten, die keine akute GvHD erlitten, wurde ab Tag 100 nach Transplantation CsA ausschleichend abgesetzt. Bei Patienten die eine akute GvHD erlitten, wurde die CSA-Therapie über mindestens ein Jahr fortgesetzt.

2.4.8 Protokoll der Infektionsprophylaxe.

Die supportive antiinfektiöse Therapie wurde bei allen Patienten gleichartig durchgeführt. Sie bestand aus:

- Unterbringung in einer sterilen Therapieeinheit mit laminarer Sterilluft (laminar airflow, LAF) ab Tag -7.
- Das Essen, alle Kleidungsstücke und alle anderen Gegenstände wurden vor Einschleusung in das Patientenzimmer desinfiziert.
- Das Wasser der Nasszelle wurde bakterienfrei gefiltert.
- Sulfametoxazol 800 mg + Trimethoprim 160 mg 2 x 1 Tbl. p.o. (Tag -8 bis Tag -1 morgens.)
- Ganzkörperwaschungen und Hautpinselungen mit Desinfektionslösungen (z.B. Polividon-Iod im Bereich der Axilla, Anogenitalregion, Interdigitalräume, retroaurikulär) 1 x pro Tag (Tag -8 bis Ausschleusung).
- ggf. Vaginalovula mit Polividon-Iod und Nystatin im Wechsel 2 x pro Tag (Tag -8 bis Ausschleusung)
- Neomycinpulver in die Nase 1 x pro Tag (Tag -8 bis Ausschleusung).
- Amphotericin B Suspension 48 ml pro Tag (Tag -8 bis Ende Immunsuppression)
- Amphotericin B 100 mg 4 x 4 Tbl. Pro Tag (Tag -8 bis Ende Immunsuppression)
- Mundspülungen mit Polividon-Iod und Hexetidin im Wechsel 6x pro Tag (Tag -8 bis Ende Immunsuppression)
- Colistin 4 x 4 Tabletten pro Tag (Tag -8 bis Ausschleusung)
- Paromomycin 250 mg 4 x 2 Kps. pro Tag (Tag -8 bis Ausschleusung)
- Acyclovir 3 x 500 mg / m² / Tag i.v. (Tag -8 bis ca. Tag 50), 400 mg 4 Tbl. / Tag (Tag 50 bis Tag 200)
- Polyvalentes Immunglobulin 500 mg / kgKG / Woche i.v. (Tag -8 bis Ausschleusung) dann 500 mg / kgKG i.v. alle 4 Wochen.

Bei Auftreten von Fieber unklaren Ursprungs (FUO, fever of unknown origin) oder sonstigen klinischen Zeichen einer Infektion erhielten die Patienten eine Therapie mit Breitbandantibiotika, beginnend mit Ampicillin, Ceftazidim und Teicoplanin, bei positivem Erregernachweis gemäß Antibiotogramm.

2.4.9 Substitution von Blutprodukten

Die Substitution mit Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentraten erfolgte entsprechend dem Blutbild. Angestrebt wurde ein Hämoglobinwert von über 8 g / dl, sowie während der Phase der schweren Mukositis Thrombozytenzahlen von über 20 000 / μ l .

Bei klinisch relevanter Blutung (WHO Grad III und IV) wurden zusätzliche Thrombozytenkonzentrate gegeben.

2.4.10 Veno-occlusive-disease (VOD)

Bei Auftreten von klinischen Zeichen einer VOD (Veno occlusive disease), wie Druckschmerz über der Leber, Flüssigkeitsretention, Anstieg des Bilirubins, der alkalischen Phosphatase, des Harnstoffstickstoffes und / oder des Kreatininwertes wurde die Natriumzufuhr möglichst weitgehend reduziert und eine regelmäßige Therapie mit Furosemid begonnen (Schäfer-UW et al 1991).

2.4.11 Kriterien für die Entlassung aus der stationären Überwachung

Voraussetzung für die Entlassung der Patienten war eine abgeschlossene Regeneration der Hämatopoese (Engraftment = 1000 Leukozyten / μ l), Fieberfreiheit, keine klinischen Zeichen einer Infektion bzw. ausgeheilte Infektionen sowie die erfolgte Umstellung von parenteraler auf orale Ernährung. Die Substitution von Erythro- und Thrombozytenkonzentraten wurde gegebenenfalls ambulant fortgesetzt.

2.5 Labormethoden

2.5.1 Protokoll für die CFU-GM-Stammzellassays

Das gemeinsame Prinzip bei der Anzüchtung der verschiedenen Stammzellen besteht darin, eine ausreichende Zahl mononukleärer Knochenmarkzellen (ca. 10^5) in einem geeigneten Material

(Methylzellulose, Agar u.a.) zu immobilisieren und mit Gewebekulturmedium, Serum oder Plasma sowie mit Substanzen zu versorgen, die koloniestimulierende Aktivität besitzen. Die hier verwendete Technik (modifiziert nach Iscove et al 1972) wird in den folgenden Abschnitten beschrieben:

Zur Knochenmarkgewinnung wird unter sterilen Bedingungen die Spina iliaca posterior superior des Beckenkammes punktiert und mittels einer 20 ml Spritze 2-3 ml Knochenmark aspiriert. Auf die Gewinnung größerer Mengen Knochenmark wurde verzichtet, um eine übermäßige Verdünnung durch peripheres Blut zu vermeiden. Als Antikoagulanzen wird 1 ml (5000 IE) Heparin novo® (Novo Industries, Mainz) verwendet. Dieses Heparinpräparat enthält keine Konservierungsstoffe, so dass ein toxischer Effekt auf Knochenmarkstammzellen vermieden wird. Durch Zentrifugation in einem Dichtegradienten wurden die mononukleären Knochenmarkszellen angereichert (40 Minuten, 400 g). Das von uns verwandte Zellseparationsmedium (Lymphoprep; Nyegaard, Oslo) stellt eine Mischung aus Natriummetrizoat (9,6 % w/v) und Ficoll (5,6 % w/v) dar und weist eine spezifische Dichte von 1,077 +/- 0,001 g / ml auf. Während Erythrozyten und Granulozyten bei der Zentrifugation durch die Lymphoprep-Lösung auf den Boden des Gefäßes sedimentieren, sammeln sich mononukleäre Zellen (MNC), darunter auch die Knochenmarkstammzellen, als opaleszierende Bande über dem Separationsmedium an (Interphase).

Die isolierten mononukleären Zellen werden mit dem mehrfachen Volumen an Phosphatpuffer verdünnt (Endvolumen 20 ml) und mit Hilfe einer sterilen Pipette sorgfältig gemischt. Anschließend wird die Suspension bei Raumtemperatur 10 Minuten lang mit 400 g zentrifugiert. Dieser Waschvorgang wird zweimal wiederholt, um geschädigte Zellen oder kontaminierende Plasmabestandteile, die das Wachstum der CFU-GM hemmen könnten, möglichst vollständig zu entfernen.

Nach der 3. Zentrifugation werden die Zellen mit PBS (ca. 5 ml) resuspendiert und nach mikroskopischer Auszählung in einer Neubauer-Zählkammer auf eine Konzentration von ca. 1×10^6 MNC / ml eingestellt.

Die Auszählung der Zellen wird mit der Vitalitätsprüfung kombiniert. Der Test beruht darauf, dass lebende Zellen den Farbstoff Trypanblau nicht aufnehmen, während sich bei toten oder geschädigten Zellen Zytoplasma und Kern anfärben. Zur Durchführung des Farbtests werden 20 µl Zellsuspension (ca. 1×10^6 MNC / ml) mit 20 µl 0,5 % Trypanblau-Lösung (Boehringer, Mannheim) und 200 µl Phosphatpuffer vermischt. Die Endkonzentration des Farbstoffes beträgt in diesem Ansatz 0,18 %. Nach kurzer Inkubationsdauer (2-3 Minuten) wird die Suspension wiederum in eine Neubauer-Zählkammer gefüllt und unverzüglich ausgezählt. Die Konzentration der MNC liegt nur etwa bei 10^6 / ml. Die genaue Konzentration muß bestimmt werden, damit jeder Ansatz zur Zellkultivierung genau auf eine Konzentration von 1×10^5 MNC / ml eingestellt werden kann.

Anstelle von Baktoagar, das von vielen Autoren für in-vitro-Knochenmarkkultur bevorzugt wird, wird in Düsseldorf Methylzellulose verwendet. Diese Substanz zeichnet sich durch ein paradoxes Temperaturverhalten aus und zeigt bei höheren Temperaturen eine deutliche Viskositätszunahme, die für die Immobilisierung der Knochenmarkszellen erforderlich ist. Methylzellulose-haltige Kultursysteme besitzen den Vorteil, dass die Kolonien isoliert und zytomorphologisch untersucht werden können (Kubota K et al 1981, Dao C et al 1977).

Methocel A4M Premium (Dow Chemical, Stade-Brunshausen) zeichnet sich im Vergleich zu anderen Methylzellulose-Präparaten, die zuvor getestet wurden, durch eine besonders gute Löslichkeit aus und liefert selbst in höheren Konzentrationen eine optisch klare Matrix. Die Viskosität einer 2%-igen wässrigen Methocel-Lösung beträgt 4000 cP. Durch Verwendung einer 2,5%-igen Lösung konnten die von einigen Autoren beschriebenen Nachteile der Methylzellulosekultur (Sedimentation der Zellen während der Inkubation) vermieden werden. Unter diesen Bedingungen bereitet auch die Identifikation und Auszählung kleinerer Zellaggregate keine Schwierigkeiten (Olveti E et al 1992).

Der Nachweis der CFU-GM erfolgt in einem 1-Schichtsystem unter Verwendung einer präformierten CSF-Quelle. Gegenüber der Doppelschicht-Methode („feeder-layer“) von Pike und Robinson (1970) weist diese Technik den Vorteil auf, dass definierte Mengen von koloniestimulierenden Faktoren zugegeben werden können; „single-layer“-Kulturen sind außerdem einfacher durchzuführen und auszuwerten.

Von geringen Modifikationen abgesehen, werden die Knochenmarkkulturen nach der von Iscove et al 1972 angegebenen Arbeitsvorschrift durchgeführt. Anstelle von McCoy 5A-Medium wird Iscove's modified Dulbecco's Medium (IMDM) verwandt, das von vielen Autoren für die Kultivierung von Knochenmarkstammzellen bevorzugt wird. Es handelt sich um ein serumfreies Medium, das im Vergleich zu Dulbecco's MEM durch mehrere Aminosäuren, Vitamine und Selen angereichert ist und Bicarbonat und HEPES als Puffersysteme enthält.

Auf eine Supplementierung mit Antibiotika oder Antimykotika wird verzichtet, um mögliche toxische Wirkungen auf Stammzellen zu vermeiden. Außerdem wurde die Erfahrung gemacht, dass es bei der Anzucht von Granulozyten- und Makrophagenkolonien nur äußerst selten zu einer Verkeimung der Zellkulturen kommt. Zur Förderung des Zellwachstums wurde fötales Kälberserum in einer Endkonzentration von 40 % zugesetzt sowie 20 µl der Aminosäure Glutamin (Gibco 200 mM) als essentieller Nährstoff. Als Wachstumsfaktoren dienen GM-CSF (Essix, München, Deutschland) und Interleukin 3 (IL-3, Boehringer, Mannheim). Für die gesamte Versuchsreihe müssen einheitliche Produktionschargen zur Verfügung stehen. Durch Vorversuche wurde herausgefunden, dass eine Konzentration von 100 ng / ml GM-CSF und 1 mg / ml IL-3 in den Kulturansätzen ein optimales Wachstum der CFU-GM ermöglichen.

Die Konzentration der MNC in den folgenden Ansätzen beträgt 1×10^5 / ml. Höhere Konzentrationen erschweren die Auswertung der Knochenmarkkulturen, und führen dazu, dass zu häufig Überlappungen zwischen den einzelnen Kolonien auftreten. Für die Beschickung von 2 Petrischalen wird in einem sterilen Proberöhrchen folgender Ansatz vorbereitet:

1000 µl	fötales Kälberserum
25 µl	GM-CSF
25 µl	IL-3
20 µl	Glutamin
x µl	Zellsuspension mit $2,5 \times 10^5$ MNC
y µl	IMDM ad 1500 µl

$x \text{ µl MNC Zellsuspension} = 2,5 \times 10^5 \text{ MNC} / \text{Konzentration der MNC in der Zellsuspension [MNC/µl]}$

Mit einer 1 ml Tuberkulinspritze werden 1000 µl Methylzellulose hinzugegeben. Das Gesamtvolumen des Ansatzes beträgt somit 2,5 ml. Durch mehrmaliges Aufziehen wird der Röhrcheninhalt sorgfältig durchmischt.

Vor der Weiterverarbeitung wird darauf geachtet, dass die Suspensionen keine Lufteinschlüsse aufweisen, die die spätere mikroskopische Auswertung der Zellkulturen erheblich stören und zu empfindlichen pH-Verschiebungen führen können. 1 ml des Gemisches wird mit einer neuen Tuberkulinspritze aufgezogen und in die Mitte einer kleinen Petrischale (35mm) gegeben. Durch Schwenken wird das Material auf dem gesamten Plattenboden gleichmäßig verteilt. In gleicher Weise wird eine zweite Petrischale beschickt und beide werden zusammen mit einer dritten 35 mm-Petrischale, die mit 1 ml Aquadest gefüllt ist, in eine große Petrischale (94 mm) gestellt. Durch die Flüssigkeit in der dritten Schale soll eine Austrocknung der Zellkulturen verhindert werden. Die 94 mm-Petrischalen werden mit einem Deckel versehen, genau beschriftet und anschließend im Brutschrank (Typ b 5060 EK/CO₂, Heraeus, Hanau) inkubiert.

Die Inkubation der Zellkulturen erfolgt bei einer Temperatur von 37 °C in einer mit Wasserdampf gesättigten Atmosphäre und einem CO₂-Gehalt der Luft von 6 %. Die hohe Luftfeuchtigkeit wird durch ein Wasserbad im Innenraum des Inkubators ermöglicht. Unter diesen Bedingungen treten auch bei längerer Inkubation keine bedeutsamen pH-Verschiebungen des Kulturmediums (7,2 - 7,4) auf.

Um der Variabilität der Koloniebildung Rechnung zu tragen, wird jedes Experiment als Doppelansatz durchgeführt. Mit dem dazu erforderlichen Gesamtvolumen des Ansatzes (2x 2,5 ml) werden 4 kleine Petrischalen beschickt.

Auswertung der Zellkulturen:

Die Auswertung der Knochenmarkstammzellkolonien erfolgt an den Tagen 7 und 14 mit Auszählung der Granulozyten- und Makrophagen-Zellaggregate, jeweils differenziert nach Kolonien und Clustern, mit Hilfe eines umgekehrten Mikroskops (Diavert®, Leitz, Wetzlar). Auszählung und Zuordnung der Kolonien ist in der Regel mit einer Übersichtsvergrößerung (25-fach) möglich. Um Doppelzählungen zu vermeiden, wird die Schale auf einen Plastikboden mit eingeschliffenem quadratischem Raster gestellt. Aggregate, die aus mindestens 40 Zellen bestehen, werden als Kolonien definiert, während kleinere Ansammlungen (4-39 Zellen) als Cluster bezeichnet werden. Diese Grenzwerte werden auch von den meisten anderen Autoren für die Unterscheidung von Kolonien und Clustern zugrunde gelegt. Auf eine Einteilung der Cluster in Mikro- und Makroaggregate wird verzichtet.

Granulozyten- und Makrophagenkolonien können aufgrund ihrer charakteristischen Morphologie von einander abgegrenzt werden:

Granulozytäre Kolonien sind durch ein kompaktes Zentrum aus dicht gedrängten Zellen sowie eine lockere Randzone gekennzeichnet. Die einzelnen Zellen sind nahezu gleich groß, kreisförmig, scharf begrenzt und durchscheinend. Mit fortschreitender Inkubationsdauer ist - als Hinweis für eine Ausreifung der Zellen - eine zunehmende Auflockerung der Kolonien zu beobachten. Die granulozytären Zellen in der Peripherie scheinen auseinander zu streben und weisen dabei geringe Form- und Größenunterschiede auf.

Daneben finden sich - vornehmlich am Tag 14 - vereinzelte kleinere „späte“ Kolonien, die aus dicht gepackten granulozytären Zellen zusammengesetzt sind. Insgesamt bestehen zwischen den granulopoetischen Kolonien erhebliche Form- und Größenunterschiede, wobei einzelne Kolonien aus über 1000 Zellen bestehen können.

Makrophagenkolonien unterscheiden sich deutlich von den granulozytären Kolonien. Die monozytären Zellen sind größer, nicht kreisrund und nur mäßig durchscheinend. Sie wirken eher bräunlich mit einem im Gegensatz zu den granulozytären Zellen strukturiert erscheinenden Zellinneren. Die einzelnen Zellen liegen weniger dicht gepackt und mit meist deutlichem Abstand nebeneinander vor. Die gesamte Kolonie ist normalerweise aus wesentlich weniger Zellen zusammengesetzt als eine granulozytäre Kolonie. Äußerst selten werden Kolonien gefunden, die gleichzeitig Zellen der Granulo- und Monozytopoese enthalten. Auch wenn diese Zellen in einer optischen Ebene zusammen liegen, ist nicht sicher auszuschließen, dass sie aus zwei separaten, zufällig zusammenliegenden Stammzellen hervorgegangen sind. Kolonien, die ganz überwiegend aus einem Zelltyp aufgebaut sind und nur vereinzelte, versprengt liegende Zellen der Granulo- bzw. Monozytopoese werden nicht als gemischte Kolonien gewertet.

2.5.2 Bestimmung der CD34+Zellzahlen in den Präparaten der PBSZ

Die Zählung der CD34+Zellen erfolgt nach immunphänotypischer Markierung mit dem entsprechenden fluoreszenzmarkierten Antikörper (IOP34, Fa. Dianova, Hamburg, Deutschland) mittels laserimpulsgesteuerter Durchflußzytometrie (FACScan, Becton Dickinson, Paolo Alto, USA). Einzelheiten zur Durchführung der durchflußzytometrische Bestimmung der CD34+Zellen sind bei Kobbe G et al 1997 beschrieben.

2.6 Statistische Verfahren

2.6.1 Erfassung

Die klinischen Daten wurden zur Auswertung parallel zum Krankheitsverlauf in den Patientenakten sowie in einer EDV-gestützten Datenbank festgehalten und hieraus zur Auswertung entnommen.

2.6.2 Überlebensanalyse nach Kaplan-Meier, Kaplan-Meier-Kurven, Log-Rank-Test

Mittels Kaplan-Meier-Analyse wurden alle diejenigen Faktoren verglichen, die über einen Zeitraum beobachtet wurden, dessen Endpunkt nicht von allen Patienten erreicht wurde. Mit ihr lassen sich zum einen kumulative Wahrscheinlichkeiten für das Erreichen des Endpunktes zu bestimmten Zeiten

angeben (z.B. Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeiten zu bestimmten Zeitpunkten nach der Transplantation, etc.). Zum anderen lassen sich mediane Zeiträume bis zum Erreichen des Endpunktes angeben. Dies ist der Zeitpunkt, zu dem 50 % der Personen das entsprechende Ereignis (kumulativ) erreicht haben (z.B. mediane Dauer bis zum Erreichen bestimmter Blutbildwerte, etc.). Zur graphischen Darstellung dieser Verteilungen dient die Kaplan-Meier-Kurve. Der Log-Rank-Test ist der entsprechende statistische Test zum Vergleich zweier oder mehrerer dieser Verteilungen.

2.6.3 Mann-Whitney-U-Test (Wilcoxon-Rank-Summ-Test, Mann-Whitney-Wilcoxon-Test, U-Test)

Der Mann-Whitney-U-Test ist ein nicht parametrischer Test zum Vergleich von zwei unabhängigen Stichproben. Er setzt kontinuierliche Verteilung der Daten, einen Stichprobenumfang von $n \geq 4$ für jede Stichprobe sowie beim Vergleich von Medianwerten eine annähernd gleiche Verteilung der Stichproben voraus. Hiermit lassen sich zum Beispiel Medianwerte von Laborwerten zu bestimmten Zeitpunkten vergleichen.

2.6.4 Exakter Test nach Fisher

Der exakte Test nach Fisher ist ein Test für Kontingenztafeln für unverbundene Stichproben. Im Gegensatz zum χ^2 -Test für Kontingenztafeln dürfen hier mehr als 20 % der erwarteten Zelhäufigkeiten unter fünf liegen. Er eignet sich für diskret verteilte Daten. Er wurde als Test für Vierfelder-Tafeln verwandt. Mit diesem Test wurde die Häufigkeit des Auftretens bestimmter Ereignisse, wie z.B. schwerer Infektionen, schwerer GVHDs (s. Abschnitt 2.2), etc. in zwei Therapiegruppen verglichen.

2.6.5 Boxplot

Der Boxplot ist eine graphische Methode zur Darstellung der Verteilung von Daten, deren Verteilungsform nicht bekannt ist. Die Linie innerhalb der Box stellt den Medianwert dar, die Box enthält die mittleren fünfzig Prozent der Werte. Die oberen und unteren Balken enden beim Maximum und Minimum der Werte ohne Ausreißer und Extremwerte. Ausreißer sind Werte, die um 1,5 bis 3 Boxenlängen über bzw. unter der oberen bzw. unteren Boxenbegrenzung liegen, Extremwerte entsprechen mehr als drei Boxenlängen.

2.6.6 Bivariate Korrelation

Die Pearson-Korrelation ist ein Maß der linearen Zuordnung zwischen zwei Variablen. Werte des Korrelationskoeffizienten r liegen im Bereich zwischen -1 und +1. Der absolute Wert des Korrelationskoeffizienten zeigt die Stärke des linearen Zusammenhangs an. Sie ist um so größer, je näher der Wert des Korrelationskoeffizienten bei +1 / -1 liegt. Das Vorzeichen von r zeigt die Richtung des Zusammenhangs an.

2.6.7 Signifikanzniveau

$p(a;b)$ gibt die Irrtumswahrscheinlichkeit an, mit der die Nullhypothese, d.h. die Hypothese, dass die Gruppen a und b sich in Bezug auf die untersuchten Daten nicht unterscheiden, verworfen werden kann.

Als Signifikanzniveau wird durchgehend $p = 0,05$ festgesetzt.

Das Kürzel ns steht für nicht signifikant und ersetzt p-Werte von über 0,10. P-Werte zwischen 0,05 und 0,10 werden nicht durch das Kürzel ns ersetzt, um einen Trend, der möglicherweise nur auf Grund der niedrigen Fallzahlen keine Signifikanz erreicht, zu verdeutlichen.

3 Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

3.1.1 Datum der Transplantation und Beobachtungszeitraum

Insgesamt wurden in der Zeit von Februar 1991 bis zum Mai 1997 vierundsiebzig Patienten transplantiert, die die Kriterien zur Aufnahme in eine der drei Gruppen erfüllten. 45 Patienten erhielten im Rahmen der G-CSF-Studie eine Transplantation mit dem Knochenmark ihrer HLA-identischen Geschwisterspender, 29 erhielten allogene periphere Stammzellen ebenfalls von HLA-identischen Geschwisterspendern.

22 der mit Knochenmark transplantierten Patienten wurden dem Therapiearm der G-CSF-Studie randomisiert zugeteilt und erhielten zusätzlich im Anschluss an die Transplantation r-methHUG-CSF, Filgrastim (Neupogen®) in einer Dosis von 10 µg / kgKG / Tag. 23 Patienten wurden der Kontrollgruppe KMT zugeteilt.

Die letzte Transplantation mit Knochenmarkszellen fand im Januar 1995 statt. Danach wurden alle weiteren Patienten, die zur allogenen Transplantation anstanden, mit peripheren Blutstammzellen ihrer HLA-identischen Geschwister transplantiert.

Der letzte Patient, der in die Studie aufgenommen wurde, wurde im Mai 1997 transplantiert. Die Erfassung der Patientendaten erfolgte für alle Gruppen bis zum August 1997, so dass der Beobachtungszeitraum für die später transplantierten Patienten der Gruppe PBSZ-T kürzer ist. Die mediane Nachbeobachtungszeit wurde für alle überlebenden Patienten (Gruppe KMT n=15 , KMT+G-CSF n=9, PBSZ-T n=22) errechnet als die Zeitspanne vom Tag der Transplantation bis zum Tag der letzten Nachuntersuchung (Follow-up).

Die Beobachtungszeiträume für die Patienten der Gruppen KMT, KMT+G-CSF und PBSZ-T betragen 47 (24-70), 43 (26-57) und 11 (1,3-27) Monate im Median (Minimum bis Maximum). Die Beobachtungszeiträume der überlebenden Patienten der Gruppen KMT und KMT+G-CSF unterschieden sich nicht signifikant. Die Datenauswertung begann im September 1997. Zu diesem Zeitpunkt war die Datenerfassung abgeschlossen.

3.1.2 Alter und Geschlecht

In Bezug auf Alter, Geschlecht, Grunderkrankung und Tumorstadium sind die drei Gruppen gleichmäßig verteilt, wie Tabelle 3.1.1 zu entnehmen ist. Das Alter der Patienten bei Transplantation betrug in den einzelnen Gruppen (KMT, KMT+G-CSF und PBSZ-T) im Median (Minimum-Maximum) 34 (26-53), 32 (17-59) und 40 (17-54) Jahre.

Es wurden in den drei Gruppen 12 (52,2%), 7 (31,8%) bzw. 10 (35,7%) weibliche Patienten und 11 (47,8%), 15 (68,2%) bzw. 19 (67,9%) männliche Patienten transplantiert.

3.1.3 Grunderkrankungen und Stadien der Grunderkrankung bei Transplantation

Es wurden Patienten mit folgenden Grunderkrankungen transplantiert:

- Akute myeloische Leukämie (AML)
- Akute lymphatische Leukämie (ALL)
- Chronisch myeloische Leukämie (CML)
- Myelodysplastisches Syndrom (MDS)
- Non-Hodgkin-Lymphom (NHL)
- Multiples Myelom (MM)
- Hodgkin-Lymphom
- Schwere aplastische Anämie (SAA)
- Ewingsarkom

Tabelle 3.1.1: Patientenkollektiv.

	Gruppe								
	KMT		KMT+G-CSF		PBSZ-T		p		
	0		1		2		0;1	0;2	1;2
Gesamtanzahl der Patienten	23		22		29		Mann-Whitney-		
Datum KMT / PBSZ-T von / bis	Feb 91	Jan 95	Jun 91	Dez 94	Jan 95	Mai 97	U-Test		
Nachbeobachtung [Monate] Median (Min.-Max.)	47	(24;70)	43	(26-57)	11	(1,3;27)	ns	!	!
Alter Median (Min; Max)	34	(26;53)	32	(17;59)	40	(17;54)	ns	ns	ns
							Exakter Test		
	Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent	nach Fischer		
Geschlecht weiblich	12	52,2	7	31,8	10	35,7	ns	ns	ns
Geschlecht männlich	11	47,8	15	68,2	19	67,9			
Diagnosen									
AML	4	17,4	7	31,8	6	20,7	ns	ns	ns
ALL/AUL	1	4,3	2	9,1	7	24,1	ns	(+)	ns
CML	9	39,1	6	27,3	7	24,1	ns	ns	ns
MDS	3	13,0	2	9,1	1	3,4	ns	ns	ns
NHL	4	17,4	2	9,1	4	13,8	ns	ns	ns
MM	1	4,3	1	4,5	3	10,3	ns	ns	ns
Hodgkin	0	0,0	0	0,0	1	3,4	ns	ns	ns
SAA	1	4,3	1	4,5	0	0,0	ns	ns	ns
Ewing	0	0,0	1	4,5	0	0,0	ns	ns	ns
Tumorstadium									
CR1 oder CP	15	65,2	14	63,6	18	64,3	ns	ns	ns
>CR1 oder >CP	8	34,8	8	36,4	11	39,3			
Geschlechtverhältnis Spender => Empfänger									
Geschlecht identisch	13	56,5	11	50,0	13	46,4	ns	ns	ns
weiblich => männlich	10	43,5	12	54,5	10	35,7	ns	ns	ns
männlich => weiblich	6	26,1	3	13,6	8	28,6	ns	ns	ns
CMV-Status Spender / Empfänger									
nur Empfänger positiv	1	4,3	4	18,2	4	14,3	ns	ns	ns
nur Spender positiv	4	17,4	4	18,2	1	3,6	ns	ns	ns
beide positiv	5	21,7	6	27,3	14	50,0	ns	(+)	ns
Blutgruppeninkompatibilität									
Major	4	17,4	6	27,3	4	14,3	ns	ns	ns
Konditionierung									
TBI + Hochdosischemotherapie	21	91,3	21	95,5	24	82,8	ns	ns	ns
Reine Hochdosischemotherapie	2	8,7	1	4,5	5	17,2	ns	ns	ns

ns = nicht signifikant; (+) = ns, p < 0,1; + = p < 0,05; # = p < 0,01, ! = p ≤ 0,001

Die Anzahl der Patienten, die an der jeweiligen Grunderkrankung litten, sowie der Anteil in Prozent an der Gesamtzahl der Patienten der jeweiligen Gruppe sind der Tabelle 3.1.1 Abschnitt Diagnosen zu entnehmen. Bei Transplantation befanden sich 15 (65,2%), 14 (63,6%) bzw. 18 (64,3%) im Stadium der ersten kompletten Remission (CR1) oder in chronischer Phase einer CML (CP). Bei 8 (34,8%), 8 (36,4%) bzw. 11 (39,3%) der Patienten befand sich die Grunderkrankung in einem fortgeschritteneren Stadium (>CR1 oder >CP).

3.1.4 Geschlechtsverhältnis von Spender und Empfänger

Das Geschlechtsverhältnis von Spender und Empfänger der Transplantation ist der Tabelle 3.1.1 zu entnehmen.

Dabei ist jeweils die Anzahl der Transplantationen in der jeweiligen Gruppe, bei der Spender und Empfänger das angegebene Geschlecht hatten sowie der Anteil an der Gesamtzahl der Transplantationen in der Gruppe eingetragen. Es ergibt sich eine gleichmäßige Verteilung über alle drei Gruppen.

3.1.5 CMV-Status von Spender und Empfänger

In Tabelle 3.1.1 ist die Anzahl der Transplantationen, bei denen Spender und Empfänger den angegebenen Status in Bezug auf die Cytomegalie-Virus-Serologie hatten und der Anteil an der Gesamtzahl der Transplantationen der jeweiligen Gruppe eingetragen. Es ergibt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Gruppen.

3.1.6 Blutgruppeninkompatibilität

Bei den Patienten der Gruppe KMT, KMT+G-CSF und PBSZ-T bestand bei 4 (17,4%), 6 (27,3%) und 4 (14,3%) eine Major-Blutgruppeninkompatibilität zwischen Spender und Empfänger. (p = ns).

3.1.7 Konditionierung

21 (91,3%), 21 (95,5%) und 24 (82,8%) der Patienten der jeweiligen Gruppe erhielten eine Konditionierung mit Ganzkörperbestrahlung (TBI, Total Body Irradiation) und Hochdosischemotherapie. Im einzelnen richtete sich die Konditionierungstherapie nach Grunderkrankung und Stadium der Erkrankung. Eine Übersicht gibt die Tabelle 3.1.2. Einzelheiten zu den Protokollen sind Kapitel 2.4.3 zu entnehmen. Die restlichen Patienten erhielten eine alleinige Hochdosischemotherapie zur Konditionierung.

Tabelle 3.1.2: Konditionierungstherapie nach Grunderkrankung

Eingetragen ist für die drei Gruppen die Anzahl der Patienten, die die links angegebene Konditionierungstherapie erhielten. In Klammern sind die Nummern der in Kapitel 2.4.3 genauer ausgeführten Protokolle angegeben.

	KMT	KMT+G-CSF	PBSZ-T
<u>AML, CML und MDS mit</u>			
• Standardprotokoll (1)	13	11	4
Alternativprotokoll.			
• für vorbestrahlte Patienten (2)	0	0	3
• intensiviertes Protokoll (3)	3	5	7
<u>ALL und maligne Lymphome mit</u>			
• Standardprotokoll (3)	3	3	9
Alternativ:			
• NHL mit CVB (4)	1	0	1 (+Idarubicin*)
• NHL mit Melphalan statt VP16 (5)	1	0	0
• Hodgkin mit CVB	0	0	1

* Bei diesem Patienten entstand das NHL als Zweitmalignom nach Hodgkin-Lymphom.

Die Patienten mit SAA, MM und Ewingsarkom wurden gemäß ihren Standardprotokollen therapiert.

3.2 Qualität der Stammzellpräparate

Die Qualität der Knochenmarkstammzellpräparate, die die Patienten der Therapiegruppe KMT+G-CSF und der Kontrollgruppe KMT erhielten, unterschied sich - gemessen an der Zahl der kernhaltigen Zellen pro Kilogramm Körpergewicht des Empfängers - erwartungsgemäß nicht signifikant. Durch die Mobilisierung peripherer Blutstammzellen mittels G-CSF war es jedoch möglich, den Patienten der Gruppe PBSZ-T signifikant mehr kernhaltige Zellen pro Kilogramm Körpergewicht des Patienten zu übertragen. Die Anzahl von CD34⁺-Zellen wurde nur für die peripheren Blutstammzellpräparate bestimmt (Siehe Tabelle 3.2.1).

Tabelle 3.2.1: Qualität der Stammzellpräparate

	Gruppe						p		
	KMT		KMT+G-CSF		PBSZ-T				
	0	1	2	0;1	0;2	1;2			
	Median	Min-Max	Median	Min-Max	Median	Min-Max	M.-W.-U-Test		
Anzahl kernhaltiger Zellen ¹⁾	6,3	2,7-11,8	5,0	2,4-10,5	10,3	4,2-27,1	ns	!	!
Anzahl CD-34 ⁺ -Zellen ²⁾	X	X	X	X	5,3	0,9-13,5	X	X	X

ns = nicht signifikant; (+) = ns, p < 0,1; + = p < 0,05; # = p < 0,01, ! = p ≤ 0,001

¹⁾ Anzahl kernhaltiger Zellen des Transplantates [x 10⁸ pro kgKG des Patienten]

²⁾ Anzahl CD-34⁺-Zellen des Transplantates [x 10⁶ pro kgKG des Patienten]

3.3 Engraftment und des Transfusionsbedarfes in den drei Gruppen

Tabelle 3.3.1: Anstieg der Leukozyten- und Granulozytenzahlen

Mediane Dauer bis zum Erreichen der links angegebenen Blutbildwerte, 95%-Konfidenzintervall für den Median, Anzahl der berücksichtigten Patienten.

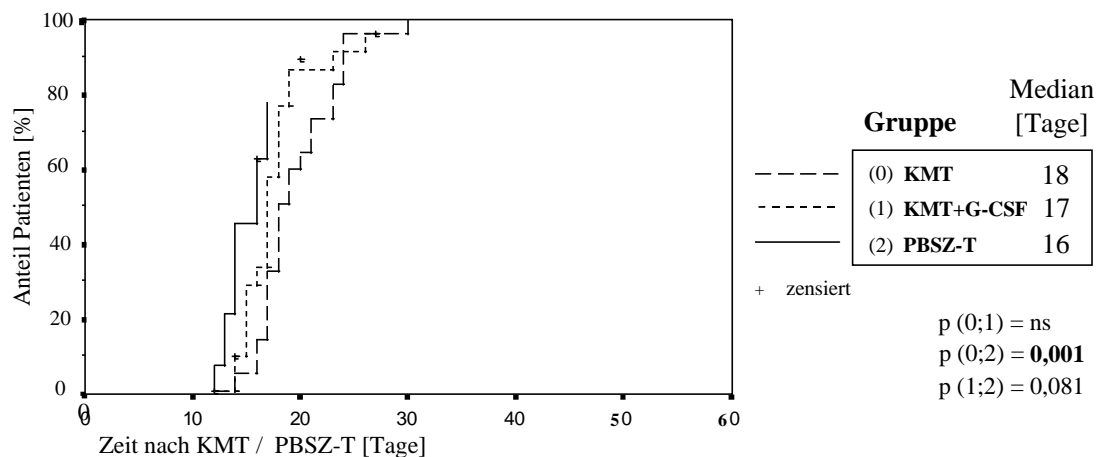
	Gruppe									p (Log Rank)		
	KMT			KMT+G-CSF			PBSZ-T					
	0	1	2	0;1	0;2	1;2						
	Dauer	95%-	N	Dauer	95%-	N	Dauer	95%-	N			
	Median	Konfidenz-		Median	Konfidenz-		Median	Konfidenz-				
		intervall			intervall			intervall				
Leukozyten > 1000 / µl [Tage]	18	16-20	23	17	16-18	22	16	14-18	29	ns	!	(+)
Leukozyten > 2000 / µl [Tage]	21	15-27	23	18	17-19	22	19	17-21	29	#	#	ns
Leukozyten > 3000 / µl [Tage]	27	21-33	22	19	18-20	22	20	18-22	28	!	#	+
Granulozyten > 500 / µl [Tage]	20	18-22	23	17	16-18	22	19	17-21	27	(+)	#	ns
Granulozyten > 1000 / µl [Tage]	22	17-27	23	18	16-20	22	19	17-21	26	!	#	ns
Granulozyten > 1500 / µl [Tage]	25	20-30	23	19	18-20	22	20	19-21	26	!	#	ns

ns = nicht signifikant; (+) = nicht signifikant, p < 0,1; + = p < 0,05; # = p < 0,01, ! = p ≤ 0,001

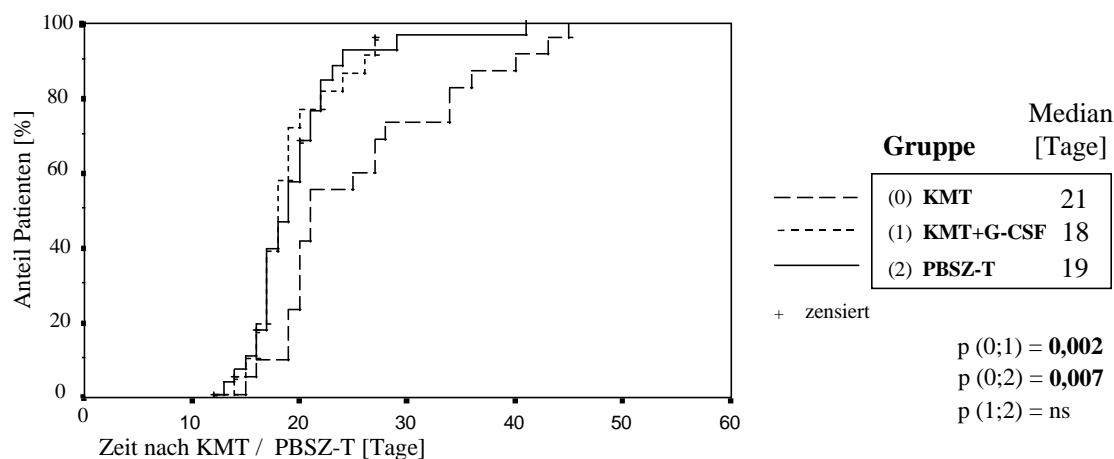
Abbildung 3.3.1: Anstieg der Leukozytenzahlen

Dargestellt ist jeweils der kumulative Anteil der Patienten, die die angegebene Leukozytenzahl erreicht haben, in Abhängigkeit von der Zeit nach KMT / PBSZ-T in Tagen aufgetragen.

a) Anstieg der Leukozytenzahlen auf über 1000 / μl .



b) Anstieg der Leukozytenzahlen auf Werte von über 2000 / μl



c) Anstieg der Leukozytenzahlen auf Werte von über 3000 / μl .

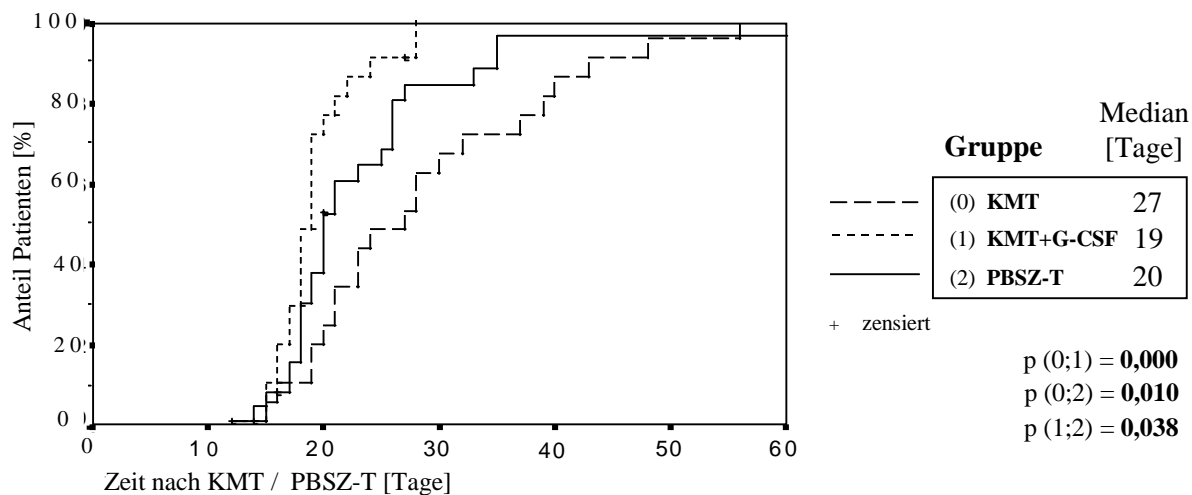
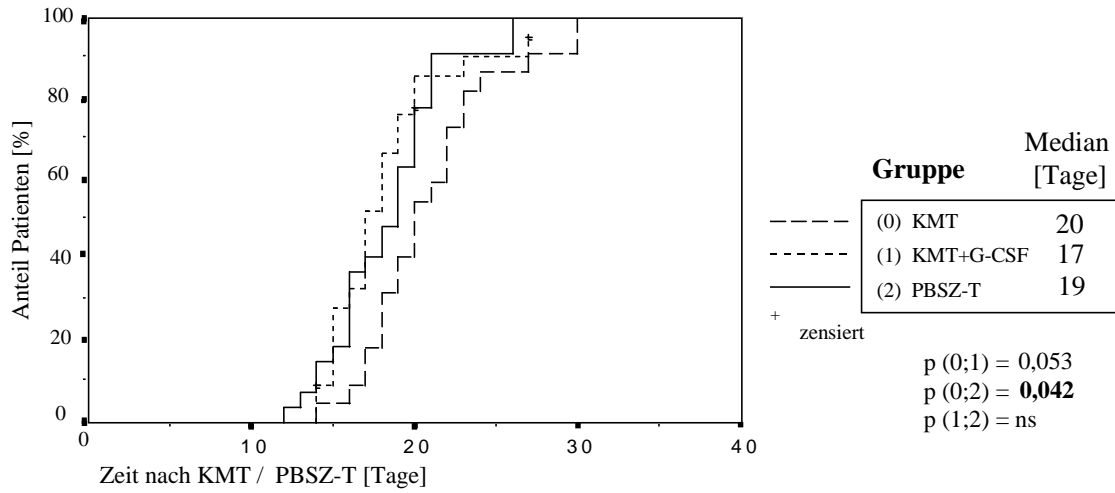


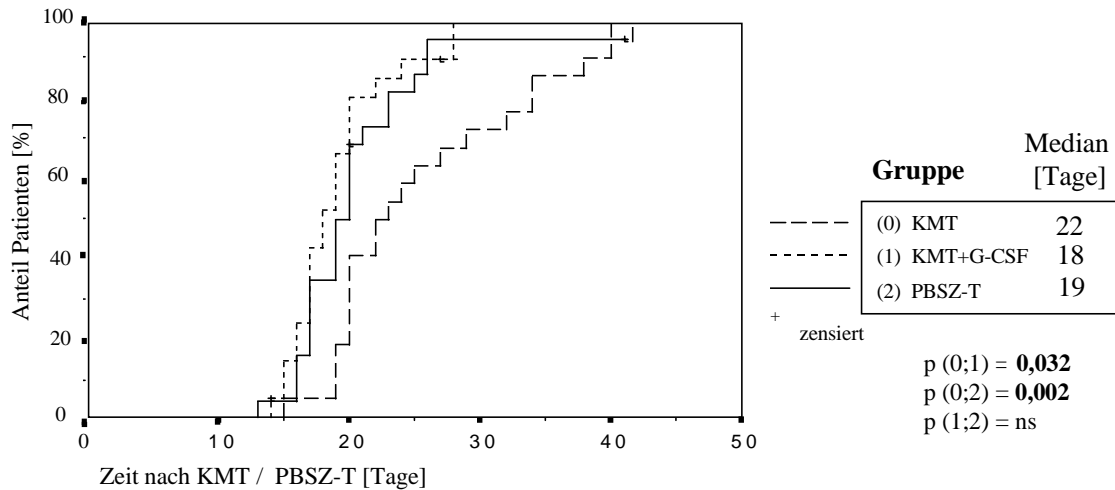
Abbildung 3.3.2: Anstieg der Granulozytenzahlen

Dargestellt ist jeweils der kumulative Anteil der Patienten, die die angegebene Granulozytenzahl erreicht haben, in Abhängigkeit von der Zeit nach KMT / PBSZ-T in Tagen aufgetragen.

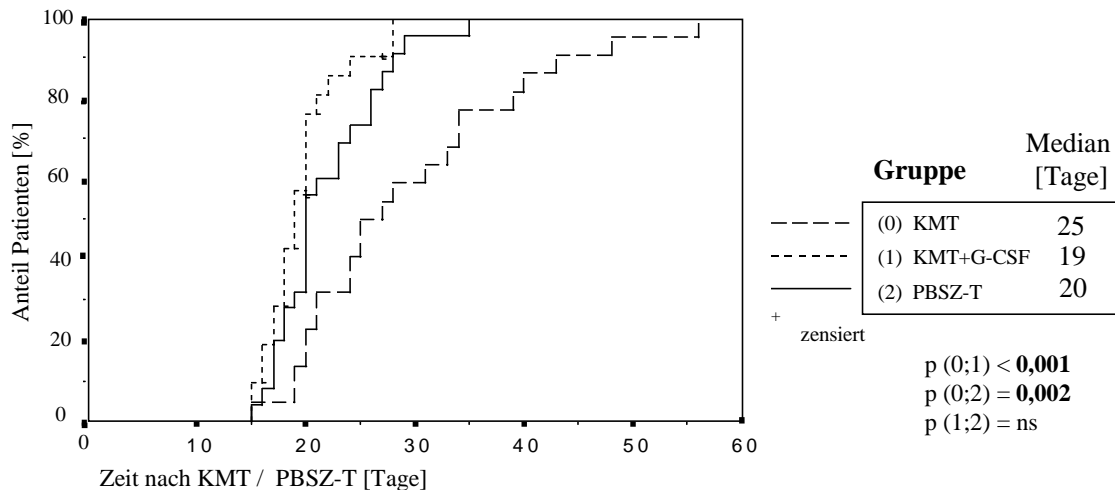
a) Anstieg der Granulozytenzahlen auf Werte von über 500 / μ l



b) Anstieg der Granulozytenzahlen auf Werte von über 1000 / μ l



c) Anstieg der Granulozytenzahlen auf Werte von über 1500 / μ l



3.3.1 Anstieg der Granulozyten- und Leukozytenzahlen in den drei Gruppen

In der Gruppe KMT verstarb ein Patient, bevor er Leukozytenzahlen von 1000 / μ l bzw. Granulozytenzahlen von 500 / μ l erreichte. Ein Patient dieser Gruppe erlitt ein Rezidiv, bevor er Leukozytenzahlen von 3000 / μ l erreichte.

In der Gruppe KMT+G-CSF verstarben zwei Patienten, bevor sie Leukozytenzahlen von 1000 / μ l bzw. Granulozytenzahlen von 500 / μ l erreichten.

In der Gruppe PBSZ-T verstarben zwei Patienten, bevor sie Leukozytenzahlen von 1000 / μ l bzw. Granulozytenzahlen von 500 / μ l erreichten. Ein Patient dieser Gruppe erlitt ein Rezidiv, bevor er Leukozytenzahlen von 3000 / μ l erreichte. Bei zwei weiteren Patienten ließen sich die genauen Tage des Anstieges der Granulozytenzahlen nicht bestimmen.

Gegenüber den Patienten der Kontrollgruppe KMT zeigte sich sowohl bei den Patienten, die zusätzlich G-CSF erhielten, als auch bei den Patienten, die periphere Stammzellen erhielten, ein beschleunigter Anstieg der Leukozytenzahlen insgesamt sowie speziell der Granulozytenzahlen. Die Zeit der Agranulozytose (weniger als 500 / μ l Granulozyten) dauerte bei den Patienten, die G-CSF nach KMT erhielten, 3 Tage weniger als bei den Patienten der Kontrollgruppe (im Median 17 vs. 20 Tage, $p = 0,053$). Bei den Patienten, die periphere Stammzellen erhielten, dauerte die Agranulozytosezeit einen Tag weniger als bei den Patienten der Kontrollgruppe (19 vs. 20, $p = 0,042$). Die Abbildungen 3.3.1 a und 3.3.2 a zeigen, dass der Unterschied im Erreichen von Granulozytenzahlen von 500 / μ l und von 1000 / μ l Leukozyten gering war. Signifikante Vorteile ergaben sich für die beiden Therapiegruppen KMT+G-CSF und PBSZ-T für das Erreichen von 1000 und 1500 Granulozyten / μ l und 2000 und 3000 Leukozyten / μ l (Abb. 3.3.1 b/c und 3.3.2 b/c).

3.3.2 Regeneration der Erythropese in den drei Gruppen

Tabelle 3.3.2 : Regeneration der Erythropese und Substitution mit Erythrozytenkonzentraten

	Gruppe									p
	KMT 0			KMT+G-CSF 1			PBSZ-T 2			
	Dauer Median	95%-Konf.- intervall	N	Dauer Median	95%-Konf.- intervall	N	Dauer Median	95%-Konf.- intervall	N	Log -Rank
Letztes Erythrozytenkonz. [Tage]	38	25-51	23	49	29-69	22	45	35-55	29	ns ns ns
Hämoglobin > 10 g/dl [Tage]	118	107-129	23	118	97-139	22	98	53-143	29	ns ns ns
Hämoglobin > 12 g/dl [Tage]	188	122-253	22	330	175-485	22	315	149-480	29	ns ns ns
	Anzahl Median	5.-95. Perzentile	N	Anzahl Median	5.-95. Perzentile	N	Anzahl Median	5.-95. Perzentile	N	M.-W.-U-Test
Erythrozytenkonzentrate pro Pati	13	4-51	23	18	3-33	22	9,0	2-32	29	ns ns +

ns = nicht signifikant; (+) = nicht signifikant, $p < 0,1$; + = $p < 0,05$; # = $p < 0,01$, ! = $p \leq 0,001$

Die Überlebenszeit der transfundierten Erythrozyten und die Tatsache, dass die Grenzen der Hämoglobinwerte oft erst während der ambulanten Nachbehandlung überschritten wurden, also zu Zeiten, zu denen Blutabnahmen nur noch in größeren Abständen stattfanden, machen den Vergleich der Hämoglobinwerte ungenau.

In jeder der drei Therapiegruppen waren 4 von den verstorbenen Patienten bis zum Tode transfusionsbedürftig.

6 Patienten der Gruppe KMT erreichten einen Hämoglobinwert von 10 g / dl nicht, da sie zuvor verstarben. Ein Patient dieser Gruppe erlitt ein Rezidiv, bevor er einen Hämoglobinwert von 12 g / dl erreichte. Ein Patient erreichte bis zum Ende der Nachbeobachtungszeit keinen Hämoglobinwert von 12 g / dl. Ein Patient dieser Gruppe erreichte diesen Wert erst nach 38,2 Monaten (siehe Abbildung 3.3.4).

In der Gruppe KMT+G-CSF waren es 4 Patienten, die einen Hämoglobinwert von 10 g / dl nicht erreichten, da sie zuvor verstarben. Ein weiterer verstarb, bevor er einen Hämoglobinwert von 12 g /

dl erreichte. In dieser Gruppe erlitten 3 Patienten ein Rezidiv, bevor sie einen Hämoglobinwert von 10 g / dl erreichten und 2 weitere, bevor sie einen Hämoglobinwert von 12 g / dl erreichten.

4 Patienten der Gruppe PBSZ-T erreichten einen Hämoglobinwert von 10 g / dl nicht, da sie zuvor verstarben. In der Gruppe PBSZ-T waren es 3 Patienten, die bis zu ihrer letzten Nachuntersuchung keinen Hämoglobinwert von 10 g / dl aufwiesen. 12 weitere erreichten bis zu diesem Zeitpunkt nicht 12 g / dl.

Die Patienten der Gruppe KMT+G-CSF haben mehr Erythrozytenkonzentrate erhalten, als die Patienten der Gruppe PBSZ-T (Median 18 vs. 9, $p = 0,016$). Ansonsten ergaben sich keine Unterschiede im Anstieg der Hämoglobinwerte oder in der Dauer der Transfusionsbedürftigkeit.

Abbildung 3.3.3: Anzahl der benötigten Erythrozytenkonzentrate

Dargestellt ist die Anzahl von Erythrozytenkonzentraten, die die Patienten der drei Gruppen benötigten als Boxplot. Die horizontalen Balken in den Boxen stellen die Medianwerte dar, die zusätzlich als Zahlenwerte angegeben sind. Die Boxen enthalten die mittleren 50 % der Werte. Die Säulen enden an den Minima und Maxima ohne Ausreißer (o) und Extremwerte (*). (siehe auch Abschnitt 2.6.5)

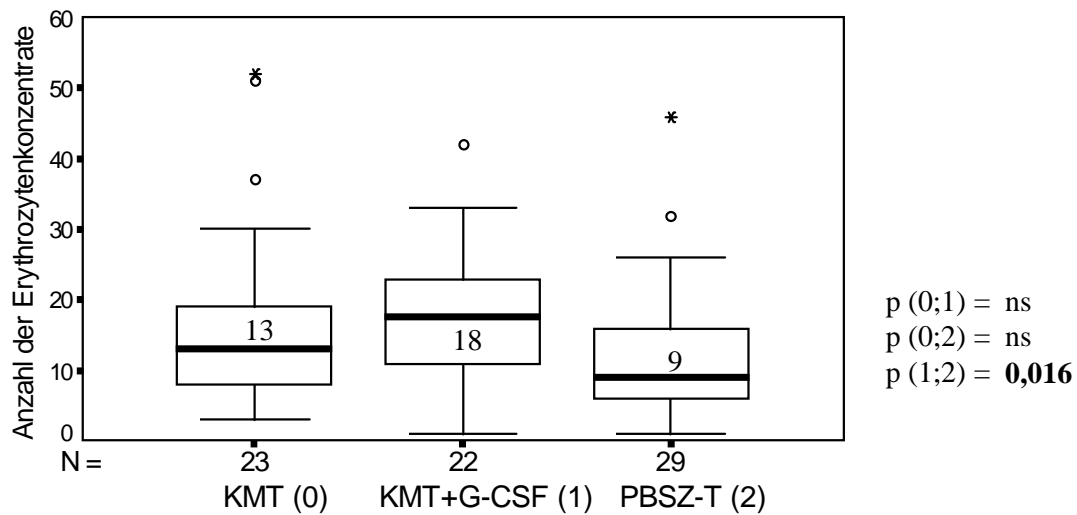
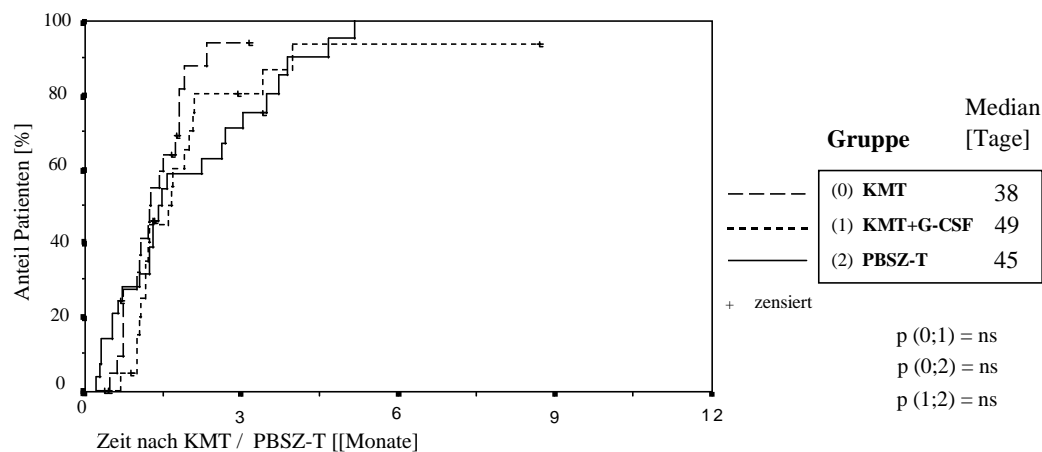


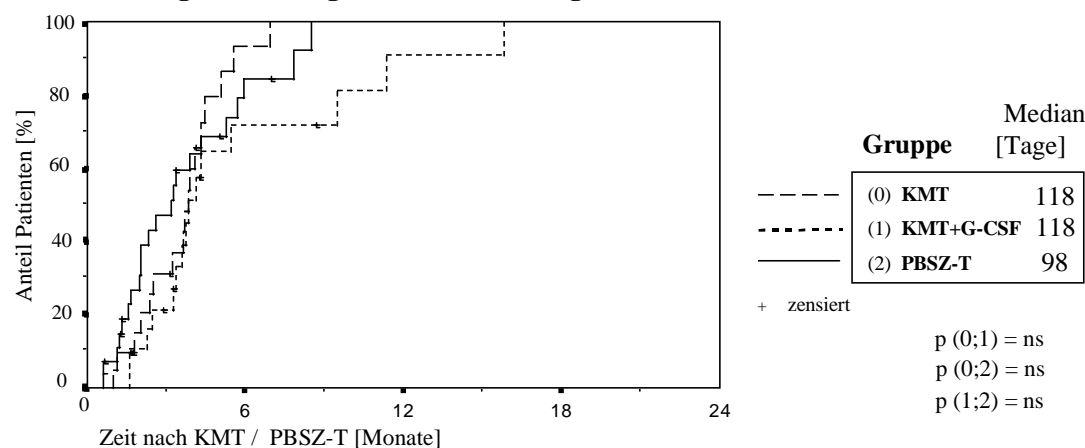
Abbildung 3.3.4: Zeit bis zur Unabhängigkeit von Erythrozytenkonzentraten und Anstieg der Hämoglobinwerte

Kumulativer Anteil von Patienten, die nicht mehr transfusionsbedürftig waren (a) sowie der, die die angegebenen Grenzen für den Hämoglobinwert erreicht haben (b und c), in Abhängigkeit von der Zeit nach KMT / PBSZ-T (Abszisse in Monaten, Medianwerte in Tagen).

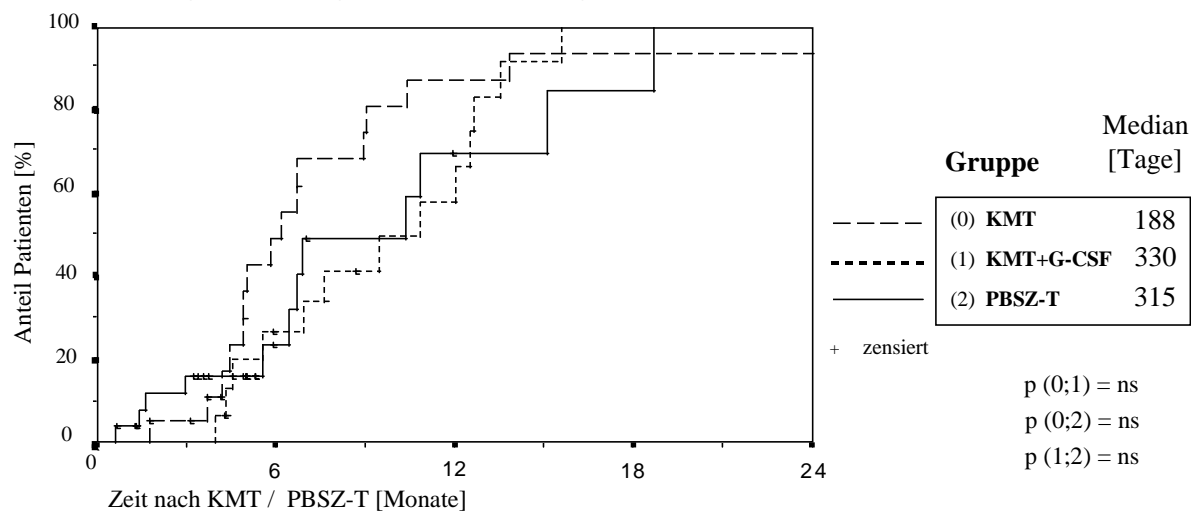
a) Unabhängigkeit von Erythrozytenkonzentraten (Dauer der Transfusionsbedürftigkeit)



b) Anstieg der Hämoglobinwerte auf 10 g / dl.



c) Anstieg der Hämoglobinwerte auf 12 g / dl.



3.3.3 Regeneration der Megakaryozytopoese in den drei Gruppen

Die Ergebnisse sind in Tabelle 3.3.3 und in den Abbildungen 3.3.5 und 3.3.6 zusammengefasst.

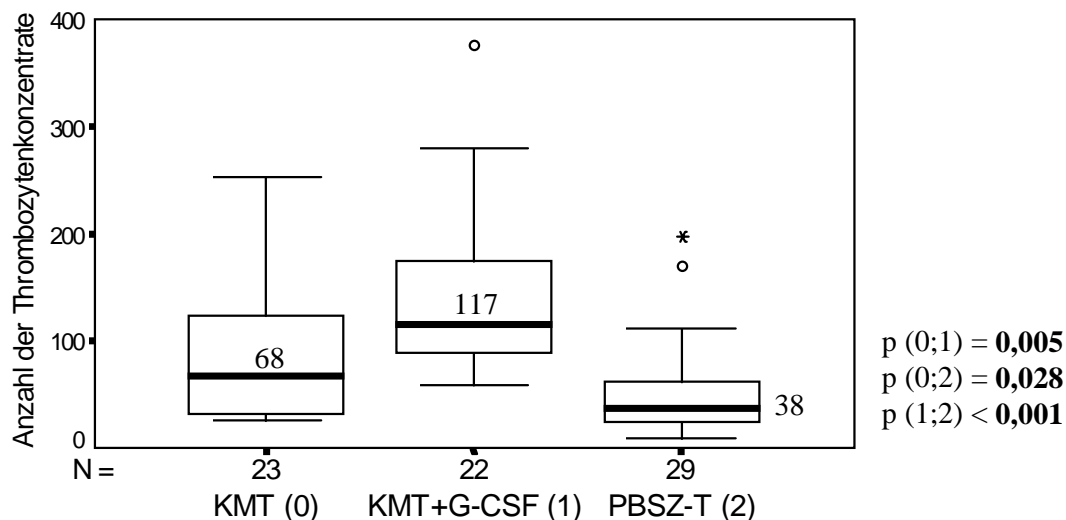
Tabelle 3.3.3: Regeneration der Megakaryozytopoese und Substitution mit Thrombozytenkonzentraten.

	Gruppe									p		
	KMT 0			KMT+G-CSF 1			PBSZ-T 2					
	Dauer Median	95%-Konf.- intervall	N	Dauer Median	95%-Konf.- intervall	N	Dauer Median	95%-Konf.- intervall	N	Log-Rank- Test		
Letztes Thrombozytenkonz. [Tage]	22	16-28	23	42	36-48	22	22	12-34	29	(+)	ns	ns
Thrombozyten > 50 000 / μ l [Tage]	28	25-31	23	45	32-58	22	26	21-31	29	ns	ns	ns
Thrombozyten > 100 000 / μ l [Tage]	33	29-37	23	93	65-121	22	57	17-97	28	+	ns	ns
	Anzahl Median	5.-95. Perzentile	N	Anzahl Median	5.-95. Perzentile	N	Anzahl Median	5.-95. Perzentile	N	Mann-Whitney- U-Test		
Thrombozytenkonzentrate pro Patient	68	26-165	23	117	64-281	22	38	13-171	29	#	+	!

ns = nicht signifikant; (+) = nicht signifikant, $p < 0,1$; + = $p < 0,05$; # = $p < 0,01$, ! = $p \leq 0,001$

Abbildung 3.3.5: Anzahl der Thrombozytenkonzentrate

Dargestellt ist die Anzahl von Thrombozytenkonzentraten, die die Patienten der drei Gruppen benötigten als Boxplot. Die horizontalen Balken in den Boxen stellen die Medianwerte dar, die zusätzlich als Zahlenwerte angegeben sind. Die Boxen enthalten die mittleren 50 % der Werte. Die Säulen enden an den Minima und Maxima ohne Ausreißer (o) und Extremwerte (*). (siehe auch Abschnitt 2.6.5)



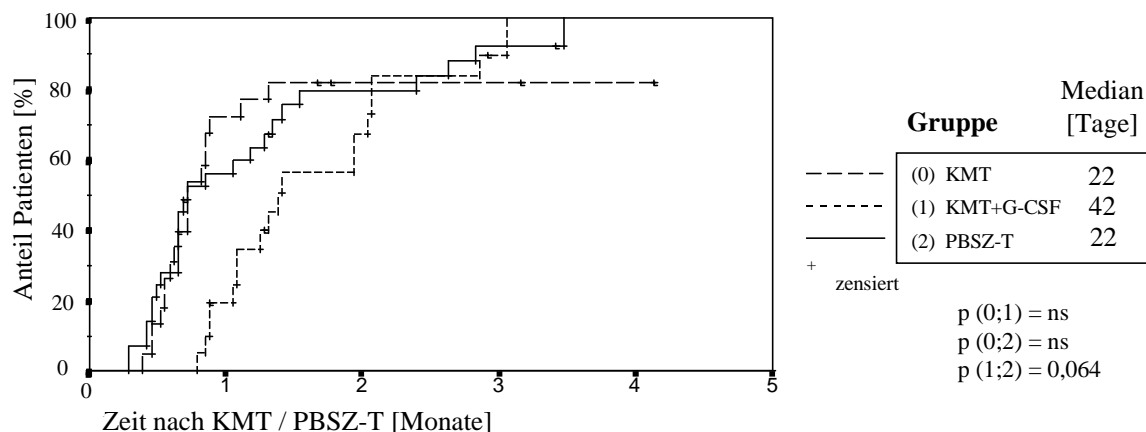
5 Patienten der Gruppe KMT erhielten bis zum Tode Thrombozytenkonzentrate. Ein Patient erlitt ein Rezidiv, bevor er 100 000 / μ l Thrombozyten erreichte.

4 Patienten der Gruppe KMT+G-CSF erhielten bis zum Tode Thrombozytenkonzentrate. Ein Patient erlitt ein Rezidiv bevor er 50 000 / μ l Thrombozyten erreichte, ein weiterer, bevor er 100 000 / μ l erreichte.

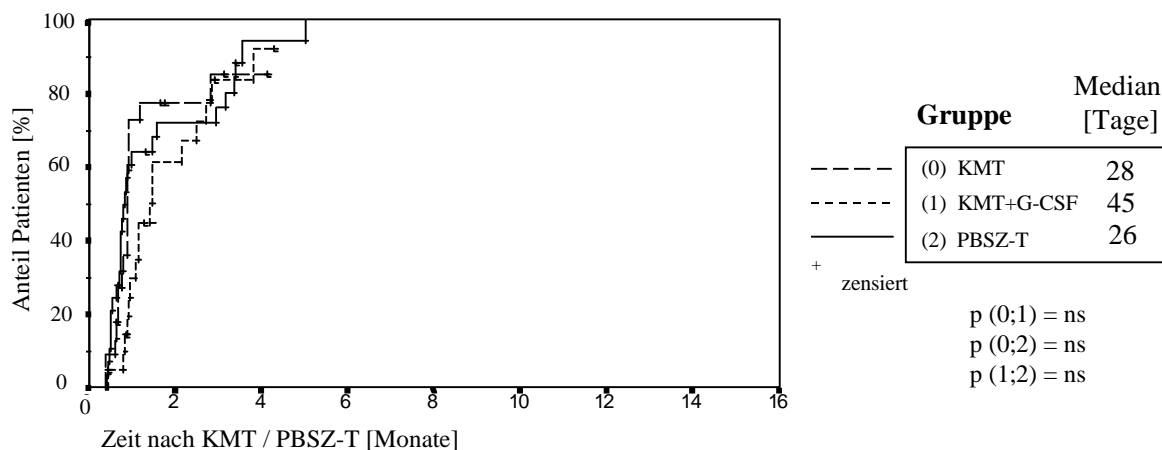
Abbildung 3.3.6: Dauer bis zur Unabhängigkeit von Thrombozytenkonzentraten und Anstieg der Thrombozytenzahlen

Kumulativer Anteil von Patienten, die keine Thrombozytenkonzentrate mehr benötigten (a) sowie der Patienten, die die angegebenen Grenzen für die Thrombozytenzahlen erreichten (b und c) in Abhängigkeit von der Zeit nach KMT / PBSZ-T (Abszisse in Monaten, Medianwerte in Tagen).

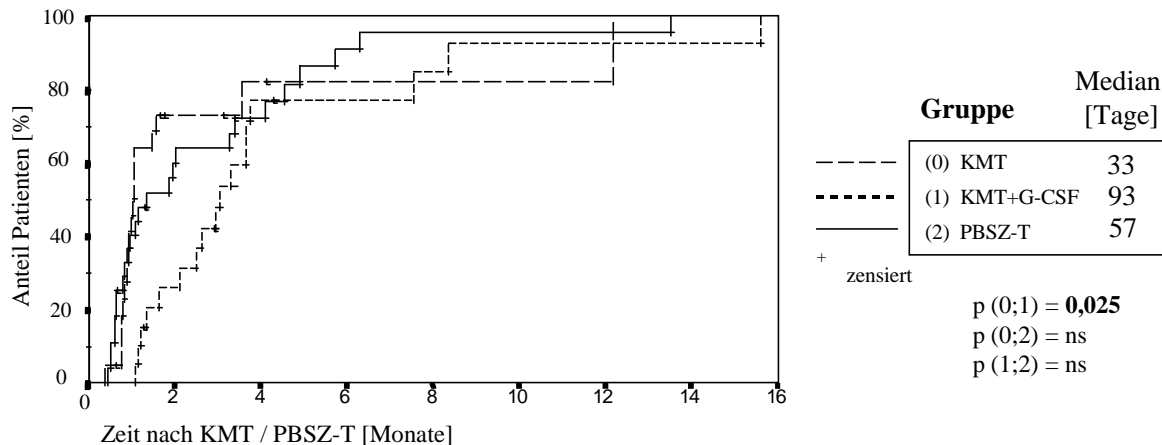
a) Dauer bis zur Unabhängigkeit von Thrombozytenkonzentraten



b) : Anstieg der Thrombozytenzahlen auf 50 000 pro μ l.



c): Anstieg der Thrombozytenzahlen auf 100 000 pro μ l.



2 Patienten der Gruppe PBSZ-T erhielten bis zum Tode Thrombozytenkonzentrate, ein Patient bis zu seiner letzten Nachuntersuchung. Ein Patient erlitt ein Rezidiv, bevor er 100 000 / μl Thrombozyten erreichte. Bei 2 Patienten endete zuvor die Nachbeobachtungszeit.

Die Patienten, die im Anschluss an die Knochenmarktransplantation G-CSF erhielten, benötigten im Median 20 Tage länger Thrombozytenkonzentrate (42 vs. 22, $p = 0,068$), pro Patient im Median 49 Thrombozytenkonzentrate mehr (117 vs. 68, $p = 0,005$) und erreichten Thrombozytenzahlen von 100 000 / μl im Median 60 Tage später (93 vs. 33, $p = 0,025$) als die Patienten, die eine Knochenmarktransplantation erhielten, ohne nachfolgend mit G-CSF therapiert zu werden.

Die Patienten der Gruppe PBSZ-T benötigten mit im Median 38 die wenigsten Thrombozytenkonzentrate. ($p = 0,028$ zur Gruppe KMT und $p < 0,001$ zur Gruppe KMT+G-CSF).

Eine verkürzte Dauer der Substitutionsbedürftigkeit für Thrombozytenkonzentrate oder ein beschleunigter Anstieg der Thrombozytenzahlen ließen sich für diese Gruppe jedoch nicht nachweisen.

3.3.4 Blutbildwerte im Verlauf der ambulanten Nachbehandlung in den drei Gruppen

Tabelle 3.3.4: Vergleich der Blutbildwerte im Verlauf der ambulanten Nachbehandlung

Leukozyten-, Granulozyten- und Thrombozytenzahlen sowie der Hämoglobinwert an den Tagen 50, 100 und 365 nach KMT / PBSZ-T. Es wurden alle Patienten berücksichtigt, die zum jeweiligen Zeitpunkt rezidivfrei lebten.

		Gruppe									p		
		KMT			KMT+G-CSF			PBSZ-T					
		0	1	2	0;1	0;2	1;2						
Blutbildwerte	Zeitpunkt nach Transplantation	Median	Min.-Max.	N	Median	Min.-Max.	N	Median	Min.-Max.	N	Mann-Whitneu-U		
Leukozyten [$10^3/\mu\text{l}$]	Tag 50	3,9	1,8-7,5	21	4,5	1,4-10,5	19	3,8	1,6-14,6	23	ns	ns	ns
	Tag 100	3,3	1,8-10,6	17	3,9	1,7-11,6	17	3,3	1,3-6,2	23	ns	ns	ns
	Tag 365	5,9	3,6-7,9	13	5	1,5-3,7	10	6,7	4,2-8,6	11	ns	ns	ns
Granulozyten [$10^3/\mu\text{l}$]	Tag 50	2,9	1,2-6,1	20	2,1	0,9-10,5	16	3,3	0,7-13,9	14	ns	ns	ns
	Tag 100	2	1,2-9,1	14	2	0,5-5,0	14	1,9	0,8-4,1	13	ns	ns	ns
	Tag 365	3,3	2,3-7,0	12	3,3	0,9-4,9	10	4,7	1,8-6,6	10	ns	ns	ns
Thrombozyten [$10^3/\mu\text{l}$]	Tag 50	122	21-359	21	65	10-201	19	70	10-298	23	(+)	+	ns
	Tag 100	170	61-293	14	131	33-191	14	137	18-294	21	+	+	(+)
	Tag 365	220	52-376	13	179	43-279	10	188,5	15-342	10	ns	ns	ns
Hämoglobin in g/dl	Tag 50	9,3	7,4-12,3	21	9,5	7,2-11,9	19	9,5	8,2-13,6	23	ns	ns	ns
	Tag 100	10,8	8,8-14,1	14	9,6	7,4-11,4	14	10,1	8,1-13,6	21	+	(+)	ns
	Tag 365	13,3	11,9-16	13	12,5	9,7-14,5	10	12,1	11,2-14,2	10	ns	+	ns

ns = nicht signifikant; (+) = nicht signifikant, $p < 0,1$; + = $p < 0,05$; # = $p < 0,01$, ! = $p \leq 0,001$

In Tabelle 3.3.4 sind die Blutbildwerte im Verlauf der ambulanten Nachbehandlung an den Tagen 50, 100 und 365 nach KMT / PBSZ-T verglichen. Bezüglich Leukozyten- und Granulozytenzahlen zeigten sich hier keinerlei Unterschiede mehr. Der Anstieg der Thrombozytenzahlen und des Hämoglobinwertes scheint jedoch im Verlauf der ambulanten Nachbehandlung bis zum Tag 365 in der Gruppe KMT am schnellsten verlaufen zu sein.

Die Patienten, des G-CSF-Therapiearmes hatten an den Tagen 50, 100 und 365 im Median geringere Thrombozytenzahlen als die Patienten des Kontrollarmes. Signifikant war der Unterschied am Tag

100 (131 vs. $170 \times 10^3 /\mu\text{l}$, $p = 0,017$). An diesem Tag hatten sie außerdem einen signifikant geringeren Hämoglobinwert (9,6 vs. 10,8 g/dl, $p = 0,018$).

Auch die Patienten, die periphere Stammzellen zur Transplantation erhielten, hatten an den Tagen 50, 100 und 365 nach PBSZ-T geringere Thrombozytenzahlen als die Patienten der Kontrollgruppe KMT. Signifikant war der Unterschied an den Tagen 50 und 100 nach KMT / PBSZ-T (70 vs. $122 \times 10^3 /\mu\text{l}$, $p = 0,035$ und 137 vs. $170 \times 10^3 /\mu\text{l}$, $p = 0,026$). Sie hatten des weiteren an den Tagen 100 und 365 geringere Hämoglobinwerte als die Patienten der Gruppe KMT (10,1 vs. 10,8 g/dl, $p = 0,063$; 12,1 vs. 13,3 g/dl, $p = 0,022$).

3.4 Stammzellkultivierung

3.4.1 Einleitung

Das genaue Protokoll der Stammzellkultivierung ist dem Methodenteil zu entnehmen. Zum Verständnis der Tabellen und Graphiken sollen hier nur Grundzüge wiedergegeben werden.

Den Patienten wurde an den Tagen 14, 21 und 28 nach allogener Knochenmarktransplantation bzw. nach allogener peripherer Blutstammzell-Transplantation Knochenmark aus dem Beckenkamm entnommen. Hiervon wurden nach der im Methodenteil beschriebenen Methode (modifiziert nach ISCOVE et al 1972) CFU-GM-Stammzellassays angesetzt. Auf vier kleinen Petrischalen wurde je 1 ml einer Suspension mit $1 \times 10^5 /\text{ml}$ mononukleären Knochenmarkzellen aufgebracht und diese zwei Wochen bei den im Abschnitt 2.5.1 angegebenen Bedingungen im Brutschrank inkubiert. Nach einer und nach zwei Wochen erfolgte die mikroskopische Auszählung. Dabei wurden die Zellkulturen zum einen nach der Anzahl der sie bildenden Zellen in Zellcluster (4-39 Zellen) und Zellkolonien (mindestens 40 Zellen) und zum anderen nach ihrer Morphologie in granulozytäre (CFU-G-), Makrophagen (CFU-M-) und gemischte (CFU-GM) Kolonien differenziert ausgezählt.

Für jeden Patienten wurden zu jedem Zeitpunkt die Medianwerte für jede Zellreihe aus den Auszählungen der 4 Ansätze bestimmt und hieraus dann die Medianwerte für die einzelnen Gruppen ermittelt. Hier sollen nur die Ergebnisse für die granulozytären Stammzellen (CFU-G-Kolonien und -Cluster) vorgestellt werden.

Bei 48 der 74 Patienten des Gesamtkollektives wurden Stammzellassays angefertigt. Die Auswahl dieser Patienten aus dem Gesamtkollektiv der 74 Patienten mit HLA-identischen Geschwisterspendern erfolgte nach organisatorischen Gesichtspunkten (Verfügbarkeit des Platzes im Labor). 13 gehörten zur Gruppe KMT, 16 zur Gruppe KMT+G-CSF und 19 zur Gruppe PBSZ-T.

Bei vier Patienten der Gruppe KMT, 5 der Gruppe KMT+G-CSF und einem der Gruppe PBSZ-T ließen sich nach der ersten Knochenmarkentnahme keine Stammzellen anzüchten, da bei ihnen keine ausreichende Zahl kernhaltiger Knochenmarkzellen entnommen werden konnte (Punctio sicca). Ihre Ergebnisse werden zum Teil getrennt betrachtet (siehe unten).

Bei zwei Patienten der Gruppe PBSZ-T konnte am Tag 14 nach PBSZ-T keine Knochenmarkpunktion durchgeführt werden. Je ein Patient der Gruppe KMT+G-CSF und der Gruppe PBSZ-T verstarben vor dem Tag 21. Bei einem weiteren Patienten der Gruppe PBSZ-T konnte am Tag 21 keine Knochenmarkpunktion durchgeführt werden. Zusätzlich zu den beiden verstorbenen, konnte bei drei Patienten der Gruppe der Gruppe KMT, einem Patienten der Gruppe KMT+G-CSF und drei Patienten der Gruppe PBSZ-T am Tag 28 keine Punktion durchgeführt werden.

Tabelle 3.4.1: Patienten mit Ergebnissen der Stammzellkultivierung

		KMT	KMT+G-CSF	PBSZ-T
	Gesamtzahl der Patienten	13	16	19
Tag 14	Anzahl der KM-Entnahmen	13	16	17
Tag 21	Anzahl der KM-Entnahmen	13	15	17
Tag 28	Anzahl der KM-Entnahmen	10	14	15

Um die Ergebnisse im Hinblick auf die Aussagefähigkeit über den klinischen Verlauf zu überprüfen, sollen die Patienten zunächst unabhängig von der Zugehörigkeit zu den drei Therapiegruppen anhand der Zellkulturergebnisse der **ersten** Knochenmarkentnahme und den jeweiligen Auszählungsterminen eingeteilt werden. (siehe Tabelle 3.4.2). Im einzelnen werden die Patienten nach den medianen Anzahlen der Zellcluster nach einer Woche Kultivierungszeit (I.) sowie der medianen Anzahl der Zellkolonien nach zwei Wochen Kultivierungszeit (II.) eingeteilt. Gruppe a) ist jeweils die Gruppe von Patienten, bei denen mindestens die mediane Anzahl von CFU-G-Zellclustern bzw. CFU-G-Kolonien gefunden wurde. Bei den Patienten der Gruppe b) wurden weniger als die mediane Anzahl gefunden. Ein Patient konnte hierbei in zwei Gruppen fallen. Dies war dann der Fall, wenn er nach einer Woche Clusterzahlen unter / über dem Medianwert aufwies, nach zwei Wochen bei ihm aber Koloniezahlen über / unter dem Medianwert gezählt wurden.

Eine Gruppe von Patienten ist, wie oben erwähnt, durch das Fehlen einer ausreichenden Zahl von mononukleären Knochenmarkzellen (*Punctio sicca*) bei der ersten Knochenmarkentnahme aufgefallen. Bei ihnen soll die Vermutung, dass es sich um Patienten mit verzögertem Anwachsen der transplantierten Stammzellen handelt, überprüft werden. Sie werden im weiteren als Gruppe c) getrennt von den Patienten, bei denen ausreichend kernhaltige Zellen gewonnen werden konnten, betrachtet.

Es soll die Hypothese untersucht werden, dass es sich bei den Gruppen a) bis c) um Patienten mit in abgestufter Geschwindigkeit des Anwachsens des transplantierten Knochenmarkes, bzw. der transplantierten peripheren Stammzellen handelt.

Tabelle 3.4.2: Einteilung nach der Anzahl der CFU-G-Cluster und Kolonien nach der ersten Knochenmarkentnahme (Tag 14):

I.	nach der medianen Anzahl der <u>CFU-G-Cluster nach einer Woche Inkubationszeit</u>
a)	Patienten mit <u>mindestens 43 CFU-G-Clustern</u> (N=18)
b)	Patienten mit <u>weniger als 43 CFU-G-Cluster</u> (N=18)
c)	Patienten mit <u>Punctio sicca</u> (N=10)
II.	nach der Anzahl der <u>CFU-G-Kolonien nach der zweiten Woche Inkubationszeit</u>
a)	Patienten mit <u>mindestens 66 CFU-G-Kolonien</u> (N=18)
b)	Patienten mit <u>weniger als 66 CFU-G-Kolonien</u> (N=18)
c)	Patienten mit <u>Punctio sicca</u> (N=10)

3.4.2 Stammzellkulturen und Anstieg der Leukozyten

In Tabelle 3.4.3 wurden die Patienten gemäß der Einteilung nach dem Wachstum nach der ersten Knochenmarkentnahme in Bezug auf die Geschwindigkeit des Anstiegs der Leukozyten auf 1000 pro μl verglichen.

Deutlich signifikante Unterschiede ergaben sich lediglich zwischen den Patienten mit Cluster bzw. Koloniezahlen über dem Medianwert und der Gruppe mit *Punctio sicca* (siehe Tabelle 3.4.3). Der Unterschied betrug jedoch lediglich 2 Tage (16 vs 18 Tage, p-Werte siehe Tabelle 3.4.3). Patienten mit weniger CFU-G-Kolonien und Clustern erreichten 1000 Leukozyten / μl einen Tag später als Patienten mit Wachstum über dem Medianwert. Signifikant war der Unterschied bei Unterteilung der Patienten nach den Anzahlen der CFU-G-Cluster.

Tabelle 3.4.3: Vergleich des Anstieges auf 1000 Leukozyten pro μ lMediane Dauer bis zum Erreichen von 1000 Leukozyten pro μ l in Tagen

	Dauer Median [Tage]	95%- Konfidenzintervall	N	Log-Rank-Test
I. CFU-G-Zellcluster nach einer Woche Inkubationszeit				
a) \geq 43 CFU-G-Zellcluster	16	(15-17)	18	p(a;b) = 0,034 p(a;c) = 0,013
b) < 43 CFU-G-Zellcluster	17	(15-19)	18	
c) Punctio sicca	18	(15-21)	10	
II. CFU-G-Kolonien nach zwei Wochen Inkubationszeit				
a) \geq 66 CFU-G-Zellkolonien	16	(15-17)	18	p(a;b) = ns p(a;c) = 0,007
b) < 66 CFU-G-Zellkolonien	17	(14-20)	18	
c) Punctio sicca	18	(15-21)	10	

3.4.3 Stammzellkulturen und Überleben im ersten Jahr

Die Überlebenswahrscheinlichkeit für das erste Jahr nach der Transplantation war für die Patienten mit CFU-G-Cluster und -Kolonien über dem Medianwert mit 88 Prozent am höchsten. Der Unterschied zu den Patienten mit Cluster- und Koloniezahlen unter dem Medianwert, die eine Überlebenswahrscheinlichkeit von etwa 60 Prozent hatten, war nicht signifikant. Lediglich für die Patienten mit Punctio sicca war die kumulative Wahrscheinlichkeit für Überleben im ersten Jahr mit 30 % eindeutig geringer als bei den Patienten mit CFU-G-Kolonien und -Clustern über den Medianwerten (siehe Tabelle 3.4.4).

Tabelle 3.4.4: Kumulative Wahrscheinlichkeit für das Überleben im ersten Jahr

	Anzahl überlebende Patienten	Anzahl verstorbene Patienten	Kumulative Wahrschein- lichkeit	Log Rank-Test
I. CFU-G-Zellcluster nach einer Woche Inkubationszeit				
a) \geq 43 CFU-G-Zellcluster	11	3	0,82	p(a;b) = ns p(a;c) = 0,004
b) < 43 CFU-G-Zellcluster	10	7	0,59	
c) Punctio sicca	3	7	0,30	
II. CFU-G-Kolonien nach zwei Wochen Inkubationszeit				
a) \geq 66 CFU-G-Zellkolonien	11	3	0,82	p(a;b) = ns p(a;c) = 0,004
b) < 66 CFU-G-Zellkolonien	9	7	0,60	
c) Punctio sicca	3	7	0,30	

Von den 10 Patienten mit Punctio sicca verstarben 7 innerhalb des Nachbeobachtungszeitraumes. Sie verstarben an den folgenden Komplikationen:

- Pneumonie durch Pseudomonas aeruginosa, Status Asthmaticus
- Therapieresistentes Rezidiv, Sepsis, respiratorische Insuffizienz, Thrombozytopenie
- GvHD, Immunsuppression, Pneumonie und Sepsis durch Aspergillus flavus
- Pneumonie und Sepsis durch E. Coli
- Rezidiv, Kathetersepsis durch Koagulase negative Staphylokokken
- VOD, Nierenversagen, haemorrhagische Diathese

- Rezidivierende intrazerebrale Blutung

3.4.4 Stammzellkulturen und Rezidive im ersten Jahr

Wenngleich die Patienten mit Kolonie- und Clusterzahlen über dem Medianwert tendenziell eine geringere Rezidivwahrscheinlichkeit für das erste Jahr hatten als Patienten mit geringerem Wachstum, ergaben sich hier insgesamt keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 3.4.5: Kumulative Wahrscheinlichkeit für ein Rezidiv im ersten Jahr

	Anzahl Patienten mit Rezidiv	Anzahl rezidivfrei Überlebende	Kum. Rezidiv- wahrschein- lichkeit	Log-Rank-Test
I. CFU-G-Zellcluster nach einer Woche Inkubationszeit				
a) ≥ 43 CFU-G-Zellcluster	3	9	0,19	p(a;b) = ns p(a;c) = ns
b) < 43 CFU-G-Zellcluster	6	9	0,37	
c) Punctio sicca	2	3	0,24	
II. CFU-G-Kolonien nach zwei Wochen Inkubationszeit				
a) ≥ 66 CFU-G-Zellkolonien	3	10	0,19	entfällt
b) < 66 CFU-G-Zellkolonien	6	8	0,36	p(a;b) = ns
c) Punctio sicca	2	3	0,24	p(a;c) = ns

3.4.5 Stammzellkulturen und GvHD

Es ergeben sich keine signifikanten Unterschiede in der Inzidenz der akuten GvHD vom Grad 3 und 4. Interessanterweise traten bei den Patienten mit Punctio sicca keine schweren akuten GvHDs auf. Nicht berücksichtigt sind Patienten, die vor dem Tag 100 ohne akute GvHD aus der Beobachtung ausschieden.

Tabelle 3.4.6: Häufigkeit von schweren akuten GvHDs (klinischer Gesamtgrad 3 und 4)

	Anzahl Patienten mit aGvHD $\geq 3^\circ$	N	Anteil [%]	Fisher-Exact
I. CFU-G-Zellcluster nach einer Woche Inkubationszeit				
a) ≥ 43 CFU-G-Zellcluster	2	17	11,8	p(a;b) = ns p(a;c) = ns
b) < 43 CFU-G-Zellcluster	3	17	17,6	
c) Punctio sicca	0	9	0,0	
II. CFU-G-Kolonien nach zwei Wochen Inkubationszeit				
a) ≥ 66 CFU-G-Zellkolonien	2	17	11,8	p(a;b) = ns p(a;c) = ns
b) < 66 CFU-G-Zellkolonien	3	17	17,6	
c) Punctio sicca	0	9	0,0	

Übersicht: Einteilung jeweils anhand der CFU-G-Kolonien nach der Knochenmarkentnahme am Tag 14 nach Transplantation (2 Wochen Kultivierungszeit)

Abbildung 3.4.1: Anstieg der Leukozytenzahlen auf 1000 pro μl

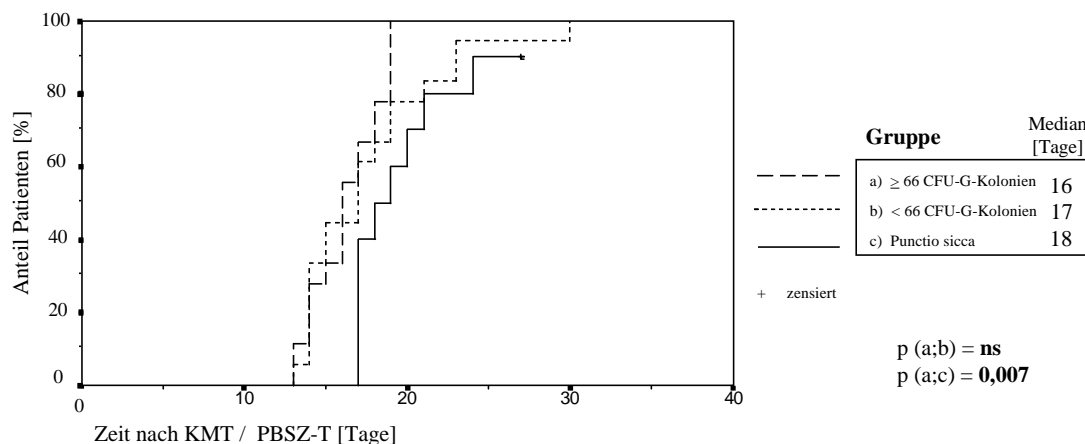


Abbildung 3.4.2: Überlebenswahrscheinlichkeit.

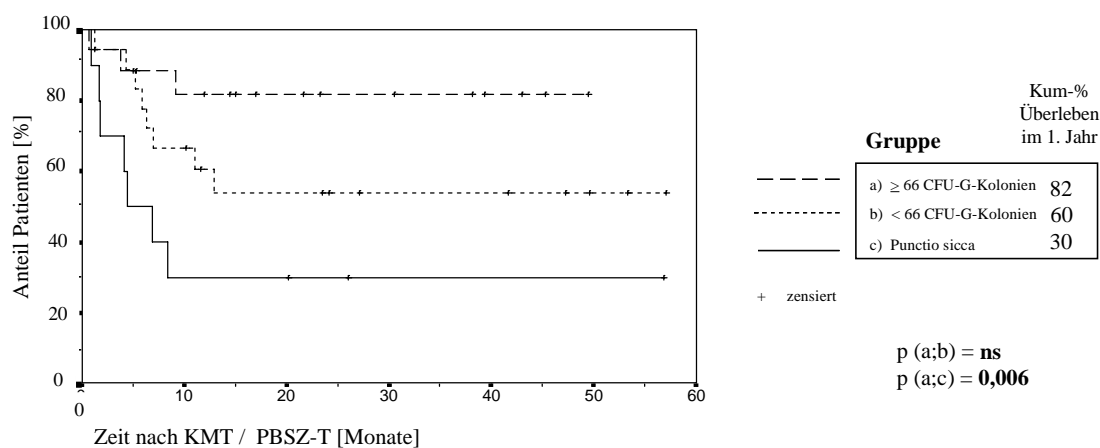
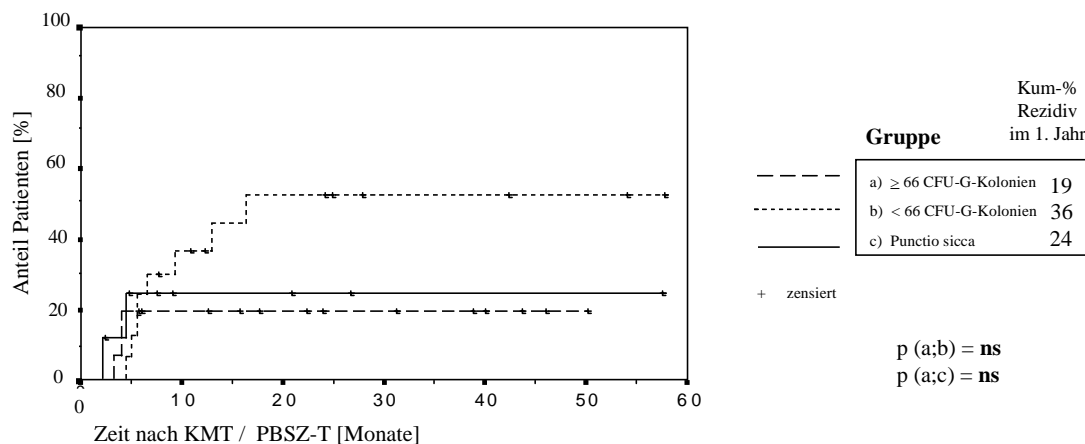


Abbildung 3.4.3: Rezidivwahrscheinlichkeit.



Häufigkeit schwerer Infektionen (aus Tabelle 3.4.7)

a) ≥ 66 CFU-G-Zellkolonien	0	18	0	p(a;b) = 0,008 p(a;c) = 0,010
b) < 66 CFU-G-Zellkolonien	7	18	38,9	
c) Punctio sicca	4	10	40,0	

3.4.6 Stammzellkulturen und Infektionen

In Tabelle 3.4.7 ist die Häufigkeit von schweren Infektionen (Klinischer Grad 3 und 4 nach WHO, siehe Abschnitt 2.2.4) innerhalb der ersten 100 Tage nach Transplantation in Abhängigkeit von der Anzahl der CFU-G-Cluster und -Kolonien nach der ersten Knochenmarkentnahme dargestellt. Patienten, mit CFU-G-Clustern oder Kolonien über dem Median hatten eine geringere Inzidenz schwerer Infektionen als Patienten, bei denen weniger als die mediane Anzahl gezählt wurden.

Tabelle 3.4.7: Häufigkeit von schweren Infektionen (Klinischer Grad 3 und 4 nach WHO)

	Anzahl Patienten mit Infektionen ≥ 3° nach WHO		N	Anteil [%]	Fischer-Exact
I. CFU-G-Zellcluster nach einer Woche Inkubationszeit					
a) ≥ 43 CFU-G-Zellcluster	1	18		5,6	p(a;b) = 0,048 p(a;c) = 0,041
b) < 43 CFU-G-Zellcluster	6	18		33,3	
c) Punctio sicca	4	10		40,0	
II. CFU-G-Kolonien nach zwei Wochen Inkubationszeit					
a) ≥ 66 CFU-G-Zellkolonien	0	18		0	p(a;b) = 0,008 p(a;c) = 0,010
b) < 66 CFU-G-Zellkolonien	7	18		38,9	
c) Punctio sicca	4	10		40,0	

Patienten mit Cluster- und Koloniezahlen über dem Median erlitten schwere Infektionen nur in bis zu 6 Prozent, Patienten mit Wachstum unter dem Medianwert in 28 bis 39 Prozent und Patienten mit Punctio sicca in 40 Prozent der Fälle.

3.4.7 Überprüfung der Genauigkeit der Methode der Stammzellkultivierung (interne Validität)

Im folgenden soll die interne Validität der Auszählungsergebnisse überprüft werden. Patienten, bei denen nach der ersten Knochenmarkentnahme CFU-G-Cluster- und Koloniezahlen unter dem Medianwert gezählt wurden, sollten gegenüber Patienten mit Wachstum über dem Median auch nach der zweiten Knochenmarkentnahme ein geringeres Wachstum gehabt haben. Das gleiche gilt für die Patienten mit Punctio sicca. In Tabelle 3.4.8 erkennt man, dass dies der Fall ist. Die Meßgenauigkeit der Methode der Stammzellkultivierung kann damit als ausreichend angesehen werden.

Tabelle 3.4.8: Vergleich mit dem Wachstum nach der zweiten Knochenmarkentnahme

Mediane Anzahlen von CFU-G-Clustern bzw. CFU-G-Kolonien zu den korrespondierenden Auszählungsterminen nach der zweiten Knochenmarkentnahme.

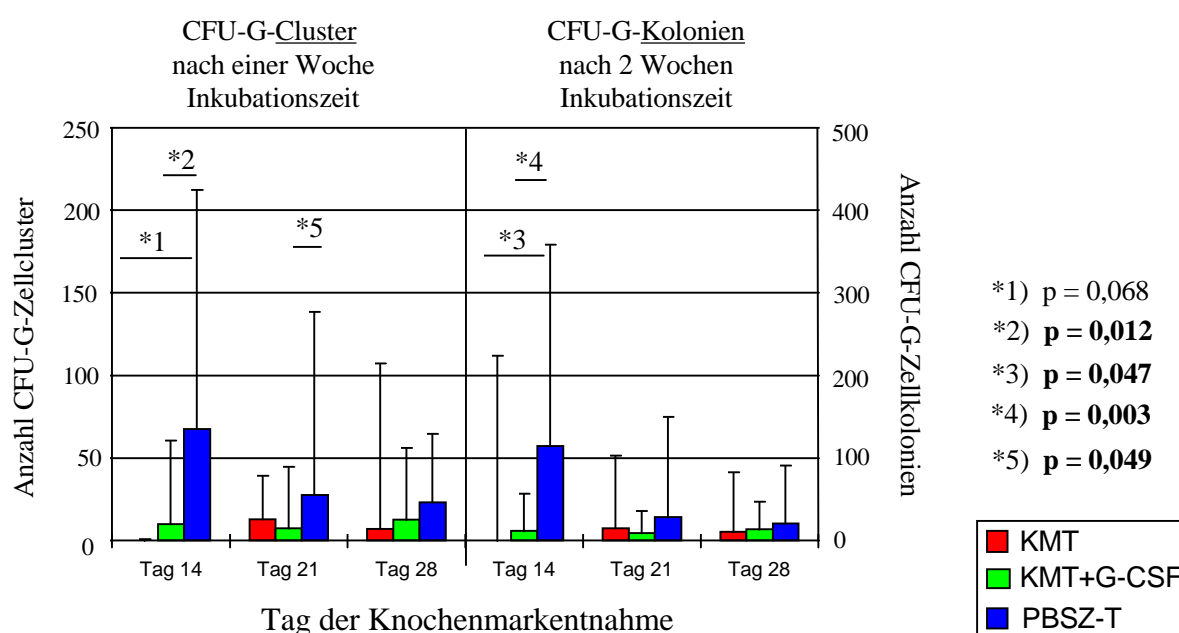
Einteilung	1. KM-Entnahme	2. KM-Entnahme	5.-95. Perzentilenwerte	N	Mann-Whitney-U-Test
I. CFU-G-Cluster nach einer Woche Inkubationszeit					
a) ≥ 43 CFU-G-Zellcluster		56	0-188	16	p(a;b) = 0,029 p(a;c) = 0,013
b) < 43 CFU-G-Zellcluster		11	0-155	17	
c) Punctio sicca		5	0-45	9	
II. CFU-G-Kolonien nach zwei Wochen Inkubationszeit					
a) ≥ 66 CFU-G-Zellkolonien		89	0-290	16	p(a;b) = 0,004 p(a;c) = 0,001
b) < 66 CFU-G-Zellkolonien		11	0-202	17	
c) Punctio sicca		4	0-27	9	

Beispiel: Bei Patienten, die nach der ersten Knochenmarkentnahme nach einer Woche Kultivierungszeit CFU-G-Cluster über dem Medianwert aufwiesen, wurden nach der zweiten Knochenmarkentnahme 56 CFU-Cluster nach einer Woche Kultivierungszeit gezählt. Bei Patienten mit Clustern unter dem Medianwert waren es demgegenüber nur 11 CFU-G-Cluster ($p = 0,029$). Patienten mit Punctio sicca wiesen nach der zweiten Knochenmarkentnahme 5 CFU-G-Cluster auf ($p = 0,013$ zur erstgenannten Gruppe).

3.4.8 Vergleich der Therapiegruppen anhand der Ergebnisse der Stammzellkulturen

In Abbildung 3.4.4 und den Tabellen 3.4.9 bis 3.4.11 sind die drei Therapiegruppen in Bezug auf das Wachstum in den Stammzellkulturen verglichen. Hier sind die Patienten enthalten, bei denen keine ausreichende Menge Knochenmark gewonnen werden konnte (Punctio sicca).

Abbildung 3.4.4: Vergleich der drei Therapiegruppen anhand der Ergebnisse der Stammzellkultivierung nach den drei Knochenmarkentnahmen



Die Patienten des G-CSF-Therapiearmes wiesen nach einer Woche Inkubationszeit im Median 10 CFU-G-Cluster und nach zwei Wochen 10 CFU-G-Kolonien auf. Die Unterschiede zur Kontrollgruppe KMT, bei denen im Median nach der ersten Knochenmarkentnahme keine CFU-G-Cluster und -Kolonien wuchsen, war nicht signifikant.

Bei den Patienten, die periphere Stammzellen erhielten, sind nach einer Woche Inkubationszeit im Median 67 CFU-G-Cluster mehr gewachsen, als bei den Patienten der Kontrollgruppe KMT (67 vs. 0, $p = 0,012$). CFU-G-Kolonien wuchsen bei ihnen nach 2 Wochen im Median 114 mehr (114 vs 0 $p = 0,047$).

Bei den Patienten der Gruppe PBSZ-T wurden auch nach der zweiten und dritten Knochenmarkentnahme jeweils die meisten CFU-G-Cluster und Kolonien gezählt. Die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant (Tabelle 3.4.10 und 3.4.11)

Tabelle 3.4.9: Vergleich der Therapiegruppen anhand der Ergebnisse der ersten Knochenmarkentnahme (Tag 14)

	Mediane Anzahl	Bereich (Min.-Max.)	N	Mann-Whitney -U-Test
I. CFU-G-Zellcluster nach einer Woche Inkubationszeit				
(0) KMT	0	0-312	13	p (0;1) = ns
(1) KMT+G-CSF	10	0-465	15	p (0;2) = 0,012
(2) PBSZ-T	67	0-605	17	p (1;2) = 0,068
II. CFU-G-Kolonien nach zwei Wochen Inkubationszeit				
(0) KMT	0	0-342	13	p (0;1) = ns
(1) KMT+G-CSF	10	0-135	16	p (0;2) = 0,047
(2) PBSZ-T	114	9-500	17	p (1;2) = 0,027

Tabelle 3.4.10: Vergleich der Therapiegruppen anhand der Stammzellkultivierungsergebnisse nach der zweiten Knochenmarkentnahme (Tag 21)

	Mediane Anzahl	Bereich (Min.-Max.)	N	Mann-Whitney -U-Test
I. CFU-G-Zellcluster nach einer Woche Inkubationszeit				
(0) KMT	13	0-188	13	p (0;1) = ns
(1) KMT+G-CSF	7	0-83	15	p (0;2) = 0,049
(2) PBSZ-T	27	545	17	p (1;2) = ns
II. CFU-G-Kolonien nach zwei Wochen Inkubationszeit				
(0) KMT	15	0-290	13	p (0;1) = ns
(1) KMT+G-CSF	9	0-158	16	p (0;2) = ns
(2) PBSZ-T	28	0-201	17	p (1;2) = ns

Tabelle 3.4.11: Vergleich der Therapiegruppen anhand der Stammzellkultivierungsergebnisse nach der dritten Knochenmarkentnahme (Tag 28)

	Mediane Anzahl	Bereich (Min.-Max.)	N	Mann-Whitney -U-Test
CFU-G-Zellcluster nach einer Woche Inkubationszeit				
(0) KMT	7	0-195	10	p (0;1) = ns
(1) KMT+G-CSF	13	0-169	13	p (0;2) = ns
(2) PBSZ-T	23	0-146	16	p (1;2) = ns
CFU-G-Kolonien nach zwei Wochen Inkubationszeit				
(0) KMT	11	0-152	10	p (0;1) = ns
(1) KMT+G-CSF	14	0-81	13	p (0;2) = ns
(2) PBSZ-T	21	0-263	15	p (1;2) = ns

Nimmt man die Patienten mit Punctio sicca aus dem Vergleich der Therapiegruppen anhand der Stammzellkultivierung heraus, so ergeben sich auch nach der ersten Knochenmarkentnahme keine signifikanten Unterschiede zwischen der Gruppe der mit peripheren Stammzellen transplantierten Patienten und den Patienten der Kontrollgruppe KMT. Jedoch weisen auch hier die Patienten, die periphere Stammzellen erhielten, jeweils im Median die höchsten Anzahlen von CFU-G-Clustern und Kolonien auf.

Tabelle 3.4.12: Vergleich der Therapiegruppen anhand der Ergebnisse der ersten Knochenmarkentnahme (Tag 14) ohne Patienten mit Punctio sicca

	Mediane Anzahl	Bereich (Min.-Max.)	N	Mann-Whitney -U-Test
I. CFU-G-Zellcluster nach einer Woche Inkubationszeit				
(0) KMT	0	0-312	9	p (0;1) = ns
(1) KMT+G-CSF	22	0-465	10	p (0;2) = 0,060
(2) PBSZ-T	73	0-605	16	p (1;2) = ns
II. CFU-G-Kolonien nach zwei Wochen Inkubationszeit				
(0) KMT	69	0-342	9	p (0;1) = ns
(1) KMT+G-CSF	22	0-135	10	p (0;2) = ns
(2) PBSZ-T	144	9-500	15	p (1;2) = 0,027

Bei den Patienten der Gruppe KMT fand sich nach zwei Wochen mit einer medianen Anzahl an CFU-G-Kolonien von 69 scheinbar ein recht gutes Wachstum. Jedoch konnte nur bei 5 Patienten überhaupt Stammzellwachstum gefunden werden. Neben den 4 Patienten mit Punctio sicca waren es 4 weitere, bei denen nach zwei Wochen weder CFU-G-Cluster noch -Kolonien gefunden wurden. In der Gruppe KMT+G-CSF waren 5 Patienten mit Punctio sicca und zwei Patienten, bei denen sich auch nach zwei Wochen kein Wachstum fand. In der Gruppe PBSZ-T fanden sich bei allen Patienten nach 2 Wochen CFU-G-Kolonien und nur bei einem Patienten kam es zur Punctio sicca.

Tabelle 3.4.13: Häufigkeit der Ereignisse „Punctio sicca“, „kein Wachstum“ und „Wachstum“ in den drei Gruppen

In der Gruppe PBSZ-T konnte bei 6 % der Patienten am Tag 14 kein Knochenmark gewonnen werden gegenüber 31 Prozent in den beiden anderen Gruppen. Bei 94 % der Patienten der Gruppe PBSZ-T fand sich nach 2 Wochen Wachstum in den Stammzellkulturen gegenüber 38 und 56 % in den Gruppen KMT und KMT+G-CSF.

Gruppe	N	Punctio sicca ¹⁾		kein Wachstum nach 2 Wochen ²⁾		Wachstum nach 2 Wochen ³⁾	
		Anteil [%]	n	Anteil [%]	n	Anteil [%]	n
(0) KMT	13	31	4	31	4	38	5
(1) KMT+G-CSF	16	31	5	13	2	56	9
(2) PBSZ-T	17	6	1	0	0	94	16

¹⁾ Patienten, bei denen keine ausreichende Anzahl kernhaltiger Knochenmarkszellen zur Kultivierung gewonnen werden konnte

²⁾ Patienten, bei denen nach 2 Wochen weder Kolonien noch Cluster gewachsen waren

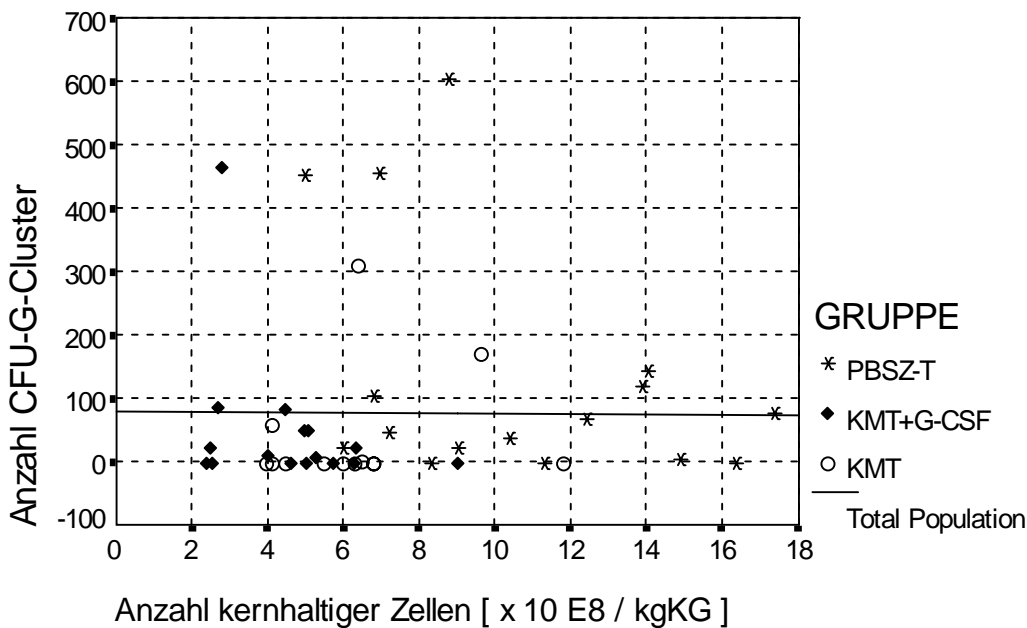
³⁾ Patienten, bei denen nach der ersten Knochenmarkentnahme und zwei Wochen Kultivierungszeit CFU-Cluster oder -Kolonien gefunden wurden

3.4.9 Korrelation zwischen der Zahl der kernhaltigen Zellen der Stammzellpräparate und dem Wachstum in den Stammzellkulturen

Abbildung 3.4.5 ist zu entnehmen, dass es für alle 74 Patienten, unabhängig von der Art der Transplantation, zwischen der Anzahl der kernhaltigen Zellen, die den Patienten zur Stammzelltransplantation übertragen wurde, und dem Wachstum in den Stammzellpräparaten keine signifikante Korrelation gibt.

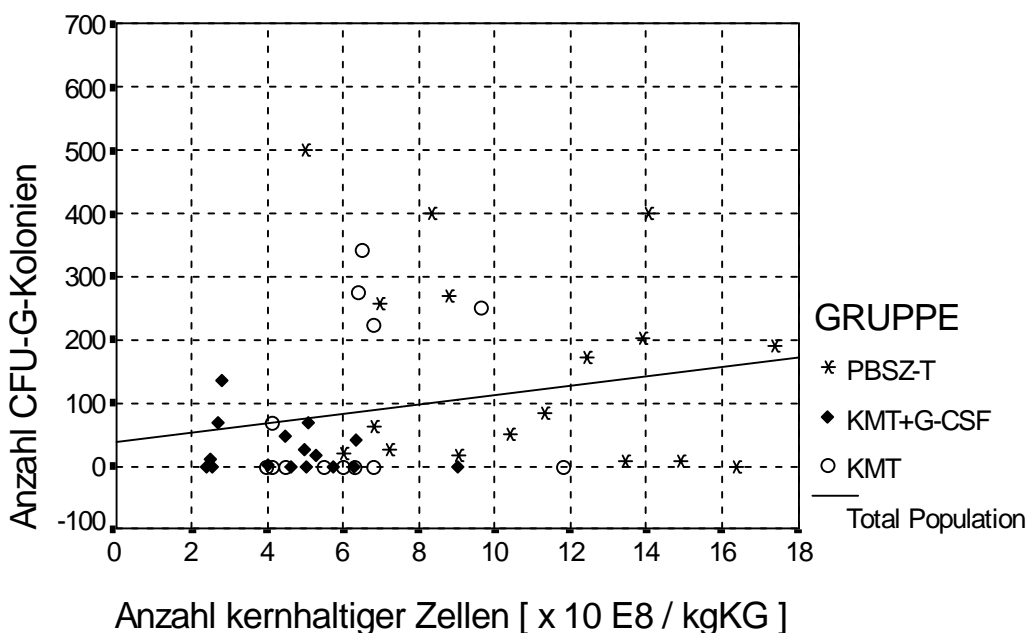
Abbildung 3.4.5: Korrelation zwischen der Zahl der kernhaltigen Zellen der Stammzellpräparate und dem Wachstum in den Stammzellkulturen (1. Knochenmarkentnahme am Tag 14)

CFU-G-Cluster nach einer Woche Inkubationszeit



Korrelation für alle Gruppen gemeinsam: $r = -0,010$, $p = 0,950$, $N = 45$

CFU-G-Kolonien nach zwei Wochen Inkubationszeit



Korrelation für alle Gruppen gemeinsam: $r = 0,221$, $p = 0,141$, $N = 46$

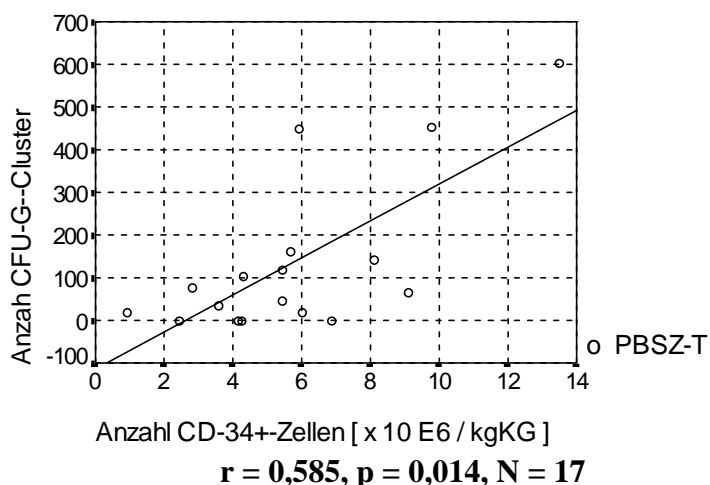
Auch für die knochenmarktransplantierten Patienten (Gruppe KMT und Gruppe KMT+G-CSF) gab es keine signifikante Korrelation zwischen der Anzahl der kernhaltigen Zellen und dem Wachstum in den Stammzellkolonien nach der Knochenmarkentnahme am Tag 14 (Anzahl kernhaltiger Zellen X CFU-G-Cluster nach einer Woche Inkubationszeit: $r = -0,099$, $N = 29$, $p = \text{ns}$, Anzahl kernhaltiger Zellen X CFU-G-Kolonien nach zwei Wochen Inkubationszeit: $r = 0,233$, $N = 29$, $p = \text{ns}$), ebenso wenig für die Patienten die eine PBSZ-T erhielten, alleine (Anzahl kernhaltiger Zellen X CFU-G-Cluster nach einer Woche Inkubationszeit: $r = -0,387$, $N = 16$, $p = \text{ns}$, Anzahl kernhaltiger Zellen X CFU-G-Kolonien nach zwei Wochen Inkubationszeit: $r = -0,219$, $N = 17$, $p = \text{ns}$). Es ließ sich auch keine positive Korrelation zwischen der Anzahl der CD34+Zellen und der Anzahl der kernhaltigen Zellen in den peripheren Blutstammzellpräparaten nachweisen ($r = -0,368$, $p = 0,054$, $N = 28$)

3.4.10 Korrelation zwischen den CD34+Zellzahlen bei PBSZ-T und der Anzahl der CFU-G-Kolonien und -Cluster

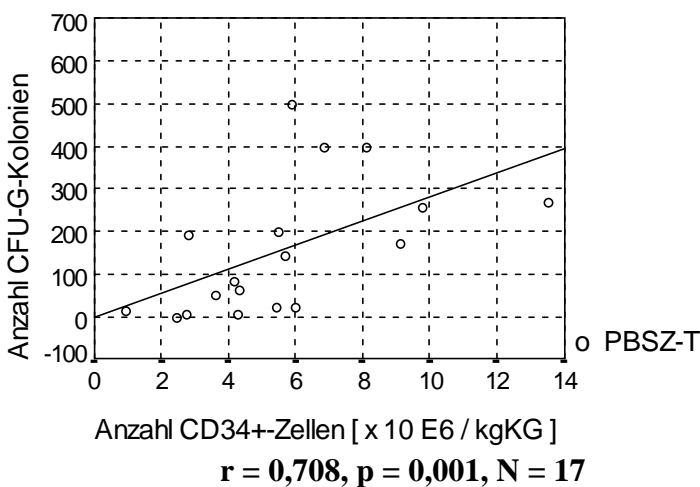
Für die Patienten der Gruppe PBSZ-T ließ sich eine Korrelation zwischen der Anzahl der transfundierten CD34+Zellen und den gezählten CFU-G-Kolonien und -Clustern nachweisen (siehe Abbildung 3.4.6).

Abbildung 3.4.6: Korrelation von CD34+Zellen bei Transplantation und den Ergebnissen der Stammzellkulturen (1. Knochenmarkentnahme, Tag 14)

CFU-G-Cluster nach einer Woche Inkubationszeit



CFU-G-Kolonien nach zwei Wochen Inkubationszeit



3.5 Einfluss der Anzahl kernhaltiger Zellen auf die hämatopoetische Regeneration und den klinischen Verlauf nach Transplantation

3.5.1 Einleitung

Die peripheren Blutstammzellpräparate der Gruppe PBSZ-T enthielten signifikant mehr kernhaltige Zellen ($10,8 \times 10^8 / \text{kgKG}$) als die Knochenmarkstammzellpräparate der Gruppen KMT ($6,3 \times 10^8 / \text{kgKG}$, $p < 0,001$) und KMT+G-CSF ($5,0 \times 10^8 / \text{kgKG}$, $p < 0,001$). Die Anzahl kernhaltiger Zellen unterschied sich zwischen den Gruppen KMT und KMT+G-CSF nicht signifikant. Zusammengefasst erhielten diese beiden Gruppen eine mediane Anzahl von $5,5 (2,4 - 11,8) \times 10^8$ kernhaltigen Zellen. In diesem Kapitel soll die Wirkung der Anzahl der kernhaltigen Zellen, die die Stammzellprodukte enthielten, auf die Regeneration der Hämatopoese, die Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeit, die Dauer der stationären Therapie, die Inzidenz schwerer GvHDs und die Inzidenz schwerer Infektionen untersucht werden. Die Patienten werden dazu in zwei Gruppen unterteilt: 1. Patienten, die mindestens die mediane Anzahl an kernhaltigen Zellen erhielten, und 2. Patienten, die weniger kernhaltige Zellen erhielten. Da die Zusammensetzung der kernhaltigen Zellen in den Knochenmarkstammzellpräparaten und den peripheren Blutstammzellpräparaten unterschiedlich ist (Tjonnfjord GE et al 1994), wird die Wirkung der Anzahl der kernhaltigen Zellen auf den klinischen Verlauf nach der Transplantation getrennt für Patienten, die eine KMT erhielten, und solche, die eine PBSZ-T erhielten, untersucht.

3.5.2 Einfluss der Anzahl kernhaltiger Zellen in den KMSZ-Präparaten auf die hämatopoetische Regeneration und den klinischen Verlauf nach KMT

In Tabelle 3.5.1 und 3.5.2 sind alle Patienten, die eine Knochenmarkstransplantation erhielten (Gruppe KMT und Gruppe KMT + G-CSF, $N = 45$), auf den Einfluss der Anzahl der kernhaltigen Zellen zur KMT auf die Regeneration der Hämatopoese, die Dauer der stationären Therapie, die Inzidenz schwerer akuter GvHDs vom Grad III und IV, schwerer chronischer GvHD vom Grad extensive und die Inzidenz schwerer infektionsbedingter Komplikationen hin untersucht.

Die Dauer des Wiederanstieges des Hämoglobinwertes war tendenziell für die Patienten, die mindestens die mediane Anzahl kernhaltiger Zellen erhielten, kürzer als bei Patienten, die weniger kernhaltige Zellen erhielten ($3,4$ vs $4,2$, $p = 0,060$) und sie benötigten tendenziell weniger Erythrozyten- (11 vs 17 , $p = 0,052$) und Thrombozytenkonzentrate (90 vs 118 , $p = 0,102$). Signifikante Unterschiede für den Wiederanstieg der Granulozytenzahlen und der Leukozytenzahlen insgesamt waren nicht festzustellen (siehe Tabelle 3.5.1).

Auch auf die Dauer des stationären Aufenthaltes zeigte sich kein signifikanter Einfluss der Anzahl der kernhaltigen Zellen (siehe Tabelle 3.5.2)

Die Dauer der GvHD-Prophylaxe durch Gabe von CsA war unter den mit KMSZ transplantierten Patienten im Median zwar bei denjenigen Patienten, die mehr als die mediane Anzahl kernhaltiger Zellen erhielten, erhöht, dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant ($8,1$ vs $6,6$ Monate, $p = \text{ns}$). Bei der Inzidenz von akuten GvHDs vom Grad III und IV (2 vs 3 Patienten, $p = \text{ns}$) und höher und von chronischen GvHDs vom Grad extensive (6 vs 3 Patienten, $p = \text{ns}$) war kein signifikanter Unterschied festzustellen.

Eine Abhängigkeit der Inzidenz schwerer infektionsbedingter Komplikationen von der Anzahl der kernhaltigen Zellen ließ sich für die mit Knochenmark transplantierten Patienten ebenfalls nicht nachweisen. Patienten, die mindestens die mediane Anzahl kernhaltiger Knochenmarkzellen erhielten, litten im Vergleich zu den Patienten, die weniger erhielten, nicht signifikant seltener an Infektionen vom WHO-Grad III und IV (7 vs 9 Patienten, $p = \text{ns}$) und Fieber vom WHO-Grad III und IV (2 vs 1 Patient, $p = \text{ns}$). Pulmonale Infiltrate (6 vs 5 Patienten, $p = \text{ns}$) und positive Blutkulturen (13 vs 11 Patienten, $p = \text{ns}$) wurden bei ihnen ebenfalls nicht signifikant seltener gefunden. Eventuell erlitten sie weniger Tage mit Temperaturen von über 38°Celsius (8 vs 11 Tage, $p = 0,097$)

Tabelle 3.5.1: Einfluss der Anzahl der kernhaltigen Zellen auf den klinischen Verlauf nach KMT

Die Patienten der Gruppen KMT und KMT+G-CSF sind nach der medianen Anzahl kernhaltiger Zellen in den Knochenmarkstammzellpräparaten unterteilt.

Anzahl kernhaltiger Zellen [x 10 ⁸ / kgKG]	≥ 5,5		< 5,5		
N	23		22		
	Dauer Median	95%- Konfidenz -intervall	Dauer Median	95%- Konfidenz -intervall	Log-Rank p
Dauer bis	23		22		
-Leukozyten > 1000 / µl [Tage]	18	17-19	18	17-19	ns
-Leukozyten > 2000 / µl [Tage]	21	20-22	19	18-20	ns
-Granulozyten > 500 / µl [Tage]	20	19-21	18	17-19	ns
-Granulozyten > 1000 / µl [Tage]	22	18-26	19	18-20	ns
-Thrombozyten > 50 000 / µl. [Tage]	29	26-32	35	19-51	ns
-Hb-Wert > 10 g / dl [Monate]	3,4	1,9-4,9	4,2	3,6-4,8	0,060
Anzahl	Anzahl Median	Min.-Max.	Anzahl Median	Min.- Max.	M.-W.-U.- Test
-Erythrozytenkonzentrate	11	1-37	17	3-52	0,052
-Thrombozytenkonzentrate	90	26-253	118	32-376	0,102

Tabelle 3.5.2: Einfluss der Anzahl der kernhaltigen Zellen auf den klinischen Verlauf nach KMT

Die Patienten sind nach der medianen Anzahl kernhaltiger Zellen in den KMSZ-Präparaten unterteilt.

Anzahl kernhaltiger Zellen [x 10 ⁶ / kgKG]	≥ 5,5		< 5,5		
N	23		22		
	kumulative Wahrschein- lichkeit		kumulative Wahrschein- lichkeit		Log Rank- Test
Überleben im ersten Jahr	0,47		0,59		ns
Rezidivwahrscheinlichkeit	0,34		0,26		ns
	Median pro Patient	95%- Konf.	Median pro Patient	95%- Konf.	Log-Rank- Test
Dauer der CSA-Gabe [Monate]	8,1	13,8-21,2	6,6	13,8-21,2	ns
Stationäre Therapie [Tage]	47	40-54	45	41-49	ns
	Anzahl Patienten	Prozent	Anzahl Patienten	Prozent	Fisher-Exact
Häufigkeit aGvHD ≥ 3.°	2	9	3	14	ns
Häufigkeit cGvHD Grad extensiv	6	27	3	13	ns
Häufigkeit Infektionen ≥ 3.°	7	44	9	56	ns
Häufigkeit Fieber ≥ 3.°	2	8,7	1	4,5	ns
positive Blutkulturen	13	57	11	46	ns
Pulmonale Infiltrate	6	26	5	23	ns
	Median pro Patient	Min-Max	Median pro Patient	Min-Max	M.-W.-U.- Test
i.v.-Antibiotika-Therapie [Tage]	17	6-47	19	7-59	ns
Tage mit Temperatur >38 ° C	8	0-32	11	2-39	0,097

3.5.3 Einfluss der Anzahl kernhaltiger Zellen in den PBSZ-Präparaten auf die Regeneration der Hämatopoese und den klinischen Verlauf nach PBSZ-T

Tabelle 3.5.3: Einfluss der Anzahl kernhaltiger Zellen auf die Regeneration der Hämatopoese nach PBSZ-T

Die Patienten der Gruppe PBSZ-T sind nach der medianen Anzahl kernhaltiger Zellen in den peripheren Blutstammzellpräparaten unterteilt.

Anzahl kernhaltiger Zellen [x 10 ⁸ / kgKG]	≥ 10,8		< 10,8		
N	14		14		
	Dauer Median	95-%- Konfidenz -intervall	Dauer Median	95-%- Konfidenz -intervall	Log-Rank p
Dauer bis					
-Leukozyten > 1000 / µl [Tage]	16	12-20	14	13-15	ns
-Leukozyten > 2000 / µl [Tage]	19	17-21	17	15-19	ns
-Granulozyten > 500 / µl [Tage]	20	19-21	17	14-20	0,019
-Granulozyten > 1000 / µl [Tage]	20	18-22	17	15-19	ns
-Hb-Wert > 10 g / dl [Monate]	3,3	2,3-4,3	2,3	2,0-2,6	ns
-Thrombozyten > 50 000 / µl. [Tage]	31	2-60	22	12-32	ns
Anzahl	Anzahl Median	Min.-Max.	Anzahl Median	Min.- Max.	M.-W.-U.- Test
-Erythrozytenkonzentrate	12	1-46	8	2-32	ns
-Thrombozytenkonzentrate	53	14-171	30	10-179	ns

Tabelle 3.5.4: Einfluss der Anzahl kernhaltiger Zellen auf den klinischen Verlauf nach PBSZ-T

Die Patienten sind nach der medianen Anzahl kernhaltiger Zellen in den peripheren Blutstammzellpräparaten unterteilt.

Anzahl kernhaltiger Zellen [x 10 ⁶ / kgKG]	≥ 10,8		< 10,8		
N	14		14		
	kumulative Wahrschein- lichkeit		kumulative Wahrschein- lichkeit.		Log Rank- Test
Überleben im ersten Jahr	0,85		0,57		ns
Rezidivwahrscheinlichkeit	0,00		0,18		ns
	Median	95-%- Konf.	Median	95-%- Konf.	Log-Rank- Test
Dauer der CSA-Gabe [Monate]	17,5	13,8-21,2	7,4	3,7-11,1	0,039
Stationäre Therapie [Tage]	44	35-53	41	29-53	ns
	Anzahl Patienten	Prozent	Anzahl Patienten	Prozent	Fisher-Exact
Häufigkeit akute aGvHD > 3.°	4	31	5	36	ns
Häufigkeit cGvHD Grad extensiv	6	43	4	29	ns
Häufigkeit Infektionen ≥ 3.°	0	0	1	7	ns
Häufigkeit Fieber ≥ 3.°	0	0	0	0	ns
Positive Blutkulturen	0	0	0	0	ns
Pulmonale Infiltrate	0	0	0	0	ns
	Median pro Patient	Min-Max	Median pro Patient	Min-Max	M.-W.-U- Test
i.v.-Antibiotika-Therapie [Tage]	17	0-35	17	8-26	ns
Tage mit Temperatur >38 ° C	9	0-19	8	3-14	ns

In Tabelle 3.5.3 ist für die Patienten, die eine Transplantation mit peripheren Blutstammzellen erhielten (Gruppe PBSZ-T), die Geschwindigkeit der hämatopoetischen Regeneration zwischen Patienten, die mindestens die mediane Anzahl an kernhaltigen Zellen erhielten, und solchen, die weniger erhielten, verglichen.

Der Anstieg der Granulozytenzahlen scheint für die Patienten, die mehr als die mediane Anzahl kernhaltiger Zellen erhielten, tendenziell eher noch verzögert gewesen zu sein gegenüber den Patienten, die weniger erhielten (20 vs 17 Tage, $p = 0,019$, siehe Tabelle 3.5.3).

Ebenso konnte kein signifikanter Unterschied für die Regeneration der Erythrozytopoese und der Megakaryozytopoese sowie im Bedarf an Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentraten nachgewiesen werden.

In Bezug auf die Überlebens- und die Rezidivwahrscheinlichkeit zeigten sich keinerlei signifikante Unterschiede (siehe Tabelle 3.5.4).

Dem mittleren Teil der Tabelle 3.5.4 ist zu entnehmen, dass sich auch für die Inzidenz von akuten GvHDs vom Schweregrad III und IV (4 vs 5 Patienten, $p = ns$) und chronischen GvHDs vom Schweregrad extensive (6 vs 4 Patienten, $p = ns$) keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten, die mindestens die mediane Anzahl kernhaltiger Zellen erhielten, und solchen, die weniger erhielten, zeigten. Die GvHD-Prophylaxe mit Cyclosporin A mußte jedoch bei Patienten, die mehr als die mediane Anzahl der kernhaltigen Zellen erhielten, signifikant länger fortgeführt werden (17,5 vs 7,4 Monate, $p = 0,039$), als bei den Patienten, die weniger erhielten.

Schwere infektionsbedingte Komplikationen waren in der Gruppe PBSZ-T insgesamt zu selten, um hier einen Einfluss der Anzahl der kernhaltigen Zellen nachweisen zu können.

3.6 Einfluss der Anzahl der CD34+Zellen in den PBSZ-Präparaten auf die Regeneration der Hämatopoese und den klinischen Verlauf nach PBSZ-T

3.6.1 Einleitung

In diesem Kapitel soll der Zusammenhang zwischen den Anzahlen der CD34+Zellen, die den Patienten der Gruppe PBSZ-T infundiert wurden, und der Geschwindigkeit der Regeneration der Hämatopoese, der Inzidenz von schweren akuten und chronischen GvHDs sowie von schweren Infektionen untersucht werden. Die PBSZ-Präparate enthielten eine mediane Anzahl von $5,3 \times 10^6$ CD34+Zellen pro Kilogramm Körpergewicht des Patienten. Der Bereich lag zwischen $0,9$ und $13,5 \times 10^6 / \text{kgKG}$. Angestrebt war eine Anzahl von mindestens $3 \times 10^6 / \text{kgKG}$. Dieses Ziel wurde bei 6 Patienten nicht erreicht, davon erhielten drei Patienten mehr als $2,5 \times 10^6 / \text{kgKG}$, 2 Patienten zwischen $2,0$ und $2,5 \times 10^6$ und ein Patient weniger als $1 \times 10^6 / \text{kgKG}$.

3.6.2 Einfluss der Anzahl der CD34+Zellen in den PBSZ-Präparaten auf die Regeneration der Hämatopoese nach PBSZ-T

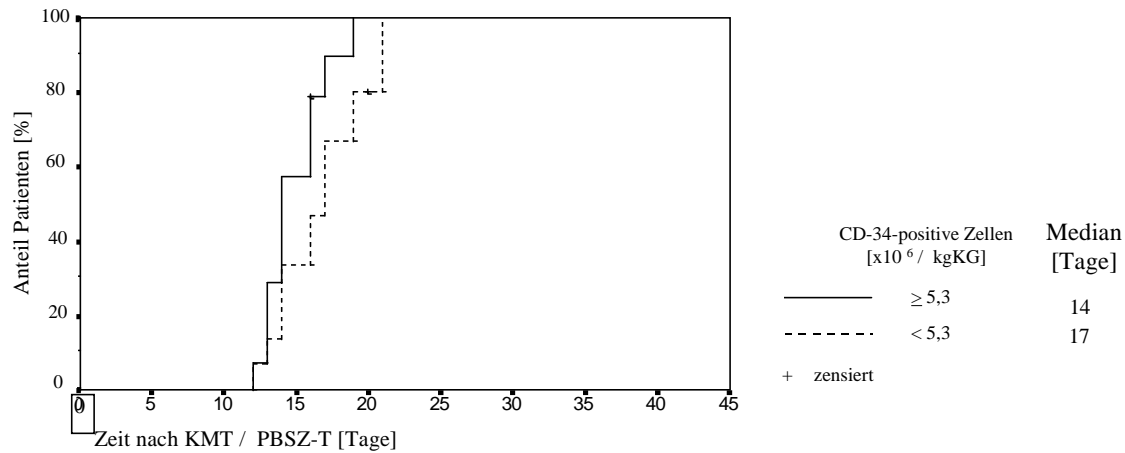
In Tabelle 3.6.1 und den Abbildungen 3.6.1 und 3.6.2 sind die Patienten der Gruppe PBSZ-T nach der Anzahl der transplantierten CD34+Zellen in zwei Gruppen unterteilt worden. Als Grenze für die Zuordnung der Patienten diente der Medianwert der Anzahl der CD34+Zellen.

Wie Tabelle 3.6.1 und die Abbildungen 3.6.1 und 3.6.2 zeigen, erreichten die Patienten, die mindestens die mediane Anzahl der CD34+Zellen pro Kilogramm ihres Körpergewichtes erhielten, die angegebenen Grenzen für die Granulozyten- und die Leukozytenzahlen eher als die Patienten, die weniger Zellen erhielten. Die Leukozytenzahlen erreichten bei ihnen 3 Tage eher die Grenze von 1000 pro μl (Median 14 vs. 17, $p = 0,056$). Die Granulozytenzahlen stiegen 4 Tage eher auf 500 pro μl an (Median 16 vs. 20, $p = 0,002$).

Die Erythropoese und die Megakaryopoese betreffend fanden sich keinerlei signifikante Unterschiede.

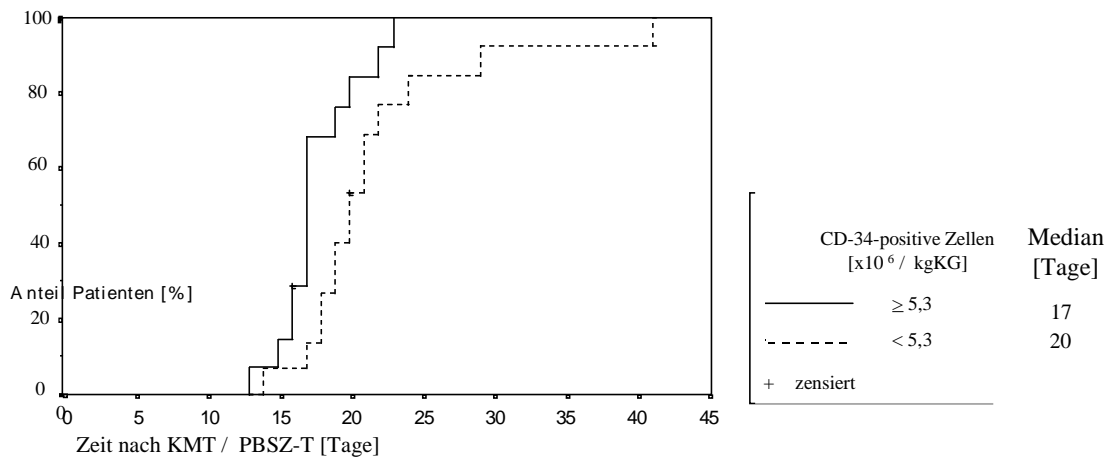
Abbildung 3.6.1: CD34+ Zellen und Anstieg der Leukozytenzahlen

a) Dauer des Anstieges der Leukozytenzahlen auf $1000 / \mu\text{l}$



$p = 0,056$

b) Dauer des Anstieges der Leukozytenzahlen auf $2000 / \mu\text{l}$



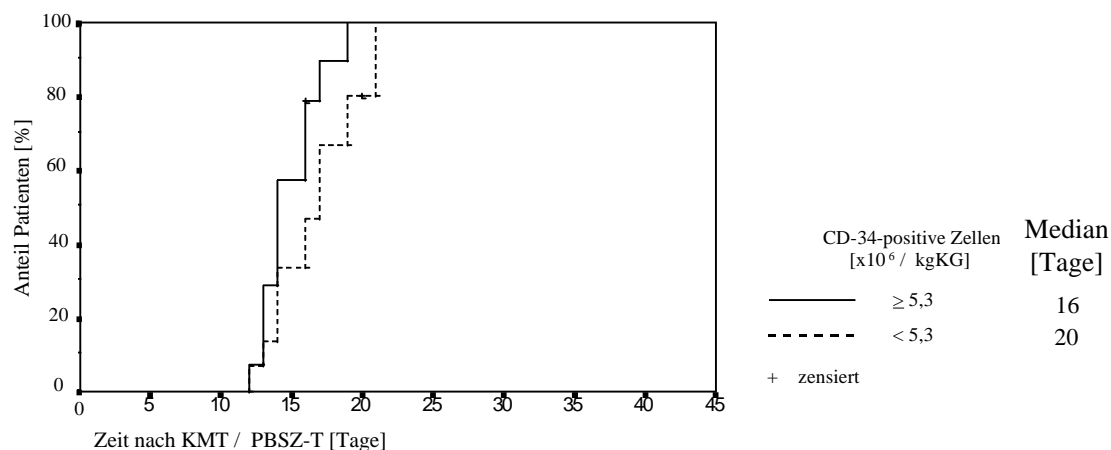
$p = 0,022$

3.6.3 Einfluss der Anzahl der CD34+Zellen in den PBSZ-Präparaten auf die Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeit nach PBSZ-T

Die Überlebens- und die Rezidivwahrscheinlichkeit unterschieden sich nicht zwischen den Patienten, die mehr als die mediane Anzahl CD-34 positiver Zellen erhielten und solchen, die weniger erhielten (siehe Tabelle 3.6.2). In der Gruppe der Patienten mit mindestens der medianen Anzahl an CD34+Zellen verstarben 4 Patienten im ersten Jahr und ein Patient erlitt ein Rezidiv. In der Gruppe der Patienten, die weniger Zellen erhielten, verstarben 3 Patienten und ein Patient erlitt ein Rezidiv.

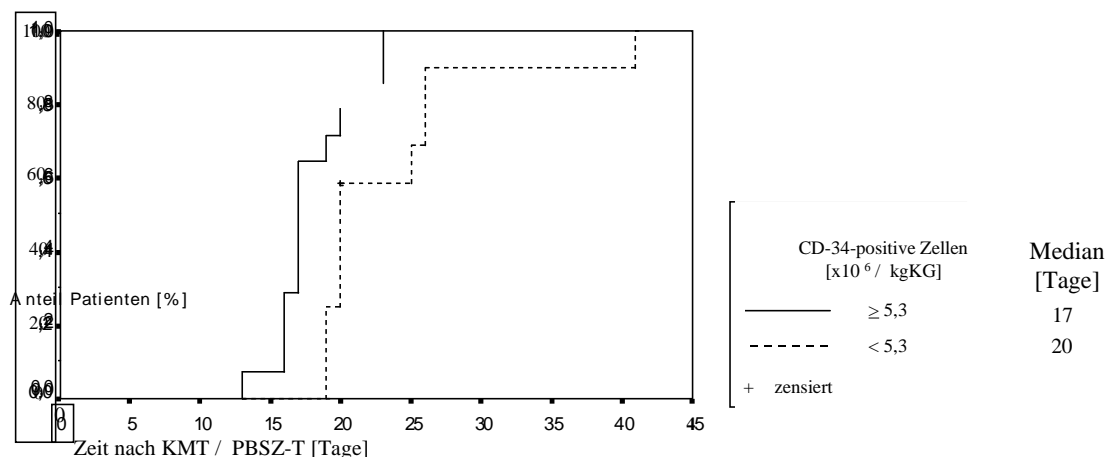
Abbildung 3.6.2: CD34+ Zellen und Anstieg der Granulozytenzahlen

a) Dauer des Anstieges der Granulozytenzahlen auf $500 / \mu\text{l}$



p = 0,002

b) Dauer des Anstieges der Granulozytenzahlen auf $1000 \mu\text{l}$.



p = 0,003

3.6.4 Einfluss der Anzahl der CD34+Zellen in den PBSZ-Präparaten auf die Inzidenz und Ausprägung von akuten und chronischen GvHDs nach PBSZ-T

Bei den Häufigkeiten von schweren akuten und chronischen GvHDs zeigte sich kein Unterschied (siehe Tabelle 3.6.2). Lediglich die Dauer der Gabe von Cyclosporin A war bei den Patienten, die mindestens die mediane Anzahl an CD34+Zellen erhielten, signifikant kürzer als bei denjenigen, die weniger CD-34+Zellen erhielten (9 vs. 18 Monate, $p = 0,019$). Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass es bei den Patienten mit mindestens der medianen Anzahl CD34+Zellen vielleicht doch weniger oder geringer ausgeprägte GvHDs gegeben haben könnte.

3.6.5 Einfluss der Anzahl der CD34+Zellen in den PBSZ-Präparaten auf die Inzidenz und Ausprägung von Infektionen

Nur zwei Patienten der Gruppe PBSZ-T erlitten eine Infektion vom Grad 3 oder 4 nach WHO. Fieber vom WHO-Grad 3 und 4 sowie positive Blutkulturen kamen in dieser Gruppe nicht vor. Pulmonale Infiltrate wurden nur bei einem Patienten dieser Gruppe gefunden. Insgesamt ergab sich kein signifikanter Einfluss der Zahl der CD34+Zellen auf die Inzidenz und Ausprägung infektiöser Komplikationen.

Tabelle 3.6.1: Einfluss der Anzahl der CD34+Zellen auf die Regeneration der Hämatopoese

Die Patienten wurden nach der medianen Anzahl der CD34+Zellen in den PBSZ-Präparaten unterteilt.

Anzahl CD34+Zellen [x 10 ⁶ / kgKG]	≥ 5,3		< 5,3		
N	14		13		
	Dauer Median	95-%- Konfidenz -intervall	Dauer Median	95-%- Konfidenz -intervall	Log-Rank p
Dauer bis					
-Leukozyten > 1000 / µl [Tage]	14	13-15	17	15-19	0,056
-Leukozyten > 2000 / µl [Tage]	17	16-18	20	18-22	0,022
-Granulozyten > 500 / µl [Tage]	16	15-17	20	19-21	0,002
-Granulozyten > 1000 / µl [Tage]	17	16-18	20	19-21	0,003
-Hb-Wert > 10 g / dl [Monate]	3,3	0,6-5,9	3,2	1,6-5,0	ns
-zum letzten Erythrozytenkonz. [Tage]	38	0-73	48	39-57	ns
-Thrombozyten > 50 000 / µl. [Tage]	24	11-37	27	17-37	ns
-zum letzten Thrombozytenk. [Tage]	20	10-30	26	6-46	ns
Anzahl	Anzahl Median	Min.-Max.	Anzahl Median	Min.- Max.	M.-W.-U.- Test
-Erythrozytenkonzentrate	8	1-20	11	4-46	ns
-Thrombozytenkonzentrate	30	10-108	43	14-171	ns

Tabelle 3.6.2: Einfluss der Anzahl der CD34+Zellen auf den klinischen Verlauf nach PBSZ-T

Die Patienten wurden nach der medianen Anzahl der CD34+Zellen in den PBSZ-Präparaten unterteilt.

Anzahl CD34+ Zellen [x 10 ⁶ / kgKG]	≥ 5,3		< 5,3		
N	14		13		
	kumulative Wahrschein- lichkeit		kumulative Wahrschein- lichkeit.		Log Rank- Test
Überleben im ersten Jahr	0,66		0,72		ns
Rezidivwahrscheinlichkeit	0,10		0,10		ns
	Median	95-%- Konf.	Median	95-%- Konf.	Log-Rank- Test
Dauer der CSA-Gabe [Monate]	9,2	5,7-12,8	17,9	17,2-18,8	0,019
Stationäre Therapie [Tage]	41	34-48	41	34-48	ns
	Anzahl Patienten	Prozent	Anzahl Patienten	Prozent	Fisher-Exact
Häufigkeit akute GvHD ≥ 3.°	5	36	5	36	ns
Häufigkeit cGvHD Grad extensiv	4	29	6	40	ns
Häufigkeit Infektionen ≥ 3.°	1	7	0	0	ns
Häufigkeit Fieber ≥ 3.°	0	0	0	0	ns
positive Blutkulturen	0	0	0	0	ns
Pulmonale Infiltrate	1	8	0	0	ns
	Median pro Patient	Min-Max	Median pro Patient	Min-Max	M.-W.-U- Test
Therapie mit i.v.-Antibiotika [Tage]	18	0-44	17	9-35	ns
Tage mit Temperatur >38 ° C	9	0-19	8	0-17	ns

3.7 Inzidenz und Ausprägung von Infektionen in den drei Gruppen

In diesem Kapitel soll die Inzidenz und Ausprägung von Infektionen in den ersten 100 Tagen in den drei Gruppen verglichen werden. Tabelle 3.7.1 gibt einen Überblick über die Ergebnisse. Es sind nur

Patienten berücksichtigt, die mindestens 100 Tage nachbeobachtet wurden oder bereits zuvor eine Infektion erlitten. Das betraf bis auf einen Patienten der Gruppe PBSZ-T alle Patienten. Er wurde weniger als 100 Tage nachbeobachtet und erlitt in dieser Zeit keine Infektion.

Tabelle 3.7.1: Infektionen

	Gruppe						p 0;1 0;2 1;2		
	KMT 0		KMT+G-CSF 1		PBSZ-T 2				
Anzahl Patienten	23		22		28		Mann-Whitney-		
Infektionsparameter	Median	Min-Max	Median	Min-Max	Median	Min-Max	U-Test		
Anzahl Tage mit Temp. > 38°C	9	0-26	11	1-39	8	0-19	+	ns	+
Anzahl Tage mit Antibiotika i.v.	18	0-59	18	0-44	18	0-44	ns	ns	ns
	Median	95%-Konf.	Median	95%-Konf.	Median	95%-Konf.			
CRP-Maximum	20	16,2-23,8	22	18,6-27,5	18	17,7-24,1	ns	ns	ns
	Anzahl Patienten	Anteil [%]	Anzahl Patienten	Anteil [%]	Anzahl Patienten	Anteil [%]	Fischer-Exact		
Patienten mit Infektionen nach WHO \geq 3	7	30	8	36	2	7	ns	+	+
Fieber \geq 3° nach WHO	2	9	1	5	0	0	ns	ns	ns
Erregernachweis in Blutkulturen	12	52	9	41	0	0	ns	!	!
Pulmonale Infiltrate	4	17	4	18	1	4	ns	ns	ns

ns = nicht signifikant; (+) = nicht signifikant, $p < 0,1$; + = $p < 0,05$; # = $p < 0,01$, ! = $p < 0,001$

Folgende schwere Infektionen (\geq 3 nach WHO) traten bei den Patienten auf:

Gruppe KMT:

1. Sepsis durch Staphylokokken und Enterokokken
2. Pneumonie durch Escherichia coli, zusätzlich Nachweis von Streptococcus mitis und koagulase negativen Staphylokokken in Blutkulturen, Patient verstorben
3. Pneumonie, Verdacht auf CMV-Infektion, zusätzlich Nachweis von koagulase negativen Staphylokokken in Blutkulturen
4. Pneumonie und Sepsis mit Escherichia coli, Patient verstorben
5. Meningitis ohne gesicherten Erregernachweis, zusätzlich Nachweis von Streptokokkus mitis in Blutkulturen
6. CMV-Pneumonie und Pleuritis, Patient verstorben (vorher ausgeheilte mykotische Pneumonie)
7. multiple Lungeneinblutungen mit erhöhtem HSV-IgM-Titer, verstorben

Gruppe KMT+G-CSF:

1. hämorrhagische +, zusätzlich Hickman-Katheterinfektion mit Klebsiella oxytozea
2. interstitielle Pneumonie ohne gesicherten Erregernachweis, verstorben (Streptococcus mitis und Staphylococcus albus in Blutkulturen)
3. Sepsis durch koagulase negative Staphylokokken und Streptococcus mitis
4. Interstitielle Pneumonie, die beatmungspflichtig war, Enterokokken in den Blutkulturen
5. CMV-Pneumonie
6. Sepsis nach Katheterinfektion, Streptococcus mitis, Staphylococcus aureus und Enterokokken in den Blutkulturen
7. Sepsis durch koagulase negative Staphylokokken
8. Pneumonie durch Candida albicans, zusätzlich Nachweis von koagulase negativen Staphylokokken in den Blutkulturen, Patient verstorben.

Gruppe PBSZ-T:

1. Aspergilluspneumonie, verstorben.

2. Salmonellenenteritis.

Bei der Dauer der Antibiotikagabe, dem maximalen CRP-Wert und der Inzidenz von Fieber vom Grad 3 und 4 nach WHO fanden sich keine Unterschiede.

In den ersten 100 Tagen traten bei den Patienten, die periphere Stammzellen erhielten, nur zwei schwere Infektionen auf (7 %). Bei ihnen konnten keine Erreger in Blutkulturen nachgewiesen werden. Bei einem Patienten fanden sich pulmonale Infiltrate.

Demgegenüber traten bei den Patienten, die eine Knochenmarktransplantation ohne G-CSF erhielten, bei 7 Patienten schwere Infektionen auf (30 %, $p = 0,028$), bei 11 Patienten wurden Erreger in den Blutkulturen nachgewiesen (48 % $p < 0,001$) (zusätzlich 1 Patient mit positivem HSV-IgM) und bei 4 Patienten fanden sich pulmonale Infiltrate (17,4 %, $p = ns$).

Für die Patienten, die zusätzlich zur Knochenmarktransplantation G-CSF erhielten, ließ sich gegenüber ihrer Kontrollgruppe KMT kein Vorteil in Bezug auf die Häufigkeit und Ausprägung von Infektionen in den ersten 100 Tagen nachweisen. Mit im Median 11 Tagen litten sie sogar signifikant länger unter Temperaturen von mehr als 38 °C als die Patienten der beiden anderen Gruppen (Gruppe KMT; Median 9 Tage, $p = 0,046$, Gruppe PBSZ-T; Median 8 Tag, $p = 0,014$).

3.8 Inzidenz und Ausprägung von Graft-vs-Host Diseases in den drei Gruppen

Tabelle 3.8.1: Akute GvHD.

Oben : Dauer der akuten GvHD. N = alle Patienten. Unten : Anzahl von Patienten mit Haut-, Leber-, Darm- sowie Gesamt-GvHD vom klinischen Grad 3 und 4. N= Patienten, die eine akute GvHD erlitten oder mindestens 100 Tage nachbeobachtet wurden.

	Gruppe									p		
	KMT			KMT+G-CSF			PBSZ-T			0;1	0;2	1;2
	0	1	2	0;1	0;2	1;2	Log Rank					
Median	95%-Konf.	N	Median	95%-Konf.	N	Median	95%-Konf.	N	Log Rank			
Dauer der Gesamt aGvHD* [Tage]	20	(12-28)	23	16	(7-25)	22	15	(5-21)	27	ns	ns	ns
Grad akute GvHD	Anzahl Patienten	Anteil [%]	N	Anzahl Patienten	Anteil [%]	N	Anzahl Patienten	Anteil [%]	N	Fisher-exact		
Haut Grad ≥ 3	3	14	22	6	29	21	9	33	27	ns	ns	ns
Leber Grad ≥ 3	0	0	22	1	5	21	5	19	27	ns	ns	ns
Darm Grad ≥ 3	2	9	22	1	5	21	6	22	27	ns	ns	ns
Gesamtgrad ≥ 3	3	14	22	2	10	21	10	37	27	ns	ns	+

ns = nicht signifikant; (+) = nicht signifikant, $p < 0,1$; + = $p < 0,05$; # = $p < 0,01$, ! = $p < 0,001$

3.8.1 Inzidenz und Ausprägung von akuten GvHDs in den drei Gruppen

Tendenziell scheinen die Patienten, die periphere Stammzellen erhielten, mehr schwere Haut-, Leber- und Darm-GvHDs (Schweregrad 3 und mehr) erlitten zu haben. 10 Patienten dieser Gruppe (37 %) erlitten eine schwere Gesamt GvHD (Gesamtgrad III und IV) gegenüber 3 unter den Patienten der Kontrollgruppe KMT (14 %, $p = ns$) und 2 unter den Patienten des G-CSF-Therapiearmes (10 %, $p = 0,044$).

Die Dauer der akuten GvHD unterschied sich zwischen den drei Therapiegruppen nicht signifikant (siehe Tabelle 3.8.1).

3.8.2 Inzidenz und Ausprägung von chronischen GvHDs in den drei Gruppen

In diesen Vergleich wurden nur Patienten einbezogen, die mindestens ein Jahr lang nachbeobachtet wurden oder bereits vorher eine chronische GvHD erlitten. Unter den Patienten, die periphere Stammzellen erhielten, erlitten 9 Patienten (75 %) eine chronische GvHD vom Grad extensiv, gegenüber 3 Patienten der Gruppe KMT (20, $p = 0,007$) und 4 Patienten in der Gruppe KMT+G-CSF (33, $p = 0,100$).

Tabelle 3.8.2: Chronische GvHD

N = Patienten, die mindestens ein Jahr nachbeobachtet wurden, oder zuvor bereits eine cGvHD erlitten

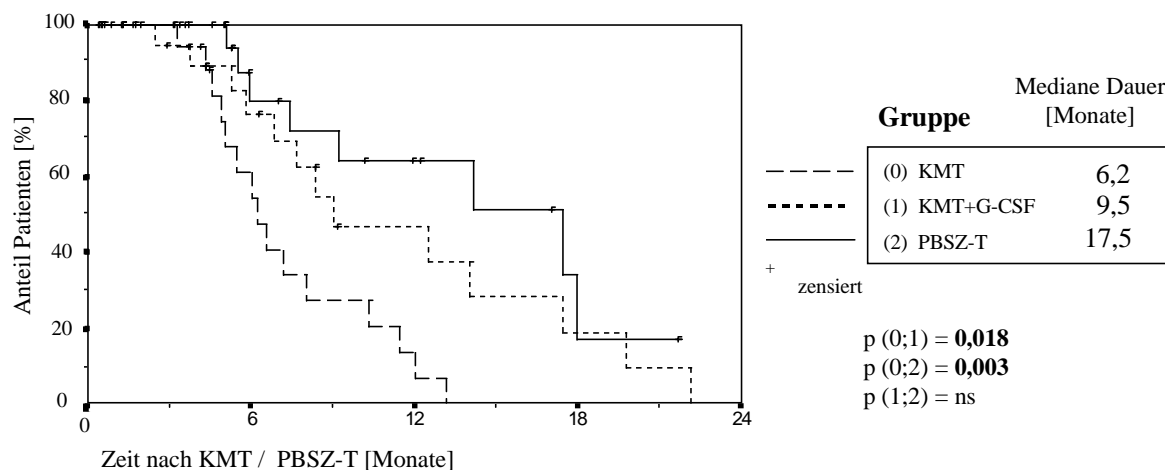
	Gruppe									p		
	KMT 0			KMT+G-CSF 1			PBSZ-T 2			0;1	0;2	1;2
Grad cGvHD	Anzahl	Prozent	N	Anzahl	Prozent	N	Anzahl	Prozent	N	Fisher-exact		
Limited	3	20	15	4	33	12	1	8	12	ns	ns	ns
Extensive	3	20	15	4	33	12	9	75	12	ns	#	ns

ns = nicht signifikant; (+) = nicht signifikant, $p < 0,1$; + = $p < 0,05$; # = $p < 0,01$, ! = $p < 0,001$

3.8.3 GvHD-Prophylaxe / Immunsuppression mit Cyclosporin A in den drei Gruppen

Abbildung 3.8.1: Dauer der GvHD-Prophylaxe mit Cyclosporin A

Kumulativer Anteil von Patienten, die zum jeweiligen Zeitpunkt nach KMT / PBSZ-T unter Immunsuppression mit CsA standen



Bei der maximalen CsA-Dosis und dem maximalen CSA-Spiegel fanden sich innerhalb der ersten 28 Tage zwischen den drei Gruppen keine Unterschiede (siehe Tabelle 3.8.3). Jedoch benötigten die Patienten, die periphere Stammzellen erhielten, im Median etwa 10 Monate länger eine Immunsuppression mit CsA als die Patienten der Kontrollgruppe KMT (17,5 vs 6,2 Monate, $p = 0,03$).

Auch die Patienten der Gruppe KMT+G-CSF benötigten signifikant länger eine Immunsuppression mit CsA als die Patienten der Kontrollgruppe (Medianwerte: 9 vs. 6,2; $p = 0,018$).

Tabelle 3.8.3: GvHD-Prophylaxe / Immunsuppression mit Cyclosporin A

Oben: Maximaler CSA-Spiegel und maximale CsA-Dosis innerhalb der ersten 28 Tage.

Unten: Dauer der CSA-Prophylaxe

	Gruppe									p		
	KMT 0			KMT+G-CSF 1			PBSZ-T 2					
	Median	95%-Konf.	N	Median	95%-Konf.	N	Median	95%-Konf.	N	MannWhitney-U		
Max. CSA-Spiegel [ng/ml]**	429	412-572	23	453	395-579	22	402	381-464	29	ns	ns	ns
Max. Dosis CSA i.v. [mg]**	400	334-412	23	400	368-519	22	400	366-467	29	ns	ns	ns
	Median	95%-Konf.	N	Median	95%-Konf.	N	Median	95%-Konf.	N	Log-Rank		
Dauer der CSA-Gabe [Monate]	6,2	4,9-7,6	23	9	4,0-14,1	22	17,5	8,1-26,9	29	+	#	ns

**in den ersten 28 Tagen

ns = nicht signifikant; (+) = nicht signifikant, $p < 0,1$; += $p < 0,05$; # = $p < 0,01$, ! = $p < 0,001$

3.9 Toxizität und Nebenwirkungen der Therapie in den drei Gruppen

3.9.1 Nephrotoxizität

Der Anstieg der Creatininwerte erfolgte in allen drei Gruppen ungefähr gleich. Generalisierte Ödeme kamen in keiner der Therapiegruppen gehäuft vor. Auch die Anzahl der Patienten, die eine Dialyse benötigten, unterschied sich nicht. Eine erhöhte Inzidenz von Hämaturien fand sich ebenfalls nicht.

3.9.2 Hepatotoxizität

Der Eiweißspiegel im Serum fiel bei den Patienten, die periphere Stammzellen erhielten, stärker ab als bei den Patienten der Kontrollgruppe KMT (Medianwerte in g / dl: 5,5 vs. 6,1, $p = 0,000$).

Die Werte für die Laktat-Dehydrogenase stiegen bei den Patienten der Gruppe PBSZ-T im Median hingegen weniger stark an als bei den Patienten, die Knochenmark erhielten. (Medianwerte in U/l: 274 vs. 420, $p = 0,007$). Andere signifikante Unterschiede waren nicht erkennbar.

3.9.3 Kardiotoxizität

Eine erhöhte Inzidenz von gefährlichen Rhythmusstörungen oder starken Herzinsuffizienzen läßt sich weder für die G-CSF-Therapie nach KMT noch für die Transplantation mit peripheren Stammzellen nachweisen.

3.9.4 Neurotoxizität

Schwere periphere Neuropathien oder schwere extrapyramidale Störungen wurden nicht beobachtet.

3.9.5 Stomatitis

Bei allen Patienten, die periphere Stammzellen erhielten, fanden sich schwere Stomatitiden vom Grad 3 und 4 nach WHO. Das waren signifikant mehr als bei den Patienten der Kontrollgruppe KMT (100 % vs. 73 %, $p = 0,005$). Auch bei den Patienten, die G-CSF erhielten, war die Inzidenz mit 96 % leicht, jedoch nicht signifikant höher.

3.9.6 Blutungen

Die Inzidenz von schweren Blutungen unterschied sich in den drei Gruppen nicht.

3.9.7 Venous occlusive disease

Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Inzidenz von VODs.

Tabelle 3.9.1: Vergleich der Toxizität der Behandlungsverfahren

	Gruppe						p		
	KMT		KMT+G-CSF		PBSZ-T		0;1	0;2	1;2
	0		1		2				
	23		22		27		Mann-Whitney-		
Laborwerte	Median	Min.-Max.	Median	Min.-Max.	Median	Min.-Max.	U-Test		
Max. Creatininwert [mg/dl]	1,7	1,1-5	1,8	1,4-4,8	2,0	1,3-3,8	ns	ns	ns
Max. Harnsäurewert [mg/dl]	6,0	3,8-9,5	6,3	3,3-10,1	7,1	3,7-11,8	ns	ns	ns
Max. Bilirubinwert [mg/dl]	1,9	0,2-43,5	2,5	0,8-28,9	2,9	0,8-13,2	ns	ns	ns
Max. LDH-Wert [U/l]	420	227-2086	441	273-858	274	117-1290	(+)	#	#
Max. GOT-Wert [U/l]	26	10-121	25	11-267	32	3,8-83	ns	ns	ns
Max. GPT-Wert [U/l]	40	11-140	57	9--377	42	12-226	ns	ns	ns
Max. AP-Wert [U/l]	167	84-900	229	103-901	182	90-688	ns	ns	ns
Max. G-GT-Wert [U/l]	138	20-639	139	48-534	239	53-697	ns	ns	ns
Min. CHE-Wert [U/l]	1794	1176-4760	1656	960-3368	1307	525-3162	ns	ns	ns
Min. Quickwert [%]	71	30-94	63	10-89	63	24-98	ns	ns	ns
Min. Gesamteiweiß [g/dl]	6,1	4,8-7,1	6,0	4,0-7,1	5,5	4,3-6,5	ns	!	+
Schwere Komplikationen	Anzahl Patienten	Anteil [%]	Anzahl Patienten	Anteil [%]	Anzahl Patienten	Anteil [%]	Fischer-Exact		
Stomatitis \geq III°	17	73,0	21	95,5	29	100,0	ns	#	ns
Herzrhythmus n.WHO \geq III	0	0,0	1	4,5	0	0,0	ns	ns	ns
Herzfunktion n.WHO \geq III°	1	4,3	1	4,5	0	0,0	ns	ns	ns
Diagnose VOD	4	17,0	5	27,7	7	24,1	ns	ns	ns
Ödeme \geq III°	2	9,1	1	4,5	1	3,4	ns	ns	ns
Dialyse	3	13,0	1	4,5	0	0,0	ns	ns	ns
Blutung nach WHO \geq III°	2	8,7	1	4,5	1	3,7	ns	ns	ns
Hämaturie \geq II°	1	4,5	0	0,0	2	6,9	ns	ns	ns
Lungenfunktion \geq III°	6	26,1	2	9,5	4	13,8	ns	ns	ns
Beatmung	3	13,0	3	13,6	5	17,2	ns	ns	ns
Periphere Neuropathien \geq III°	0	0,0	0	0,0	0	0,0	ns	ns	ns
Extrapyramidale Sympt. \geq III°	0	0,0	0	0,0	0	0,0	ns	ns	ns

ns = nicht signifikant; (+) = nicht signifikant, $p < 0,1$; + = $p < 0,05$; # = $p < 0,01$, ! = $p < 0,001$

3.10 Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeiten in den drei Gruppen

Tabelle 3.10.1: Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeiten

	Gruppe						p 0;1 0;2 1;2		
	KMT 0		KMT+G-CSF 1		PBSZ-T 2				
	Kum.-%	n	Kum.-%	n	Kum.-%	n	Log-Rank-Test		
I) Gesamtüberleben	*1		*1		*1				
am Tag 100	78	6	18	4	86	4			
nach 12 Monaten	65	8	11	11	70	7			
nach 24 Monaten	65	8	9	13	x	7	ns	ns	ns
II) Rezidivwahrscheinlichkeit	*2		*2		*2				
am Tag 100	10	2	17	1	4	1			
nach 12 Monaten	21	4	10	6	10	2			
nach 24 Monaten	21	4	7	7	x	7	ns	ns	(+)
III) TRM	*3		*3		*3				
am Tag 100	18	4	17	4	14	4			
nach 12 Monaten	23	5	10	6	24	6			
nach 24 Monaten	23	5	8	7	x	7	ns	ns	ns
IV) DFS	*4		*4		*4				
am Tag 100	74	6	18	5	82	5			
nach 12 Monaten	61	9	11	12	68	8			
nach 24 Monaten	61	9	9	14	x	7	ns	ns	ns

ns = nicht signifikant; (+) = nicht signifikant, $p < 0,1$; + = $p < 0,05$; # = $p < 0,01$, ! = $p < 0,001$

*1 = Anzahl verstorbener Patienten, *2 = Anzahl von Patienten mit Rezidiv, *3 = Anzahl transplantationsbedingt verstorbener Patienten, *4 Anzahl von Patienten, die ein Rezidiv erlitten und / oder verstorben sind, Kum.-% = kumulative Wahrscheinlichkeit in Prozent, TRM = Transplantationsbedingte Mortalität, DFS = disease-free survival

Abbildung 3.10.1: Überlebenswahrscheinlichkeit nach Kaplan-Meier

(kumulativer Anteil überlebender Patienten)

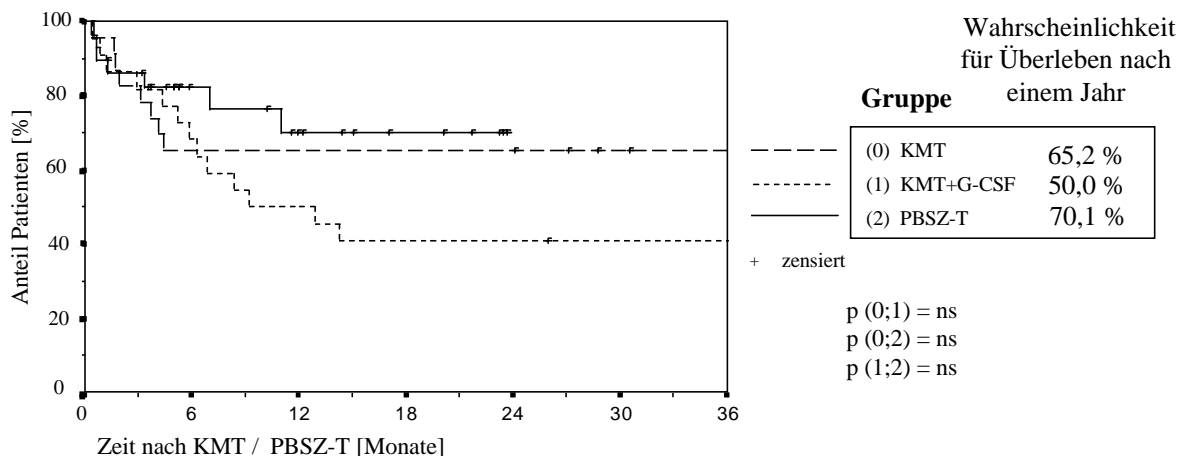
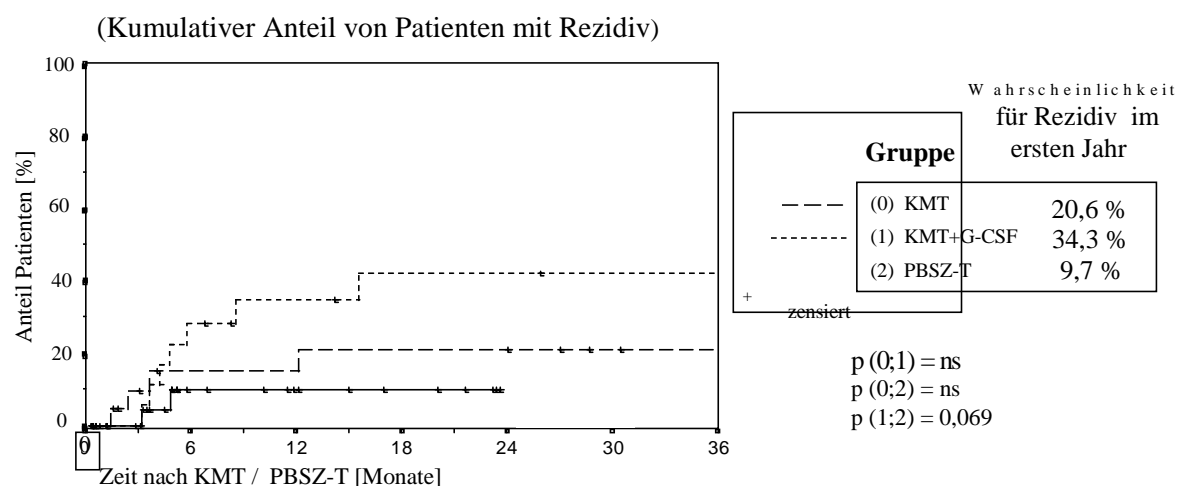


Tabelle 3.10.2: Todesursachen im ersten Jahr

Anzahl der Patienten, die an durch die links angegebene Todesursache verstorben sind; Anteil an der Gesamtzahl der berücksichtigten Patienten.

	Gruppe						Exakter Test nach Fisher		
	0 KMT		1 KMT+G-CSF		2 PBSZ-T		p(0;1)	p(0;2)	p(1;2)
	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%			
Gesamtzahl Patienten	23	100	22	100	16	100			
Rezidivbedingt verstorben	3	13	5	22	1	6	ns	ns	ns
Therapieassoziiert verstorben	5	22	6	26	6	38	ns	ns	ns
Infektion +/- GvHD	3	13	4	17	2	13	ns	ns	ns
GvHD	1	4	0	0	1	6	ns	ns	ns
Blutung	1	4	0	0	1	6	ns	ns	ns
VOD	0	0	2	9	0	0	ns	ns	ns
sonstige	0	0	0	0	2	13	ns	ns	ns
Summe verstorben	8	35	11	50	7	44	ns	ns	ns

ns = nicht signifikant; (+) = nicht signifikant, $p < 0,1$; + = $p < 0,05$; # = $p < 0,01$, ! = $p < 0,001$

Abbildung 3.10.2 Rezidivwahrscheinlichkeit.

3.10.1 Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeiten in den drei Gruppen

In den Abbildungen 3.10.1 und 3.10.2 sind die Ergebnisse der Kaplan-Meier-Analyse für die Überlebens- und die Rezidivwahrscheinlichkeit graphisch dargestellt. In Tabelle 3.10.1 sind die dazugehörigen Werte für den Tag 100 sowie nach 1 und nach 2 Jahren eingetragen. Diese Ergebnisse entstammen den Überlebenstabellen der Kaplan-Meier-Analyse.

Man erkennt, dass sich die Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeiten, die transplantationsbedingte Mortalität (TRM = transplantation related mortality) und das rezidivfreie Überleben (DFS = disease free survival) in den drei Gruppen nicht signifikant unterschieden. Die medianen Beobachtungszeiträume betragen dabei für die Gruppen KMT, KMT+G-CSF und für die Gruppe PBSZ-T 47 (24-70), 43 (26-57) und 11 (1,3-27).

3.10.2 Todesursachen im ersten Jahr nach Transplantation in den drei Gruppen

In Tabelle 3.10.2 sind die Todesursachen für die im ersten Jahr verstorbenen Patienten eingetragen. Es wurden nur Patienten berücksichtigt, die mindestens über ein Jahr nachbeobachtet werden konnten bzw. die im ersten Jahr ein Rezidiv erlitten und / oder verstarben. In den Gruppen KMT und KMT+G-CSF traf dies auf alle Patienten zu, in der Gruppe PBSZ-T nur auf 16 Patienten.

Rezidivbedingt verstarben in der Gruppe KMT 3 von 23 Patienten (13 %), in der Gruppe KMT+G-CSF 5 von 22 Patienten (22 %) und in der Gruppe PBSZ-T einer von 16 Patienten (6 %). Therapieassoziiert verstarben in der Gruppe KMT 5 von 23 Patienten (22 %), in der Gruppe KMT+G-CSF 6 von 22 Patienten (27 %) und in der Gruppe PBSZ-T 6 von 16 Patienten (38 %). Die therapieassoziierten Todesursachen waren in den drei Gruppen im einzelnen wie folgt verteilt:

In der Gruppe KMT verstarben 3 Patienten an infektiösen Komplikationen. Sie erlitten Pneumonien mit nachfolgender Sepsis durch die folgenden Erreger: *Aspergillus fumigatus*, CMV und *E. coli*. Ein Patient verstarb an den Folgen einer nicht beherrschbaren GvHD mit nachfolgendem Leber- und Nierenversagen, ein weiterer an multiplen Lungeneinblutungen mit nachfolgendem ARDS.

In der Gruppe KMT+G-CSF verstarben 4 Patienten an infektiösen Komplikationen (Pneumonie und Sepsis: *Pseudomonas*, *Candida albicans*, *Streptococcus mitis*, 1x ohne gesicherten Erregernachweis) und 2 Patienten an den Folgen einer VOD.

In der Gruppe PBSZ-T verstarben im ersten Jahr 2 Patienten an infektiösen Komplikationen. Ein Patient verstarb mit Pneumonie und respiratorischer Insuffizienz durch *Aspergillus* und ein Patient mit interstitieller Pneumonie / fibrinöser Alveolitis ohne Erregernachweis (strahlenbedingt?). Ein Patient verstarb durch Leberversagen als Folge einer GvHD, ein Patient an einer Hirnblutung, und zwei Patienten an sonstigen Komplikationen (ein Patient mit einer anaphylaktischen Reaktion auf liposomales Amphotericin B und ein Patient, der durch einen hypoxischen Hirnschaden auf Grund einer Obstruktion der oberen Atemwege verstarb).

Bei den Infektionen wurde nicht unterschieden, ob sie mit oder ohne vorhergehende GvHD auftraten. Auffällig war, dass in der Gruppe KMT+G-CSF alle 7 Patienten mit akuter myeloischer Leukämie verstarben, während es in der Gruppe KMT nur einer von 4 und in der Gruppe PBSZ-T nur 3 von 6 waren ($p(0;1)=0,024$, $p(1;2)=0,069$). Die Vermutung, dass G-CSF durch Beschleunigung des Wachstums maligner Zellklone hier zu vermehrter rezidivbedingter Sterblichkeit geführt haben könnte, bestätigt sich jedoch nicht. Nur drei der AML-Patienten der Gruppe KMT+G-CSF verstarben rezidivbedingt (siehe Tabelle 3.10.3).

Tabelle 3.10.3: Überleben und Rezidive der Patienten mit akuter myeloischer Leukämie.

In diese Betrachtung sind nur Patienten mit akuter myeloischer Leukämie aufgenommen, die mindestens ein Jahr nachbeobachtet wurden oder im Verlauf des ersten Jahres ein Rezidiv erlitten oder verstarben. Es ist die Anzahl der Patienten eingetragen die im ersten Jahr verstarben, ein Rezidiv erlitten oder rezidivfrei überlebten.

	Gruppe									Fisher-Exact-Test		
	KMT			KMT+G-CSF			PBSZ-T			p(0;1)	p(0;2)	p(1;2)
	Anzahl	Gesamt	Anteil [%]	Anzahl	Gesamt	Anteil [%]	Anzahl	Gesamt	Anteil [%]			
Patienten mit AML												
Verstorben	1	4	25	7	7	100	3	6	50	+	ns	(+)
Rezidiv	1	4	25	3	7	43	0	6	0	ns	ns	ns

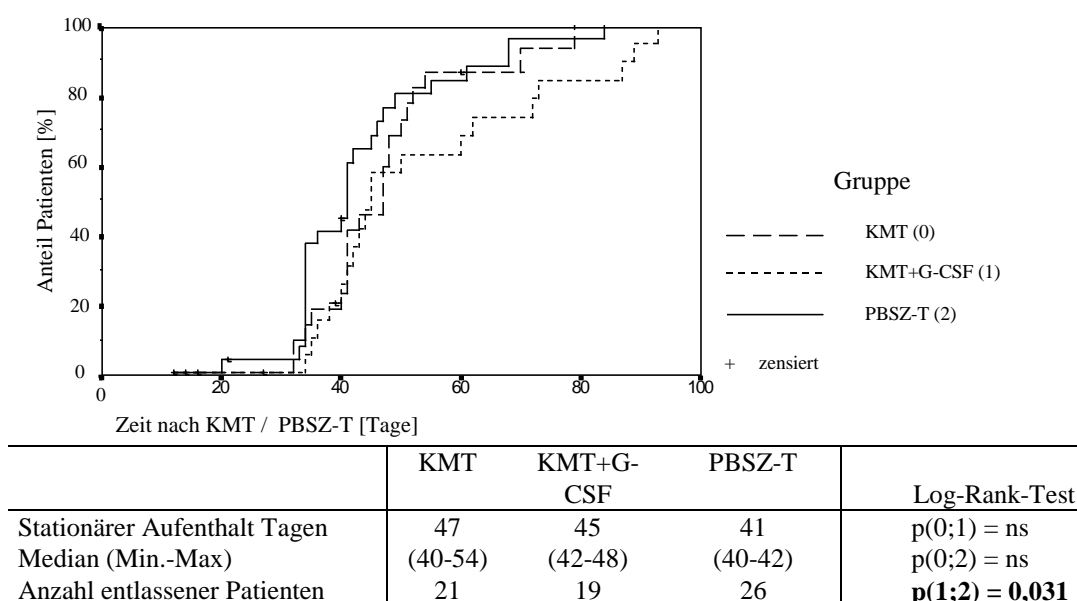
ns = nicht signifikant; (+) = nicht signifikant, $p < 0,1$; + = $p < 0,05$; # = $p < 0,01$, ! = $p < 0,001$

3.11 Dauer des stationären Aufenthaltes in den drei Gruppen

In Abbildung 3.11.1. ist der Anteil der aus der stationären Behandlung entlassenen Patienten in Abhängigkeit von der Zeit nach Transplantation für die drei Gruppen eingetragen. Die Patienten der Gruppen KMT, KMT+G-CSF und PBSZ-T wurden im Median nach 47 (40-54), 45 (42-48) und 41 (40-42) Tagen entlassen. Die Patienten der Gruppe PBSZ-T wurden also im Median 6 Tage früher entlassen als die Patienten der Gruppe KMT ($p > 0,1$) und 4 Tage früher, als die Patienten der Gruppe KMT+G-CSF ($p = 0,031$). Der Verlauf der Kaplan-Meier-Kurven bestätigt den deutlichen Unterschied zwischen den Gruppen KMT+G-CSF und PBSZ-T.

Abbildung 3.11.1: Dauer des stationären Aufenthaltes

Dargestellt ist der Anteil entlassener Patienten in Abhängigkeit von der Zeit in Tagen nach KMT bzw. PBSZ-T.



4 Diskussion

4.1 Einfluss der Gabe von G-CSF nach allogener KMT auf die hämatopoetische Regeneration und den klinischen Verlauf

4.1.1 Übersicht

Zum Vergleich werden den Ergebnissen der Düsseldorfer Studie im Folgenden die Ergebnisse bisheriger Veröffentlichungen, die mittels Medline-Recherche aufgefunden wurden, gegenübergestellt. Es wurden nur Studien aufgenommen, in denen die G-CSF-Gabe nach allogener KMT von HLA-identischen Geschwisterspendern mit einer Kontrollgruppe retrospektiv oder prospektiv verglichen wurde, und in der die Fallzahl in jeder Gruppe oberhalb von 10 Patienten lag. Bisher sind 2 prospektiv randomisierte Studien zu diesem Thema erschienen. Eine kleine prospektiv randomisierte Studie von Blaise et al (1992) von insgesamt 24 Patienten liegt leider nur als Abstract vor, in dem die Art der GvHD-Prophylaxe nicht angegeben wurde. Im Rahmen einer größeren multizentrischen, prospektiv randomisierten Studie, deren Ergebnisse von Gisselbrecht et al 1994 veröffentlicht wurden, wurden neben einer großen Anzahl von autologen Transplantationen auch 70 Patienten allogenen transplantiert. Leider wurden hier Infektionsparameter und Parameter des Langzeitverlaufes nicht für die allogenen transplantierten Patienten allein, sondern nur zusammen mit den autolog transplantierten angegeben.

Tabelle 4.1.1: Publikationen zum Thema G-CSF nach allogener KMT

Studienauswahl siehe Text. Verglichen sind jeweils eine Therapiegruppe (KMT + G-CSF), die G-CSF nach allogener KMT erhielt, mit einer Kontrollgruppe (KMT), die eine KMT ohne G-CSF erhielt.

	Studienart	Art der GvHD-Prophylaxe	N Therapie vs Kontrolle ¹⁾	Initialdosis G-CSF
Masaoka T. et al 1989	retrospektiv, Dosisfindung	unterschiedlich	34 vs 45	200/400/800 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ iv / Tag, ab Tag 3/5
Blaise D. et al 1992	prospektiv randomisiert	na	12 vs 12	30 $\mu\text{g}/\text{kgKG}$ / Tag iv über 24 h
Gisselbrecht C et al 1994	randomisiert, plazebo-kontrolliert, multizentrisch	unterschiedlich	36 vs 34	5 $\mu\text{g}/\text{kgKG}$ / Tag über 0,5h iv.
Schriber R et al 1994	retrospektiv	CsA+MP CsA+MP+MTX	13 vs 25 17 vs 27	10 $\mu\text{g} / \text{kgKG}$ / Tag über 1-2 h iv.
Martin-Algarra S. et al 1994	retrospektiv	CsA und MTX	21 vs 38	5/10 $\mu\text{g} / \text{kgKG}$ / Tag sc.
Locatelli F et al 1995	retrospektiv, Kinder	CsA	20 vs 30	5 $\mu\text{g} / \text{kg KG}$ / Tag über 1 h iv.
Eigenes Kollektiv	prospektiv randomisiert	CsA und MTX	22 vs 23	10 $\mu\text{g} / \text{kgKG}$ / Tag sc.

MTX = Methotrexat, **CsA** = Cyclosporin A, **MP** = Methylprednisolon, **na** = nicht angegeben

¹⁾ Therapie vs Kontrolle = KMT + G-CSF vs KMT.

4.1.2 Einfluss von G-CSF nach allogener KMT auf die hämatopoetische Regeneration

In Tabelle 4.1.2 sind die Daten zur Dauer der Agranulozytosezeit aus den bisher veröffentlichten Studien zur Gabe von G-CSF nach allogener KMT zusammengefasst und dem Ergebnis aus dem in dieser Arbeit vorgestellten Patientenkollektiv gegenübergestellt. Die Beschleunigung der Regeneration der Granulozytopoese durch den Einsatz von G-CSF nach allogener KMT gilt allgemein als gesichert. Masaoka et al veröffentlichten 1989 erstmals die Ergebnisse von 34 Patienten, die nach allogener KMT G-CSF in verschiedenen Dosen von 200, 400 und 800 $\mu\text{g} / \text{m}^2$ Körperoberfläche entweder vom Tag 3 oder vom Tag 5 an erhielten. Die Ergebnisse wurden retrospektiv mit denen einer historischen Kontrollgruppe von 45 Patienten verglichen. Die Dauer der Agranulozytose konnte dabei für alle Patienten, die G-CSF erhielten, gegenüber der Kontrollgruppe um 12 Tage verkürzt werden (15 vs 27 Tage, $p < 0,001$).

Tabelle 4.1.2: Dauer der Agranulozytose

In dieser Tabelle sind die Daten zur Dauer der Agranulozytosezeit aus den bisher veröffentlichten Studien zur Gabe von G-CSF nach allogener KMT zusammengefasst und dem Ergebnis aus dem in dieser Arbeit vorgestellten Patientenkollektiv gegenübergestellt. In der 2. und 3. Spalte sind die Art der GvHD-Prophylaxe und die Anzahl der übertragenen kernhaltigen Knochenmarkzellen aufgeführt, soweit diese in den Veröffentlichungen angegeben wurden. Schriber et al geben in ihrer Veröffentlichung von 1994 die Agranulozytosezeiten für zwei verschiedene Regime der GvHD-Prophylaxe an.

	Art der GvHD-Prophylaxe	N ¹⁾	Anzahl übertragener kernhaltiger Zellen [x 10 ⁸ /kgKG ¹⁾	Agranulozytosezeit [Tage] ¹⁾
Masaoka T. et al 1989	unterschiedlich	34 vs 45	3,4 vs na	15 vs 27 !
Blaise D. et al 1992	-	12 vs 12	na	15 vs 17
Gisselbrecht C et al 1994	unterschiedlich	36 vs 34	2,6 vs 2,9	14 vs 20 #
Schriber R et al 1994	CSA+P CSA+MP+MTX	13 vs 25 17 vs 27	na	10 vs 13 # 16 vs 19 !
Martin-Algarra S. et al 1994	CsA und MTX	21 vs 38	na	17 vs 20 !
Locatelli F et al 1995	CsA	20 vs 30	4,2 vs 4,6	9 vs 15 !
Eigenes Kollektiv	CsA und MTX	22 vs 23	5,0 vs 6,3	17 vs 20
Gewichteter Mittelwert der Medianwerte				14 vs 20 #

+ = $p < 0,05$, # = $p < 0,01$, ! = $p < 0,001$, - = keine Angaben, **MTX** = Methotrexat, **CsA** = Cyclosporin A, **MP** = Methylprednisolon, ¹⁾ Therapie vs Kontrolle = KMT + G-CSF vs KMT, **na** = nicht angegeben

Die verschiedenen G-CSF-Dosen von 200, 400 und 800 $\mu\text{g} / \text{m}^2$ Körperoberfläche sowie der Beginn der Gabe von G-CSF am Tag 3 oder 5 nach Transplantation zeigten in der von Masaoka et al 1989 veröffentlichten Studie keine Auswirkung auf die Dauer der Agranulozytose. Unter den Patienten der Therapiegruppe zeigte sich jedoch, dass die Dauer der Agranulozytose bei denjenigen Patienten, die MTX zur GvHD-Prophylaxe erhielten, um 3 Tage länger war als bei denen, die eine GvHD-Prophylaxe ohne MTX erhielten (13 vs 16 Tage, $p < 0,05$).

Blaise D et al kommen in ihrer 1992 veröffentlichten ersten prospektiv randomisierten Studie zu diesem Thema bei 24 Patienten zu ähnlichen Ergebnissen. Hier fehlen allerdings die Angaben zu dem von ihnen verwandten Protokoll zur GvHD-Prophylaxe. Mit einer initialen G-CSF-Dosis von 30 µg / kgKG / Tag konnte die Agranulozytosezeit um 2 Tage abgekürzt werden (15 vs 17 Tage, p = ns).

Gisselbrecht C et al veröffentlichten 1994 die Ergebnisse einer multizentrischen prospektiv randomisierten, Plazebo kontrollierten Studie. Die Patienten erhielten je nach Protokoll des jeweiligen Zentrums unterschiedliche GvHD-Prophylaxen. Insgesamt gelang es mit einer G-CSF-Dosis von nur 5 µg / kgKG pro Tag bei 36 Patienten das Engraftment der Granulozyten vom Tag 20 in der Kontrollgruppe (n=34) auf den Tag 14 vorzuerlegen (p < 0,01).

Schriber et al veröffentlichten 1994 die Ergebnisse ihrer Studie, in der sie die Wirkung von G-CSF auf die Dauer der Agranulozytose für 2 verschiedene Regime der GvHD-Prophylaxe untersuchten. Unter den Patienten, die Cyclosporin und Prednison zur GvHD-Prophylaxe erhielten, konnte die Dauer der Agranulozytose bei den Patienten, die G-CSF in einer Dosis von 10 µg / kgKG / Tag über 1 bis 2 Stunden i.v. erhielten, von 13 auf 10 Tage abgekürzt werden (p < 0,01). Für Patienten, die zusätzlich MTX zur GvHD-Prophylaxe erhielten, wurde mit der gleichen G-CSF-Dosis ebenfalls eine Verkürzung der Agranulozytosezeit um 3 Tage erreicht (16 vs 19 Tage, p < 0,05), dabei war die Dauer der Agranulozytose jedoch um etwa 6 Tage länger als bei den Patienten, die kein MTX erhielten.

In der Veröffentlichung von Martin-Algarra T. et al von 1995 erhielten die Patienten ebenfalls MTX zur GvHD-Prophylaxe. Die Gabe von G-CSF in einer Dosis von 5 oder 10 µg / kgKG verkürzte dabei die Dauer der Agranulozytose bei 21 Patienten ebenfalls um 3 Tage gegenüber den 38 Patienten einer historischen Vergleichsgruppe (17 vs 20 Tage, p < 0,001). Locatelli et al stellten 1995 retrospektiv erhobene Daten von 50 Kindern vor, die allein Cyclosporin A zur GvHD-Prophylaxe erhielten. Bei 20 dieser Kinder, die ebenfalls 5 µg / kgKG / Tag G-CSF erhielten, dauerte die Zeit der Agranulozytose nur bis zum Tag 9 nach KMT gegenüber dem Tag 15 bei 30 Kindern einer historischen Vergleichsgruppe.

Im Düsseldorfer Patientenkollektiv war die Dauer der Agranulozytose bei den Patienten des Therapiearmes der G-CSF-Studie, die G-CSF-Dosen von initial 10 µg / kgKG erhielten, um 3 Tage kürzer als bei den Patienten des Kontrollarmes (17 vs 20 Tage, p = 0,053). Die Patienten erhielten sämtlich MTX zur GvHD-Prophylaxe. Diese Ergebnisse entsprechen etwa den Ergebnissen der beiden Veröffentlichungen von Schriber et al 1994 (16 vs 19 Tage) und von Martin-Algarra et al 1994 (17 vs 20 Tage). Dies sind bisher die einzigen veröffentlichten Studien, in denen die GvHD-Prophylaxe angegeben war und in denen die Patienten MTX zur GvHD-Prophylaxe erhielten.

Errechnet man aus allen hier vorliegenden Studien die gewichteten Mittelwerte der Mediane, so ergibt sich für die mit G-CSF behandelten Patienten ein Vorteil von 6 Tagen für die Dauer der Agranulozytose (14 vs 20 Tage).

Tabelle 4.1.3: Bereiche, in denen die Medianwerte für die Dauer der Agranulozytose nach allogener KMT in den bisherigen Veröffentlichungen und dem eigenen Kollektiv lagen

	Agranulozytosezeit [Tage]	
	Therapiegruppen KMT + G-CSF	Kontrollgruppen KMT
	Bereich (Min. - Max.)	Bereich (Min. - Max.)
Patienten ohne MTX in der GvHD-Prophylaxe	9 - 13	13 - 16
Patienten mit MTX in der GvHD-Prophylaxe	16 - 17	19 - 27
alle Patienten	9-17	13 - 27

In Tabelle 4.1.3 sind die Bereiche angegeben, in denen die Medianwerte der Agranulozytosezeiten nach allogener KMT in den oben zitierten Studien liegen. Die Bereiche sind getrennt für die Patienten der Therapie- und Kontrollgruppen sowie getrennt für Patienten, die eine GvHD-Prophylaxe mit bzw. ohne MTX erhielten, angegeben. Erkennbar ist, dass die Gabe von MTX die Dauer der Agranulozytose tendenziell verlängert.

Eine Abhängigkeit der Agranulozytosezeiten von der Anzahl der kernhaltigen Knochenmarkzellen, die den Patienten übertragen wurden, ist in keiner dieser Veröffentlichungen angegeben. Auch in unserem Kollektiv zeigte sich eine solche Abhängigkeit nicht (siehe Abschnitt 3.5). Bei Patienten, die mindestens die mediane Anzahl kernhaltiger Zellen von $5,5 \times 10^8$ pro kgKG erhielten, dauerte die Agranulozytosezeit im Median 20 (19-21) Tage gegenüber 18 (17-19) Tagen in der Gruppe der Patienten, die weniger erhielten ($p = ns$).

In unserem Kollektiv benötigten die Patienten, die G-CSF nach allogener KMT erhielten, signifikant mehr Einheiten Thrombozytenkonzentrate als die Patienten der Kontrollgruppe KMT (117 vs 68, $p = 0,005$). Sie erreichten tendenziell später 50 000 Thrombozyten / μl (45 vs 28 Tage nach KMT, $p = ns$) und signifikant später 100 000 Thrombozyten pro μl (93 vs 33 Tage nach KMT, $p = 0,025$). Ein ähnlicher Effekt von G-CSF auf die Megakaryopoese konnte in anderen Publikationen nicht gezeigt werden (Martin-Algarra S. et al 1994 und Locatelli F. et al 1995, s. Tabelle 4.1.4). Unsere Ergebnisse ergeben keinen Hinweis auf einen Einfluss von G-CSF auf die Regeneration der Erythropoese. Die Analyse der Regeneration der Erythropoese anhand der Retikulozytenzahlen könnte genaueren Aufschluss über den Einfluss von G-CSF auf die Regeneration der Erythropoese geben. Retikulozytenzahlen wurden bei den in Düsseldorf transplantierten Patienten allerdings leider nicht regelmäßig untersucht. Auch in den hier aufgeführten Studien waren Angaben zu den Retikulozytenzahlen nicht enthalten. Die Analyse anhand des Hämoglobinwertes ist auf Grund der schwer kalkulierbaren Lebensdauer transfundierter Erythrozyten ungenau.

Tabelle 4.1.4: Regeneration der Megakaryozyto- und Erythrozyttopoese

In dieser Tabelle sind die Daten zum Wiederanstieg der Thrombozytenzahlen, Anzahl der pro Patient gegebenen Thrombozyten- und Erythrozytenkonzentrate und die Dauer der Substitutionsbedürftigkeit für Thrombozyten und Erythrozytenkonzentrate aus den bisher veröffentlichten Studien zur Gabe von G-CSF nach allogener KMT zusammengefaßt und dem Ergebnis aus dem in dieser Arbeit vorgestellten Patientenkollektiv gegenübergestellt.

	N ¹⁾	Tage bis Thrombozyten		Anzahl pro Patienten		Dauer der Substitution [Tage]	
		> 20×10^3 / μl ¹⁾	> 50×10^3 / μl ¹⁾	TK ¹⁾	EK ¹⁾	TK ¹⁾	EK ¹⁾
Schriber R et al 1994	a) 13 vs 25 b) 17 vs 27	27 vs 23 23 vs 22	na	na	na	na	na
Martin-Algarra S. et al 1994	21 vs 38	na	na	14 vs 21	7 vs 11 +	23 vs 23	na
Locatelli F et al 1995	20 vs 30	16 vs 28 #	19 vs 33	na	na	na	na
Eigenes Kollektiv	22 vs 23	na	45 vs 28	117 vs 68 #	18 vs 13	42 vs 22	49 vs 38

¹⁾ = Therapiegruppe KMT+G-CSF vs Kontrollgruppe KMT, **TK** = Thrombozytenkonzentrat, **EK** = Erythrozytenkonzentrat, **a)** Patienten ohne MTX / **b)** Patienten mit MTX in der GvHD-Prophylaxe
na = nicht angegeben, + = $p < 0,05$, # = $p < 0,01$, ! = $p < 0,001$,

Die Anzahl der kernhaltigen Zellen, die die transplantierten Knochenmarkpräparate enthielten, hatte in unserem Patientenkollektiv tendenziell einen Einfluss auf die Regeneration der Megakaryo- und

Erythrozytopenie. Patienten die mindestens die mediane Anzahl kernhaltiger Knochenmarkzellen erhielten, benötigten im Vergleich zu den Patienten, die weniger erhielten, 28 Einheiten Thrombozytenkonzentrate (90 vs 118, $p = 0,102$) und 6 Erythrozytenkonzentrate weniger (11 vs 17, $p = 0,052$) und erreichten einen Hämoglobinwert von 10 g / dl etwa 4 Wochen früher (3,4 vs 4,2 Monate, $p = 0,06$).

4.1.3 Einfluss von G-CSF nach allogener KMT auf die Inzidenz und Ausprägung von Infektionen

Tabelle 4.1.5: Einfluss von G-CSF nach allogener KMT auf die Inzidenz und Ausprägung von Infektionen

In dieser Tabelle sind die Daten zu infektionsbedingten Komplikationen aus den bisher veröffentlichten Studien zur Gabe von G-CSF nach allogener KMT zusammengefasst und dem Ergebnis aus dem in dieser Arbeit vorgestellten Patientenkollektiv gegenübergestellt.

	Fieber [Tage] ¹⁾	gesicherte Infektionen [%] ¹⁾	infektions- bedingt ver- storben [%] ¹⁾	positive Blutkulturen [%] ¹⁾	Pulmonale Infiltrate [%] ¹⁾	i.v.- Antibiotika [Tage] ¹⁾
Blaise D. et al 1992	11 vs 19 + ²⁾	na	na	na	na	16 vs 21 +
Martin-Algarra S. et al 1994	2 vs 5	50 vs 78	0 vs 8 +	9 vs 31 +	na	20 vs 34 +
Locatelli F et al 1995	3 vs 13 !	na	na	na	na	7 vs 19 +
Eigenes Kollektiv	11 vs 9	36 vs 30 ³⁾	17 vs 13	41 vs 52	18 vs 17	18 vs 18
Mittelwert ⁴⁾	6 vs 10					15 vs 25

¹⁾ Therapiegruppe KMT+G-CSF vs Kontrollgruppe KMT, ²⁾ neutropenisches Fieber (Temperatur > 38 und Leukozyten < 1000 / μ l), ³⁾ Infektionen vom Schweregrad 3 und 4 nach WHO, ⁴⁾ gewichteter Mittelwert der Medianwerte, [%] = Prozent der Patienten der Gruppe, [Tage] = Mediane Dauer in Tagen, na = nicht angegeben, + = $p < 0,05$, # = $p < 0,01$, ! = $p < 0,001$

In der randomisierten Studie von Blaise D et al 1992 erlitten unter den allogenen transplantierten Patienten (N = 24) diejenigen, die mit 30 μ g / kgKG pro Tag G-CSF behandelt wurden, 8 Tage kürzer neutropenisches Fieber als die Patienten des Kontrollarmes (11 vs. 19 Tage mit Leukozytenzahl < 1000 pro μ l und Temperatur > 38 ° C, $p < 0,05$). Sie erhielten des weiteren mit 16 gegenüber 21 Tagen signifikant kürzer intravenös verabreichte Antibiotika ($p < 0,05$).

Auch die 20 von Locatelli F. et al 1995 vorgestellten Kinder, die 5 μ g / kg / Tag G-CSF erhielten, erlitten 10 Tage kürzer Fieber als die 30 Kinder der historischen Kontrollgruppe (3 vs. 13 Tage $p < 0,001$) und benötigten 12 Tage kürzer eine intravenöse Antibiotikatherapie (7 vs. 19, $p < 0,001$).

Martin-Algarra S. et al konnten für ihre 21 mit G-CSF behandelten Patienten keine kürzere Fieberperiode gegenüber der historischen Vergleichsgruppe nachweisen (2 vs. 5 Tage $p = ns$). Die mit 5 oder 10 μ g / kgKG G-CSF pro Tag behandelten Patienten verstarben jedoch mit 0 gegenüber 7,9 % der Patienten knapp signifikant seltener an schweren Infektionen ($p = 0,05$) und benötigten 14 Tage kürzer intravenöse Antibiotikatherapie (20 vs. 34 Tage, $p < 0,001$) als die historische Vergleichsgruppe der

Patienten, die kein G-CSF erhielten. Bei 50 % der mit G-CSF behandelten Patienten fanden sich Infektionen mit gesichertem Erregernachweis und bei 9,5 % der Patienten fanden sich Erreger in den Blutkulturen gegenüber 78 ($p = ns$) und 31,6 % ($p < 0,05$) in der Kontrollgruppe. In Tabelle 4.1.5 sind die berechneten gewichteten Mittelwerte für die Mediane Anzahl von Fiebertagen und die mediane Anzahl von Tagen, an denen die Patienten intravenöse Antibiotikagaben erhielten, dargestellt. Die

Patienten mit G-CSF erlitten demnach im Mittel 4 Tage weniger Fieber (6 vs. 10 Tage) und die Dauer der Antibiotikagabe war um 10 Tage kürzer (15 vs 25 Tage).

Diese positiven Ergebnisse konnten an den in Düsseldorf allogenen transplantierten Patienten leider nicht reproduziert werden. Es ergaben sich bei sämtlichen Infektionsparametern keine signifikanten Vorteile für die Patienten des G-CSF Therapiearmes. Sie erlitten im Vergleich zu den Patienten des Kontrollarmes mit 11 gegenüber 9 Tagen nicht weniger Fiebertage und mit 36 gegenüber 30 % der Patienten nicht seltener Infektionen vom Schweregrad 3 und 4 nach WHO.

Es fanden sich bei 9 von 22 (40 %) gegenüber 12 von 23 (52 %) der Patienten nicht signifikant seltener Erreger in Blutkulturen. Die Inzidenz von pulmonalen Infiltraten war mit 18 gegenüber 17 % der Patienten gleich und eine intravenöse Antibiotikatherapie benötigten beide Patientengruppen im Median über 18 Tage. Auch das CRP-Maximum lag im Median mit 22 gegenüber 20 mg / dl im gleichen Bereich.

Die Diskrepanz zur Studie von Martin-Algarra S. et al ist schwer zu erklären, da der Anstieg der Granulozytenzahlen hier im Median gleich schnell erfolgte, wie in unserem Kollektiv. Die Daten dieser Studie waren jedoch retrospektiv und nicht randomisiert.

Einen Einfluss der Anzahl der kernhaltigen Zellen, die die transplantierten Knochenmarkpräparate enthielten, auf die Inzidenz schwerer infektionsbedingter Komplikationen konnten wir nicht nachweisen. Patienten, die mindestens die mediane Anzahl kernhaltiger Knochenmarkzellen erhielten, litten im Vergleich zu den Patienten, die weniger erhielten, nicht signifikant seltener an Infektionen vom WHO-Grad 3 und 4 (7 vs 9 Patienten, $p = ns$) und Fieber vom WHO-Grad 3 und 4 (2 vs 1 Patient, $p = ns$). Pulmonalen Infiltrate (6 vs 5 Patienten, $p = ns$) und positive Blutkulturen (13 vs 11 Patienten, $p = ns$) wurden bei ihnen ebenfalls nicht signifikant seltener gefunden. Eventuell erlitten sie weniger Tage mit Temperaturen von über 38 ° Celsius (8 vs 11 Tage, $p = 0.097$)

4.1.4 Einfluss von G-CSF nach allogener KMT auf die Dauer der stationären Therapie nach Transplantation

Die Patienten der hier vorgestellten Studie mußten im Median 45 vs. 47 Tage stationär nachbehandelt werden (Therapiearm versus Kontrollarm). Es ergab sich kein signifikanter Vorteil für die mit G-CSF behandelten Patienten. Frühere Veröffentlichungen geben stationäre Behandlungszeiten im Median zwischen 28 und 36 Tagen an. In der randomisierten Studie von Blaise D. et al 1989 wurden unter den allogenen transplantierten Patienten sowohl die mit G-CSF behandelten Patienten als auch die Patienten des Kontrollarmes im Median 28 Tage stationär nachbehandelt. Bei Martin-Algarra S. et 1995 konnten die mit G-CSF behandelten Patienten gegenüber der historischen Vergleichsgruppe um im Median 6 Tage früher entlassen werden. (33 vs. 39, $p < 0,001$). Bei Locatelli F. et al 1995 konnten die mit G-CSF behandelten Kinder um 8 Tage früher entlassen werden als die zuvor ohne G-CSF therapierten (28 vs. 36, $p < 0,01$). Ein signifikanter Vorteil für die mit G-CSF behandelten Patienten zeigte sich also nur in den retrospektiven Studien. Eine mögliche Erklärung für diese Diskrepanz könnte sein, dass in den retrospektiven Studien andere Verbesserungen in der supportiven Therapie im Laufe der Zeit eine Verkürzung der stationären Behandlungsdauer ermöglichten.

Tabelle 4.1.6: Dauer der stationären Therapie

KMT + G-CSF vs KMT	
	Dauer stationär [Tage]
Blaise D. et al 1992	28 vs 28
Martin-Algarra S. et al 1994	33 vs 39 !
Locatelli F et al 1995	28 vs 36 #
Eigenes Kollektiv	45 vs 47

+ = $p < 0,05$, # = $p < 0,01$, ! = $p < 0,001$, , [Tage] = Mediane Dauer in Tagen,

4.1.5 Einfluss von G-CSF nach allogener KMT auf die Inzidenz und Ausprägung von akuten und chronischen GvHDs

Tabelle 4.1.7 fasst die Ergebnisse der bisher veröffentlichten Studien sowie der Düsseldorfer Ergebnisse zum Thema akute und chronische GvHD zusammen.

In unserem Kollektiv zeigte sich kein signifikanter Einfluss von G-CSF auf die Ausprägung einer akuten oder chronischen GvHD (siehe Tabelle 4.1.7). Die Patienten der Therapiegruppe erhielten jedoch mit 9 Monaten signifikant länger eine GvHD-Prophylaxe mit Cyclosporin A als die Patienten der Kontrollgruppe, die eine GvHD-Prophylaxe mit CsA über 6,2 Monate benötigten ($p = 0,018$). Einzig Locatelli et al fanden 1995 bei den von ihnen transplantierten Kindern eine geringere Inzidenz der GvHD für die mit G-CSF behandelten Kinder. Nur 5 % erlitten eine chronische GvHD gegenüber 27 % der Kinder der historischen Kontrollgruppe ($p < 0,05$). Dies kann jedoch wiederum durch den retrospektiven Charakter dieser Studie bedingt sein.

Ein Einfluss der Anzahl der kernhaltigen Zellen, die die KMSZ-Präparate enthielten, auf die Inzidenz schwerer akuter (\geq Grad III) und chronischer GvHDs (extensive) konnte in unserem Kollektiv nicht nachgewiesen werden (s. Abschnitt 3.5.4).

Tabelle 4.1.7: Graft versus Host Disease

	GvHD Prophylaxe	akute GvHD ²⁾		chronische GvHD	
		\geq II° [%] ¹⁾	\geq III° [%] ¹⁾	limited [%] ¹⁾	extensive [%] ¹⁾
Masaoka T. et al 1989	unterschiedlich	40	12	na	na
Schriber R et al 1994 ³⁾	CsA + MP	8 vs 9	na	na	na
	CsA + MTX	11 vs 21			
Martin-Algarra S. et al 1994	CsA und MTX	56 vs 39	0 vs 6	na	na
Locatelli F et al 1995	CsA	na	5 vs 10	5 vs 27 +	na
Eigenes Kollektiv	CsA und MTX	59 vs 52	10 vs 14	53 vs 32	27 vs 16

¹⁾ = Therapiegruppe KMT + G-CSF vs Kontrollgruppe, ²⁾ Schweregrad nach WHO, ³⁾ Patienten ohne und mit MTX getrennt, [%] = Prozent der Patienten der Gruppe, **MP** = Methylprednisolon, **na** = nicht angegeben, + = $p < 0,05$, # = $p < 0,01$, ! = $p < 0,001$

4.1.6 Einfluss von G-CSF nach allogener KMT auf die Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeiten

In Tabelle 4.1.8 sind die Ergebnisse der bisher erschienen Studien zum Thema HLA-identische allogene Geschwisterspende bezüglich der Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeiten zusammengefasst. Es zeigten sich keine Vorteile im Gesamtüberleben (Schriber R. et al 1994, Martin-Algarra S. et al 1994), für das rezidivfreie Überleben (DFS = disease free survival) (Locatelli F. et al 1995), in der Rezidivwahrscheinlichkeit (Schriber R. et al 1994, Martin-Algarra S. et al 1994, Locatelli F. et al 1995) oder in der transplantationsbedingten Mortalität (TRM = transplantation related mortality) (Locatelli F. et al 1995) für mit G-CSF therapierte Patienten in den ersten 100 Tagen.

Die Anzahl der kernhaltigen Zellen, die den Patienten zur KMT übertragen wurden, zeigte in unserem Kollektiv keinen Einfluss auf die Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeit (siehe Abschnitt 3.5.3).

Tabelle 4.1.8: Überleben und Rezidive

	Gesamt- überleben [%] ¹⁾	DFS [%] ¹⁾	Rezidiv- wahrschein- lichkeit [%] ¹⁾	TRM [%] ¹⁾	Zeitpunkt nach KMT
Blaise D. et al 1992	na	na	na	na	na
Scriber R et al 1994 ²⁾	84 vs 64 65 vs 59	na	8 vs 13 6 vs 12	na	Tag 100
Martin-Algarra S. et al 1994	81 vs 74	na	ns	na	Tag 100
Locatelli F et al 1995	na	95 vs 90	5 vs 3	0 vs 7	Tag 100
Eigenes	81,8 vs 78,3	77,3 vs 73,9	5,6 vs 9,6	18,2 vs 17,8	Tag 100
Kollektiv	40,9 vs 65,2	36,4 vs. 60,9	41,6 vs 20,6	36,9 vs.22,7	2 Jahre

DFS = Disease-free survival, **TRM** = Transplantation related mortality,

¹⁾ Therapiegruppe KMT + G-CSF vs Kontrollgruppe KMT, ²⁾ Patienten ohne und mit MTX getrennt,
na = nicht angegeben, + = p < 0,05, # = p < 0,01, ! = p < 0,001

4.2 Periphere Blutstammzellen zur allogenen Stammzelltransplantation von HLA-identischen Geschwisterspendern

4.2.1 Stammzell-Mobilisierung zur allogenen PBSZ-T

Das CD34-Oberflächenantigen reicht allein nicht zur Charakterisierung von pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen aus. Pluripotente Stammzellen exprimieren zusätzlich das Thy-1 Oberflächenantigen und weisen keine linienspezifischen Oberflächenantigene auf (Bender JG et al 1991). Sie besitzen also weder Antigenmarker, die eine myeloide Differenzierung anzeigen, wie CD-13 und CD-33, noch B-lymphozytäre Marker wie CD10 und CD19, noch T-Zellmarker wie CD3, 4, und 8, noch aktivitäts-assoziierte Marker wie HLA-DR, CD38 und CD71 (Boogaerts MA et al 1994). Die Konzentration an CD34+Zellen beträgt im nicht stimulierten peripheren Blut etwa 0,1 % der kernhaltigen Zellen. Die Zahl der Stammzellen ist ungefähr 10- bis 100-fach geringer als im Knochenmark. (McCarthy D et al 1984, Kessinger A. et al 1990, To-LB et al 1994). Eine zur allogenen Transplantation ausreichende Anzahl CD34+Zellen läßt sich aus dem nicht stimulierten peripheren Blut nur durch eine unter klinischen Bedingungen nicht zu realisierende Vielzahl von Apheresezyklen erreichen (Median 10 (6-17), Kessinger A et al 1991, Gillespy-TW und Hillyer-CD 1996).

Im mit G-CSF stimulierten peripheren Blut finden sich 1,7-fach mehr CD34+Zellen als im Knochenmark (Haas R et al 1995). Nach Stimulation mit G-CSF werden bei gesunden Spendern in der Regel nur 1 bis 2 Apheresezyklen benötigt, um eine ausreichende Anzahl von CD34+Zellen zu gewinnen.

Der Mechanismus der Mobilisation der Stammzellen ist nicht endgültig geklärt. Obwohl G-CSF allein keinen stimulierenden Einfluss auf die Proliferation pluripotenter Stammzellen hat (Dexter TM et al 1993), die Mehrzahl der mit G-CSF mobilisierten Stammzellen myeloid vorgeprägt ist (CD-13 und CD-33-positiv) (Tjonnfjord GE et al 1994) und der Anteil der CD34+Zellen, die B-Zellantigene (CD 10 und CD-19) coexprimieren, erniedrigt ist (Leitner A et al 1996), sind die durch G-CSF mobilisierten peripheren Blutstammzellen in der Lage, eine komplette Regeneration aller Zellreihen, also auch der lymphozytären, herbeizuführen (Bensinger WI et al 1993, Schmitz N et al 1993 und Körbling M et al 1995). Der Anteil von CD34+Zellen, die keine linienspezifischen Antigene aufwiesen, steigt nach G-CSF-Gabe im peripheren Blut stark an und erreicht Konzentrationen wie im Knochenmark (Körbling M et al 1995). Auch sogenannte Langzeitkolonien-inizierende Zellen (long-term-culture-initiating cells, LTC-IC) finden sich im mit G-CSF stimulierten peripheren Blut in erhöhtem Maße (Prosper F 1996, Fujisaki T et al 1995). Eine mögliche Erklärung für die Mobilisation auch nicht myeloid geprägter Stammzellen mittels G-CSF könnte sein, dass G-CSF nicht die Proliferation dieser Zellen anregt, sondern zur Downregulation von Adhäsionsmolekülen auf deren Oberfläche führt (Sheridan WP et al 1994). Das Adhäsionsmolekül VLA-4-Integrin findet sich zum Beispiel auf den peripheren Stammzellen in niedrigerem Maße als auf Knochenmarkstammzellen (Papayanopoulou T et al 1993).

Die Mobilisierung unterliegt interindividuellen Schwankungen. Das Alter spielt möglicherweise eine Rolle. Mit zunehmendem Alter lassen sich bei gleicher G-CSF-Dosis weniger Stammzellen mobilisieren (Dreger P et al 1996, Chatta GS et al 1994). Die Ausbeute soll bei Frauen schlechter sein als bei Männern (Miflin G et al 1996). Es gibt jedoch auch Studien, die keinen Einfluss von Alter und Geschlecht nachweisen konnten (Grigg AP et al 1990, Bishop MR et al 1997). Mit G-CSF-Dosen von 5 µg / kgKG lassen sich signifikant mehr CD34+Stammzellen mobilisieren als mit 2 µg / kgKG (Suzue T et al 1994, Stroncek DF et al 1996) und mit Dosen über 10 µg / kgKG signifikant mehr als mit Dosen unter 10 µg/ kgKG (Dreger P et al 1994, Harada M et al 1996, Stroncek FD et al 1996). Mit Dosen von 12-16 µg pro kgKG lassen sich noch mehr Stammzellen mobilisieren, jedoch nehmen auch die Nebenwirkungen für den Spender in diesem Bereich zu (Stroncek DF et al 1996). Die Konzentration an CD34+Zellen beginnt am dritten Tag der G-CSF-Gabe zu steigen und erreicht am fünften bis sechsten Tag ihr Maximum (Tjonnfjord GE et al 1994, Körbling M et al 1995). Auch bei Fortführung der G-CSF-Gaben über den Tag 7 hinaus kommt es zum Abfall der Zahl der CD34+Zellen im peripheren Blut (Grigg AP et al 1995, Stroncek et al 1996). Mit einer Apherese am Tag 5 der G-CSF-Gabe läßt sich eine signifikant höhere Anzahl an CD34+Zellen gewinnen als mit

einer Apherese am Tag 4 (Anderlini P et al 1996). Die Apherese sollte frühestens 2 Stunden nach der letzten G-CSF-Gabe erfolgen, da zu diesem Zeitpunkt die maximale Anzahl von CFU-GM-Kolonien gewonnen werden konnte (Sato N et al 1994).

G-CSF wird überwiegend in einer einzigen Tagesdosis subkutan appliziert. Ob eine Aufteilung in zwei Einzeldosen täglich, wie es zum Beispiel bei Körbling et al 1995 mit $2 \times 6 \mu\text{g} / \text{kgKG}$ praktiziert wurde, einen Vorteil bringt, wird unterschiedlich beurteilt. Eine Aufteilung von $10 \mu\text{g} / \text{kgKG}$ in zwei Einzeldosen ergab in einer Vergleichsstudie bei 6 Spendern keinen signifikanten Vorteil gegenüber 6 Spendern, die die gleiche Dosis als Einmalgabe erhielten (Schmitz N et al 1996). $2 \times 10 \mu\text{g} / \text{kgKG}$ sind effektiver als $1 \times 10 \mu\text{g} / \text{kgKG}$ pro Tag (Waller CF et al 1996).

Die Untersuchungen zur Gabe von G-CSF an Granulozytenspender (Bensinger WI et al 1993), Spender peripherer Stammzellen (Dreger P et al 199, Lane et al 1995) und Freiwillige ergab bisher keinerlei Spätfolgen für gesunde Individuen. Insbesondere Befürchtungen, G-CSF könnte latente Leukämien bei Spendern aktivieren oder gar de novo Entartungen auslösen, bestätigten sich bis jetzt nicht. Die Nachbeobachtungszeit ist jedoch in allen Fällen noch nicht lang genug, um diese sicher auszuschließen (Dreger P et al 1996). Nachuntersuchungen des Knochenmarkes bei 24 Spendern waren nach 5 Jahren morphologisch und zytogenetisch völlig unauffällig (Sakamaki S et al 1995). Beachtenswert ist außerdem, dass stark erhöhte G-CSF-Spiegel auch unter physiologischen Bedingungen während schwerer Infektionen auftreten (Teshima T und Harada M et al 1997).

Gesichert ist, dass die Prozedur zur Stammzellgewinnung bei den Spendern zum Absinken der Thrombozytenzahlen um etwa 50 Prozent führt. Dieser Effekt wird sowohl G-CSF als auch der Leukapherese zugeschrieben. Es wurden dabei Thrombozytopenien von bis zu $33 \times 10^3 / \mu\text{l}$ bei gesunden Spendern registriert (Dreger P et al 1994, Miller LL et al 1994, Bensinger WI et al 1996). Die Ursache dieses Absinkens der Thrombozytenzahlen ist nicht geklärt. Vermutet werden zum Beispiel ein direkter hemmender Effekt von höheren G-CSF-Dosen auf die Thrombozytopoese oder ein hemmender Effekt durch die gesteigerte Granulozytopoese (Dreger et al 1996, Harada M et al 1996). Von Söhngen D et al (1998) wurden Untersuchungen zur Wirkung von G-CSF auf die Thrombozytenfunktion und die Blutgerinnung durchgeführt. Im in vitro Blutungstest (IVBT), als ein Maß für die Plättchenfunktion, fand sich am Tag 4 nach Beginn der G-CSF-Gabe zur Stammzellmobilisation eine signifikant verkürzte Blutungszeit. Fibrinogen und Faktor VIII waren zur gleichen Zeit erhöht und Protein C und S erniedrigt. Diese Veränderungen waren recht gering, könnten jedoch zu einer erhöhten Gerinnungsneigung führen. Auch dies könnte den Abfall der Thrombozyten im Sinne eines erhöhten Umsatzes erklären. Mit dem transkraniellen Doppler wurde gleichzeitig nach Mikroembolien bei den Spendern gesucht, die sich jedoch nicht fanden.

In einigen Fällen wurden bei extrem stark erhöhten Leukozytenzahlen auf bis über $50\,000 / \mu\text{l}$ Dosisreduktionen von G-CSF vorgenommen (Waller CF et al 1996, Stroncek DF et al 1996, Anderlini P et al 1996). Einige wenige ernste Zwischenfälle während der Gewinnung peripherer Stammzellen wurden inzwischen beschrieben. Ein Patient erlitt einen Myokardinfarkt kurz nach der Leukapherese und 2 weitere Patienten hatten Angina Pectoris-ähnliche Symptome (Bensinger WI et al 1996, Dreger P et al 1996). Daneben gibt es auch einen Bericht über eine spontane Milzruptur nach G-CSF bei einem gesunden Spender. Bei einer Tagesdosis von $16 \mu\text{g} / \text{kgKG}$ traten am Tag 5 der G-CSF-Gabe Schmerzen unter dem linken Rippenbogen auf. Im Ultraschall fand sich eine vergrößerte Milz ohne auffälliges Echomuster. Nach der 3. Apherese wurden die Schmerzen unerträglich und zogen bis in die linke Schulter. Blutdruck- und Hb-Abfall kamen hinzu. Im MRT zeigte sich die Ruptur der Milzkapsel, so dass eine Notsplenektomie notwendig wurde (Falzetti F et al 1999).

Die Inzidenz von lebensbedrohlichen Ereignissen während der Knochenmarkgewinnung in Vollnarkose wird mit 0,4 % angegeben (Buckner CD et al 1994). Auch Knochen- und Weichteilverletzungen sind recht häufig (Stroncek DF et al 1993). Das Risiko der Gewinnung von peripheren Stammzellen scheint demgegenüber geringer zu sein, solange schwerwiegende Spätfolgen weiterhin ausbleiben.

Eine Vielzahl von Studien verglichen die Effektivität verschiedener alternativer Mobilisierungsstrategien. So gibt es zum Beispiel experimentelle Hinweise, dass eine Kombination von IL-3 (Multi-SCF) und SCF eher alle drei Stammzelllinien anregt als G-CSF alleine (Shpall EJ et al 1994, Williams N et al 1992). Weitere Alternativen sind eine Kombination aus IL-3 und GM-CSF oder SCF und G-CSF (Champlin RE et al 1996) sowie eine sequentielle Gabe von IL-3 und G-CSF.

Kanz et al 1994 haben die relative Effektivität verschiedener Wachstumsfaktoren und deren Kombination studiert. Die maximale Mobilisation gelang dabei durch eine Kombination aus IL-3 und GM-CSF. PIXY 321, ein Fusionsprotein dieser beiden Wachstumsfaktoren, ist in klinischer Erprobung. In präklinischen Studien werden zum Beispiel auch monoklonale Antikörper gegen Adhäsionsmoleküle (Anti-VLA-4-Integrin) zur Mobilisation von Stammzellen getestet (Champlin RE et al 1996).

Auch eine ex-vivo-Expansion von peripheren Stammzellen zur Erhöhung der Anzahl von pluripotenten sowie myeloid oder megakaryozytär determinierter Stammzellen wird untersucht. Dies wird bisher überwiegend bei der autologen Transplantation praktiziert. (Kamble R et al 1997).

4.2.2 Diskussion zum Einfluss der CD34+Zellzahl in den PBSZ-Präparaten auf die hämatopoetische Regeneration und den klinischen Verlauf nach allogener PBSZ-T

Die G-CSF-Dosen, die den Spendern zur Mobilisierung der hämatopoetischen Stammzellen in den bisherigen Studien zum Vergleich der allogenen PBSZ-T mit der allogenen KMT (siehe Abschnitt 4.2.3) verabreicht wurden, betragen zwischen 4,5 und 24 µg G-CSF pro Kilogramm Körpergewicht des Spenders. Sie wurden über 2 bis 6 Tage verabreicht. Die Anzahl der Leukapheresen, die zur Asservierung der peripheren Blutstammzellen notwendig waren, lag zwischen einer und vier. Damit wurden mediane Ausbeuten von CD34+Zellen zwischen 5,1 und 12,3 x 10⁶ pro Kilogramm Körpergewicht des Patienten erreicht. An der Düsseldorfer Universitätsklinik wurden die Spender mit 12,5 µg pro kgKG über 5 bis maximal 9 Tage stimuliert. Die Apheresen wurden ab Tag 4 an maximal 5 aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt. Damit wurde eine mediane Anzahl von 5,3 (Bereich 0,39-13,5) x 10⁶ CD34+Zellen und 10,8 (Bereich 4,4-27,1) x 10⁸ kernhaltigen Zellen insgesamt pro Kilogramm Körpergewicht des Patienten erreicht. Die Anzahl der kernhaltigen Zellen insgesamt war damit signifikant höher als in den Knochenmarkstammzellpräparaten, die den mit Knochenmark transplantierten Patienten unserer G-CSF-Studie übertragen wurde (Gruppe KMT: 6,3 x 10⁸ / kgKG, p < 0,001 gegenüber Grp. PBSZ-T, Gruppe KMT+G-CSF 5,0 x 10⁸ / kgKG, p < 0,001 gegenüber Grp. PBSZ-T).

Die zu fordernde Mindestanzahl an CD34+Zellen pro Kilogramm Körpergewicht des Empfängers wird unterschiedlich beurteilt. Als untere anzustrebende Zellzahl zur Transplantation gelten bei der autologen Stammzelltransplantation allgemein etwa 2 x 10⁶ CD34+Zellen (Anderson KC et al 1995, Bender JG et al 1992), 6-7 x 10⁸ MNC (Kessinger A et al 1991) oder 15-50 x 10⁴ CFU-GM Kolonien (To LB et al 1990) pro kg Körpergewicht des Empfängers.

Bei der allogenen Transplantation werden möglicherweise höhere CD34+Zellzahlen benötigt. Dies gilt insbesondere dann, wenn zur GvHD-Prophylaxe MTX verabreicht wird (Teshima T und Harada M 1997). Verschiedene Arbeitsgruppen fordern zwischen 4 und 5 x 10⁶ CD34+Zellen / kgKG des Patienten (Körbling M et al 1995, Bensinger WI et al 1996, Dreger P et al 1996). Möglich sind erfolgreiche Transplantationen auch bei Zellzahlen, die unter 2 x 10⁶ / kgKG liegen. Die Therapieergebnisse der Transplantation sind dann jedoch wesentlich schlechter. Mavroudis D et al veröffentlichten 1996 die Ergebnisse von 28 Patienten, die eine allogene PBSC-T ihrer HLA-identischen Geschwisterspender mit T-Zell-Depletion und verzögerter Spenderlymphozyten-Transfusion erhielten. Hier hatten die 13 Patienten, die weniger als 1 x 10⁶ CD34+Zellen erhielten, im Vergleich zu den Patienten, die mehr als 2 x 10⁶ erhielten, eine signifikant höhere transplantationsbedingte Mortalität (64,9 vs 6,9 %, p < 0,01) und ein signifikant geringeres Gesamtüberleben (30,8 vs 74,3 %, p < 0,001) im ersten Jahr. Thrombozytenkonzentrate erhielten sie im Median 5 Wochen länger (8 vs 3 Wochen, p < 0,05). Im Düsseldorfer Patientengut erreichten diejenigen Patienten, die mehr als die mediane Anzahl von 5,3 x 10⁶ CD34+Zellen / kgKG bei PBSZ-T erhielten, 4 Tage eher 500 Granulozyten pro µl Blut (Median 16 versus 20 Tage, p = 0,002) als die Patienten, die weniger erhielten. Verschiedene andere Studien fanden keinen Zusammenhang zwischen der Anzahl CD34+Zellen und der Regeneration Granulozytopoese (Körbling M et al 1995 und Rosenfeld C et al 1996). Erhöhte Zahlen kernhaltiger Zellen im Präparat der PBSZ gingen in unserem Kollektiv nicht mit einem beschleunigten Wiederanstieg der Granulozytenzahlen einher. Mit 20 (18-22) versus 17 (14-20) Tagen war die Dauer der Agranulozytose bei Patienten, die mindestens die mediane Anzahl von 10,8 x 10⁸ kernhaltigen Zellen pro kgKG erhielten, gegenüber denjenigen Patienten, die weniger Zellen erhielten, sogar noch verlängert (p = 0,019). Ein Einfluss der Anzahl der

CD34+Zellzahl oder der Anzahl der kernhaltigen Zellen in den peripheren Blutstammzellpräparaten auf die Regeneration der Erythrozyto- und Megakaryozytopoese sowie auf die Inzidenz von akuten GvHDs vom Schweregrad III und IV, die Inzidenz von chronischen GvHDs vom Grad extensive sowie auf die Inzidenz schwerer infektiöser Komplikationen, wie Infektionen vom Schweregrad III und IV nach WHO, Fieber vom Schweregrad III und IV nach WHO, pulmonale Infiltrate und Erregernachweis in den Blutkulturen war nicht nachzuweisen.

Einzig die Dauer der GvHD-Prophylaxe mit Cyclosporin A wurde in unserem Kollektiv von der Anzahl der CD34+Zellen und der Anzahl der kernhaltigen Zellen signifikant beeinflusst. Patienten, die mehr als die mediane Anzahl an CD34+Zellen erhielten, benötigten in unserem Kollektiv die GvHD-Prophylaxe mit Cyclosporin A nach der Transplantation mit 9 Monaten nur halb so lange wie die Patienten, die weniger als die Mediane Anzahl CD34+Zellen erhielten (9 vs 18 Monate, $p = 0,019$). Patienten, die mehr als die mediane Anzahl kernhaltiger Zellen erhielten, benötigten hingegen die GvHD-Prophylaxe mit CsA im Median über 10 Monate länger als Patienten, die weniger als die mediane Anzahl kernhaltiger Zellen erhielten. In unserem Kollektiv konnte zwar weder ein Einfluss der CD34+Zellzahl noch der Anzahl kernhaltiger Zellen auf die Häufigkeit von akuten oder chronischen GvHDs nachgewiesen werden. Setzt man jedoch voraus, dass die Dauer der CsA-Prophylaxe dennoch ein Hinweis auf ein vermehrtes Auftreten oder eine längere Dauer von chronischer GvHDs darstellt, so liegt der Schluß nahe, dass ein erhöhter Anteil von Zellen, die nicht das CD34 Oberflächenantigen tragen, im Präparat der peripheren Blutstammzellen zu einer erhöhten Inzidenz, Ausprägung oder Dauer von chronischen GvHDs führen kann. Urbano-Ispizua C et al veröffentlichten 1997 die Ergebnisse ihrer prospektiv randomisierten Studie zum Einsatz CD34-selektierter PBSZ im Vergleich zu unmanipulierten PBSZ in der allogenen SZT. Bei einem medianen Nachbeobachtungszeitraum von 7,5 und 7,8 Monaten hatte keiner der 20 Patienten, die CD34-selektionierte PBSZ erhielten, eine akute GvHD vom Grad II-IV und von 16 auswertbaren Patienten keiner eine chronische GvHD vom Grad extensive entwickelt. Demgegenüber erlitten 4 von 18 Patienten, die unmanipulierte PBSZ erhielten, eine aGvHD vom Grad II-IV ($p = 0,04$) und 5 von 14 eine cGvHD vom Grad extensive ($p = 0,005$). Größere prospektiv randomisierte Studien mit längerer Nachbeobachtungszeit zum Vergleich der allogenen Transplantation unmanipulierter PBSZ versus CD34+selektionierter PBSZ im Hinblick auf die GvHD-Inzidenz, den Graft-versus-Leukemia Effekt und damit die Rezidivwahrscheinlichkeit sowie weitere klinisch relevante Parameter sind abzuwarten bzw. sollten initiiert werden.

4.2.3 Studien zum Vergleich der hämatopoetischen Regeneration und dem klinischen Verlauf nach allogener PBSZ-T im Vergleich zur allogenen KMT

Bisher sind 12 retrospektive (Azevedo WM et al 1995, Bensinger WI et al 1996, Russell JA et al 1996, Povletic ZS et al 1997, Przepiorka D et al 1997, Brown RA et al 1997, Scott MA et al 1998, Vigorito AC et al 1998, Lemoli RM et al 1998, Bacigalupo A et al 1998, Russell JA et al 1999 und Champlin RE et al 2000) und 3 prospektiv randomisierte (Schmitz N et al 1998, Blaise D et al 2000, Powels R et al 2000) Studien veröffentlicht worden, die die Verwendung unmanipulierter peripherer Blutstammzellen im Vergleich zu Knochenmarkstammzellen in der allogenen hämatopoetischen Stammzelltransplantation von HLA-identischen Geschwisterspendern verglichen haben. Zum Vergleich sind die Ergebnisse der in dieser Arbeit vorgestellten retrospektiven Studie den bisherigen Veröffentlichungen in den Tabellen 4.2.1 und 4.2.2 gegenübergestellt. Die überwiegende Zahl der Spender in den hier aufgenommenen Veröffentlichungen waren HLA-identische Geschwister. Nur in Einzelfällen wurde auf andere Familienspenden - auch mit einzelnen Mismatches - zurückgegriffen. Studien, die gezielt Transplantationen von alternativen Spendern untersuchten, wurden nicht berücksichtigt. Ebenso wurde auf die Aufführung von Studien mit geringen Fallzahlen (<10 Patienten pro Gruppe) verzichtet.

4.2.4 Einfluss von PBSZ zur allogenen SZT auf das Engraftment und den Bedarf an Transfusionen

Die CD34+Zellzahlen waren in allen Veröffentlichungen, in denen sie für die PBSZ-T und die KMT angegeben wurden, im Median in den Präparaten der PBSZ höher als in den KMSZ-Präparaten. Die

Medianwerte lagen in den PBSZ-Präparaten zwischen $3,7$ und $12,3 \times 10^6 / \mu\text{l}$ und für die KMSZ-Präparate zwischen $1,5$ und $5,2 \times 10^6 / \mu\text{l}$.

Tabelle 4.2.1: Übersicht bisheriger Studien zur Transplantation allogener peripherer Blutstammzellen im Vergleich zur Knochenmarktransplantation

Teil 1: Studiendesign, Konditionierung, GvHD-Prophylaxe, CD34+Zellen und Dauer der initialen stationären Therapie

Literatur- angabe	Studien- design	Anzahl Patienten	Konditio- nierungs- protokoll	GvHD- Prophylaxe	CD34+ Zellen [$\times 10^6$ /kgKG]	Nach- beobach- tung med [Mo]	Dauer der initialen stationären Therapie [d]
1. Azevedo WM et al 1995	r	17 vs 21	HDC	CsA+MTX	na	(gesamt 117d)	na
2. Bensinger WI et al 1996	r	37 vs 37	HDC +/- TBI	CsA+MTX / CsA+MP	12,3 vs na	9 vs 27	na
3. Russell JA. Et al 1996	r	26 vs 26	HDC +/- TBI	CsA+MTX	5,1 vs na	na	21 vs 25 +
4. Povletic ZS. Et al 1997	r	22 vs 21	HDC+TBI	CsA+MTX	7,7 vs 2,0	na	25 vs 31 +
5. Przepiorka D et al 1997	r	25 vs 19	HDC	CsA+MP	na	36 vs 9	15 vs 19 #
6. Brown RA et al 1997	r	50 vs 172	HDC +/- TBI	CsA +MP	na	na	na
7. Scott MA et al 1998	r	12 vs 12	na	CsA+MTX	8,7 vs 5,2	16 vs 47	36 vs 36
8. Vigorito AC et al 1998	r	20 vs 20	HDC	CsA+MTX	4,7 vs 5,3	11 vs 21	21 vs 26
9. Lemoli RM et al 1998 ¹⁾	r	15 vs 15	HDC +/- TBI	CsA+MTX	7,4 vs -	10 vs 32	28 vs 35
10. Bacigalupo A. et al 1998	r	45 vs 52	HDC +/- TBI	CSA+MTX	na	15 vs 19	40 vs 45
11. Schmitz N et al 1998	pr, mz	36 vs 34	HDC+TBI	CSA+MTX	6,7 vs 4	13 vs 13	na
12. Russel JA et al 1999 ¹⁾	r g p	15 vs 22 26 vs 25	HDC +/- TBI	CsA+MTX	na	gesamt 34	na
13. Blaise D et al 2000	pr, mz	48 vs 52	HDC +/- TBI	CsA+MTX	6,6 vs 2,4	22 vs 20	35 vs 40 +
14. Powels R et al 2000	pr, db	20 vs 19	HDC +/- TBI	CsA+MTX	3,7 vs 1,5	gesamt 33	26 vs 31 +
15. Champlin RE et al 2000	r, mz	288 vs 536	HDC +/- TBI	CsA/MTX/ MP/FK506	na	gesamt 12	23 vs 28 !
16. Eigenes Kollektiv	r	29 vs 23	HDC +/- TBI	CsA+MTX	5,3 vs na	11 vs 47 !	41 vs 47

¹⁾ Patienten getrennt nach Risikogruppen untersucht: **g** = „good-risk“ = AML in 1.CR, **p** = „poor risk“ = AML in 2.CR und MDS, **r** = retrospektiv, **pr** = prospektiv randomisiert, **mz** = multizentrisch, **HDC** = Hochdosischemotherapie, **TBI** = Ganzkörperbestrahlung, **na** = nicht angegeben, **CsA** = Cyclosporin A, **MTX** = Methotrexat, **MP** = Methylprednisolon, **PB** = PBSZ-T, **KM** = KMT

Teil 2: Hämatopoetische Regeneration und Graft versus Host Disease

	Granulo- zyten > 500 / μ l Med [d]	Thrombo- zyten $20 \times 10^3/\mu$ l Med [d]	Anzahl TK pro Patient Med	Anzahl EK pro Patient Med	aGvHD \geq II° %	\geq III° %	cGvHD gesamt %	extensive %
	PB vs KM	PB vs KM	PB vs KM	PB vs KM	PB vs KM	PB vs KM	PB vs KM	PB vs KM
1.	14 vs 22	14 vs 22 ($>30 \times 10^3$)	5,5 vs 8 +	9,5 vs 9	na	24 vs 14	na	na
2.	16 vs 17 !	11 vs 15 !	24 vs 118 !	8 vs 17 !	37 vs 56	14 vs 33+	41 vs 26	na
3.	16 vs 21 !	14 vs 20,5	3 vs 5 +	2 vs 4	21 vs 37	na	49 vs 53	na
4.	11 vs 15	13 vs 24 +	10 vs 19	6 vs 10	57 vs 45	na	na	na
5.	10 vs 9	14 vs 19	74 vs 142 +	10 vs 22	66 vs 49	33 vs 13	na	na
6.	9 vs na	11 vs na	na	na	35 vs 44	na	72 vs 51	na
7.	12 vs 14	21 vs 23	6 vs 9	na	42 vs 42	na	42 vs 8	na
8.	16 vs 18	12 vs 17	13 vs 18	4 vs 5	26 vs 23	na	100 vs 70	100 vs 35
9.	17 vs 19	18 vs 22	4 vs 5	6 vs 6	20 vs 13	7 vs 7	47 vs 34	7 vs 7
10.	14 vs 16 #	15 vs 17 ($>30 \times 10^3$)	na	na	47 vs 58	8 vs 9	na	38 vs 44
11.	14 vs 15	15 vs 19	12 vs 10	na	54 vs 48	21 vs 18	na	na
12.	g 14 vs 19 ! p 16 vs 26 !	12 vs 20 ! 17 vs 22 +	1 vs 5 # 5 vs 11	2 vs 2 4 vs 6	40 vs 14 31 vs 27	10 vs 0 21 vs 10	na na	86 vs 42 # 85 vs 54
13.	15 vs 21 !	13 vs 21 ! ($>30 \times 10^3$)	3 vs 6 #	6 vs 8 #	43 vs 41	17 vs 23	55 vs 30 +	34 vs 8 +
14.	17,5 vs 23 #	11 vs 18 !	na	na	50 vs 47	na	44 vs 40	na
15.	14 vs 19 !	18 vs 25 !	na	na	40 vs 35	13 vs 19	65 vs 53 +	na
16.	15 vs 20	26 vs 28 ($>50 \times 10^3$)	38 vs 68 +	9 vs 13	68 vs 52	37 vs 10	40 vs 32	36 vs 16 #

g = „good-risk“ = AML in 1.CR, **p** = „poor-risk“ = AML in 2.CR und MDS, **PB** = PBSZ-T, **KM** = KMT
na = nicht angegeben, **Med** = Median, **d** = Tage, **%** = Anteil Patienten in Prozent, + = $p < 0,05$, # = $p < 0,01$, ! = $p < 0,001$

Tabelle 4.2.2: Übersicht bisheriger Studien zur Transplantation allogener peripherer Blutstammzellen im Vergleich zur Knochenmarktransplantation

Gesamtüberleben, krankheitsfreies Überleben, Rezidive und transplantationsbedingte Mortalität

Literatur- angabe	Krank- heits- stadium	Nach- beobach- tung med [Mo]	Gesamt- überleben	DFS	Rezidiv- wahrschein- lichkeit	TRM	Zeitpunkt
			cum-%	cum-%	cum-%	cum-%	
		PB vs KM	PB vs KM	PB vs KM	PB vs KM	PB vs KM	
1. Azevedo et al 1995		gesamt 117 d	na	na	na	na	na
2. Bensinger WI et al 1996		9 vs 27	50 vs 41	na	70 vs 53	27 vs 45	200 d
3. Russel JA. Et al 1996		na	na	na	na	na	na
4. Povletic ZS. Et al 1997		na	83 vs 75	na	na	na	100 d
5. Przepiorka D et al 1997		38 vs 9	32 vs 53	na	na	na	na
6. Brown RA et al 1997		na	26vs na	68 vs 32 +	na	na	2 J
7. Scott MA et al 1998		(9-21 vs 21-28)	92 vs na	na	na	na	9-21 Mo
8. Vigorito AC et al 1998		11 vs 21	47 vs 51	58 vs 52	na	na	1000 d
9. Lemoli RM et al 1998 ¹⁾		10 vs 32	100 vs 100	87 vs 87	13 vs 13	0 vs 0	100 d
10. Bacigalupo A. et al 1998		15 vs 19	48 vs 53	na	43 vs 42	20 vs 33	3 J
11. Schmitz N et al 1998		13 vs 13	67 vs 76	na	na	na	1 J
12. Russel JA et al 1999 ²⁾		gesamt 34	na	93 vs 62 + 23 vs 23	7 vs 37 63 vs 54	0 vs 5 24 vs 18	DFS/Rez/ TRM 1/2/4 J
13. Blaise D et al 2000		22 vs 20	67 vs 65	67 vs 66	6 vs 11	na	2 J
14. Powels R et al 2000		gesamt 33	63 vs 70	na	0 vs 37 +	na	2 J
15. Champlin RE et al 2000	AL 1.CR CML CP AL 2.CR CML AP	gesamt 12	na	70 vs 61 63 vs 74 77 vs 54 + 68 vs 32 !	14 vs 11 2 vs 1 8 vs 13 13 vs 21	18 vs 21 37 vs 27 13 vs 30 + 26 vs 67 #	1 J
16. Eigenes Kollektiv		11 vs 47 !	86 vs 78 70 vs 65	82 vs 74 68 vs 61	4 vs 10 10 vs 21	18 vs 18 23 vs 23	100 d 1 J

DFS = disease-free survival, **TRM** = transplantation-related mortality, PB = PBSZ-T, KM = KMT, **na** = nicht angegeben, **Med** = Median, **d** = Tage, **Mo** = Monate, **J** = Jahre **Cum-%** = kumulative Wahrscheinlichkeit in Prozent, + = p < 0,05, # = p < 0,01, ! = p < 0,001

Die Verkürzung der Dauer der Agranulozytose sowie die Beschleunigung der Megakaryopoese durch die Verwendung von PBSZ zur allogenen hämatopoetischen Stammzelltransplantation gegenüber der Transplantation von KMSZ kann als gesichert angesehen werden. Durch den Einsatz von peripheren Stammzellen konnte im Vergleich zur Gabe von Knochenmark der Anstieg der Granulozytenzahlen auf 500 / μl nach den bisherigen Veröffentlichungen um 1 bis 8 Tage beschleunigt werden, der Anstieg der Thrombozytenzahlen auf 20×10^3 / μl um 4-11 Tage. Errechnet man die gewichteten Mittelwerte der Mediane aus den hier vorliegenden Veröffentlichungen und den Ergebnissen der Düsseldorfer Patienten, so ergibt sich, dass die mit peripheren Stammzellen transplantierten Patienten am Tag 14 bzw. 16 Granulozytenzahlen von 500 bzw. Thrombozytenzahlen von 20 000 / μl erreichten und damit 5 bzw. 7 Tage eher als die mit Knochenmark transplantierten Patienten. In der Mehrzahl der Veröffentlichungen, in denen die Anzahl der Thrombozytenkonzentrate und Erythrozytenkonzentrate angegeben ist, benötigten die Patienten, die KMSZ erhielten, im Median mehr Thrombozyten- und Erythrozytenkonzentrate als Patienten, die PBSZ erhielten, wenngleich diese Unterschiede nicht in allen Studien signifikant waren. Unter den prospektiv randomisierten Studien berichtet eine über eine signifikante Einsparung von Thrombozyten- und Erythrozytenkonzentraten durch Verwendung von PBSZ gegenüber KMSZ (Blaise D et al 2000, TK: 3 vs 6, $p < 0,01$, EK: 6 vs 8, $p < 0,01$, $N = 100$) und eine über keinen signifikanten Unterschied im Verbrauch von Thrombozytenkonzentraten (Schmitz N et al 1998, TK 12 vs 10, $p = \text{ns}$, $N = 70$).

Die Abhängigkeit der Dauer der Agranulozytose von der MTX-Gesamtdosis, die zur GvHD-Prophylaxe gegeben wurde, läßt sich auch bei den mit peripheren Stammzellen transplantierten Patienten nachvollziehen. In Studien, in denen die Patienten mehr als 30 mg MTX / m^2 KO erhielten, betrug die Dauer der Agranulozytose im Median 14 bis 19 Tage. In Studien, in denen die Patienten weniger als 30 mg / m^2 KO erhielten, betrug sie im Median hingegen nur 9 bis 14 Tage (siehe Tabelle 4.2.3)

Tabelle 4.2.3: Dauer der Agranulozytose bei Transplantation peripherer Blutstammzellen in Abhängigkeit von der MTX-Gesamtdosis

(Studien nach MTX-Dosis sortiert)

	Gesamtdosis MTX [mg/ m^2 KO]	Tage bis Granulozyten > 500 / μl
Russell JA et al 1996	45	16
Schmitz N et al 1998	45	14
Lemoli RM et al 1998 ¹⁾	45	17
Russell JA et al 1999 ²⁾	45	14 16
Powels T et al 2000	45	17,5
Eigenes Kollektiv	35	19
Blaise D et al 2000	35	15
Bacigalupo A. et al 1998	26	14
Povletic ZS et al 1997	20	11
Przepiorka D et al 1997	0	10
Brown RA et al 1997	0	9

+ = $p < 0,05$, * = $p < 0,01$, ! = $p < 0,001$,

¹⁾ mit $10 \mu\text{g} / \text{m}^2$ G-CSF nach PBSZ-T, ²⁾ getrennt für „good-risk“ und „poor-risk“ Patienten (siehe Tabelle 4.2.1)

Auch die Krankheitsstadien haben - wahrscheinlich über die unterschiedlichen Konditionierungsprotokolle - einen Einfluss auf die Dauer der Agranulozytose. Russell et al untersuchten in ihrer 1999 veröffentlichten Studie 87 Patienten getrennt nach Risikogruppen auf den

Einfluss der Verwendung von PBSZ im Vergleich zu KMSZ zur allogenen hämatopoetischen SZT. Patienten mit AML in 1. kompletter Remission („good-risk“-Gruppe) hatten unabhängig von der Art der Transplantation eine kürzere Agranulozytosedauer als Patienten mit AML in 2. kompletter Remission oder MDS („poor-risk“-Gruppe) (jeweils „good-“ vs „poor-risk“: PBSZ-T: 14 vs 16 Tage, $p = 0,089$, KMT: 19 vs 26 Tage, $p = 0,003$). Grund für die verlängerte Agranulozytosezeit bei Patienten mit Leukämien in fortgeschritteneren Stadien dürfte die intensiviertere Konditionierungstherapie sein. So erhielten Patienten der „poor-risk“-Gruppen bei Russell JA et al 1999 signifikant häufiger eine Konditionierung mit VP16 und eine TBI mit einer Gesamtdosis von 1200 cGy, während Patienten der „good-risk“-Gruppen signifikant häufiger eine Konditionierung mit geringeren Strahlendosen oder eine Konditionierung mit reiner Hochdosischemotherapie erhielten.

4.2.5 Einfluss von PBSZ zur allogenen SZT auf die Inzidenz und Ausprägung von infektionsbedingten Komplikationen

In den vorliegenden Veröffentlichungen wurden kaum vergleichbare Angaben über die Häufigkeit und die Ausprägung von Infektionen gemacht. Lediglich Bacigalupo et al 1998 fanden bei ihren Patienten ein vermehrtes Auftreten von interstitiellen Pneumonien in der Gruppe der mit peripheren Stammzellen transplantierten Patienten (4 versus 0, $p < 0,05$). Drei dieser Patienten waren CMV-Antigen-positiv. Die Anzahl CMV-Antigen-positiver Zellen bei Antigennachweis war in dieser Gruppe signifikant höher ($p = 0,003$) als in der historischen Vergleichsgruppe.

Bei den in Düsseldorf mit allogenen peripheren Stammzellen transplantierten Patienten fanden sich nur in einem Fall pulmonale Infiltrate während des initialen stationären Aufenthaltes, gegenüber 4 Patienten in der historischen Vergleichsgruppe (0 vs. 17 %, $p = 0,035$). Fieber erlitten die Patienten beider Gruppen mit 8 vs 9 Tagen im Median an annähernd gleich vielen Tagen. Schwere Infektionen vom Schweregrad 3 und 4 nach WHO während des stationären Aufenthaltes nach der Transplantation traten bei den mit peripheren Stammzellen transplantierten Patienten in zwei Fällen gegenüber 8 Fällen bei den mit Knochenmark transplantierten Patienten auf (7 vs 30 %, $p = \text{ns}$). Bei keinem der mit peripheren Stammzellen transplantierten Patienten fanden sich Erreger in den Blutkulturen, gegenüber 52 % der Knochenmark transplantierten Patienten ($p < 0,001$). Die Dauer der Therapie mit intravenös verabreichten Antibiotika unterschied sich allerdings in beiden Gruppen nicht (18 vs. 18 Tage).

Ottinger et al veröffentlichten 1996 die Ergebnisse ihrer prospektiven Studie zum Vergleich der Regeneration des Immunsystems nach allogener Transplantation von peripheren Stammzellen ($n = 20$) versus Knochenmark ($n = 20$). Die peripheren Stammzellpräparate enthielten stark erhöhte Anzahlen von T-Zellen insgesamt (CD3^+), von T-Helferzellen ($\text{CD3}^+\text{CD4}^+$) und deren Untergruppen an nicht differenzierten ($\text{CD3}^+\text{CD4}^+\text{CD45RA}^+$), T-Helfer-Gedächtnis-Zellen ($\text{CD3}^+\text{CD4}^+\text{CD45RO}^+$) sowie von T-Suppressorzellen ($\text{CD3}^+\text{CD8}^+$), NK-Zellen ($\text{CD3}^+\text{CD16}^+\text{CD56}^+$), B-Zellen (CD19^+) und Monozyten. Auch noch 11 Monate nach der Transplantation war die Anzahl der T-Helferzellen mit ihren oben genannten Untereinheiten, der B-Zellen sowie die CD 4:8-Ratio signifikant höher als bei den knochenmarktransplantierten Patienten. Kein Unterschied fand sich in den ersten 11 Monaten nach der Transplantation bei den T-Suppressorzellen, bei den NK-Zellen und den Monozyten. Dies könnte eine verbesserte Regeneration des Immunsystems bedeuten. Zusammen mit der beschleunigten Regeneration der Granulozytenzahlen könnte dies die oben beschriebenen Vorteile der mit peripheren Stammzellen transplantierten Patienten in unserem Kollektiv bei den infektionsbedingten Komplikationen erklären.

4.2.6 Einfluss von PBSZ zur allogenen SZT auf die Inzidenz und Ausprägung von Graft versus Host Diseases

In Tabelle 4.2.1 sind im 2. Teil die in den bisher veröffentlichten Studien zum Vergleich der Gabe von PBSZ oder KMSZ in der allogenen SZT angegebenen Häufigkeiten von akuten und chronischen GvHDs aufgeführt. Einzig Bensinger et al (1996) fanden bei ihren mit peripheren Stammzellen transplantierten Patienten eine geringere Inzidenz von schweren akuten GvHDs (\geq Grad III°, 14 vs 33 %, $p < 0,05$). In unserem Kollektiv lag das Verhältnis eher umgekehrt. 3 von 22 mit Knochenmark transplantierten Patienten erlitten eine GvHD vom Schweregrad III und IV. In der Gruppe der mit

peripheren Stammzellen transplantierten Patienten waren es demgegenüber 10 von 27 (14 vs 37 % $p = ns$). In keiner Studie zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Ausprägung oder Inzidenz von akuten GvHDs (siehe Tabelle 4.2.1). Chronische GvHDs kamen in der überwiegenden Zahl der Veröffentlichungen in den Gruppen der Patienten, die PBSZ erhielten, häufiger vor als bei den Patienten, die KMSZ erhielten, wenngleich die Unterschiede selten signifikant waren. In der prospektiv randomisierten Studie von Blaise et al 2000 und im von Champlin RE et al 2000 veröffentlichten, bisher umfangreichsten, retrospektiven Bericht der EBMT (European Bone Marrow Transplantation Group) und des IBMTR (International Bone Marrow Transplant Registry) traten bei den Patienten, die PBSZ erhielten, signifikant häufiger cGvHDs auf (Blaise D et al 2000: 15 vs 4 % der Patienten, $p < 0,05$, Champlin RE et al 2000: 65 vs 53 % der Patienten, $p < 0,05$). Dabei erhielten in der Veröffentlichung von Champlin RE et al (2000) die Patienten, die PBSZ erhielten, jedoch signifikant seltener eine GvHD-Prophylaxe mit MTX (62 vs 42 %, $p < 0,001$). In der Veröffentlichung von Russell JA et al von 1999 erlitten unter den Patienten der „good-risk“-Gruppe (AML in 1. CR) die Patienten, die PBSZ erhielten, signifikant häufiger eine cGvHD vom Grad extensive (86 vs 42 %, $p < 0,01$). Auch bei den „poor-risk“-Patienten (AML in 2. CR oder MDS) erlitten die Patienten, die PBSZ erhielten, mehr cGvHDs vom Grad extensive, der Unterschied war jedoch nicht signifikant. Bei Vigorito AC et al (1998) erlitten 100 % der Patienten, die PBSZ erhielten, eine cGvHD vom Grad extensive gegenüber 35 % der Patienten, die KMSZ erhielten ($p < 0,05$). In unserem Patientenkollektiv fanden sich in der Gruppe der Patienten, die PBSZ erhielten, signifikant mehr Patienten, die eine chronische GvHD vom Grad extensive erlitten (36 vs 16 %, $p = 0,007$). Die mit PBSZ transplantierten Patienten erhielten mit 9,5 gegenüber 6,2 Monaten außerdem signifikant länger eine Immunsuppression mit Cyclosporin A ($p = 0,003$).

Die Leukapheresepreparate des mit G-CSF stimulierten peripheren Blutes enthalten im Vergleich zu Knochenmark ungefähr die zehnfache Anzahl an T-Zellen (Weaver CH et al 1993, Dreger P et al 1994, Körbling M et al 1995). Dies erklärt eventuell eine höhere Inzidenz und Ausprägung von akuten und chronischen GvHDs. Gegen ein vermehrtes Auftreten von GvHDs bei Transplantation von PBSZ im Vergleich zu KMSZ sprechen folgende Überlegungen:

- Unter den T-Zellen im nach Stimulation mit G-CSF gewonnenen Aphereseblut findet sich ein großer Anteil CD3^{pos}4^{neg}8^{neg}-Zellen, denen eine regulatorische Rolle bei der Erkennung des Empfängergewebes durch das Immunsystem des Spenders zukommen soll (Negrin RS et al 1996, Schmidt-Wolf IGH et al 1992)
- Die Vorbehandlung mit G-CSF bei Mäusen, die ihren Artgenossen als Blutstammzellspender dienen, führt zur Polarisation der Spender T-Lymphozyten zur Typ-2-Cytokinproduktion (mehr Interleukin 4 und 10, weniger Tumornekrosefaktor-Alpha und Gamma-Interferon) und zur Reduktion der Schwere von GvHDs bei den Empfängermäusen. Gerade TNF- α wird eine wichtige Rolle in der Auslösung von GvHDs zugesprochen (Pan L et al 1995).
- Es könnte eine Obergrenze für die Anzahl von T-Zellen im Transplantat geben, deren Überschreiten zu keiner Zunahme der GvHD-Inzidenz oder Ausprägung mehr führt (Bacigalupo A et al 1998)
- Die höhere T-Zell-Zahl könnte durch eine verbesserte Immunabwehr zu weniger Infektionen führen. Infektionen sind als Auslöser von GvHDs bekannt.

Die zur Transplantation entnommenen Leukapheresepreparate werden in zunehmendem Maße ex vivo in ihrer Zusammensetzung verändert oder auf andere Weise behandelt (graft engineering). Durch Immunselektion von CD34⁺Zellen (Dreger P et al 1995, Urbano-Ispizua A et al 1997 und 1999, Cornelissen JJ et al 1998, Übersicht bei Van Hoef MEHM 1999) läßt sich die Zahl der T-Zellen im Aphereseprodukt um bis zu 3 Zehnerpotenzen herabsetzen (Link H et al 1995, Finke J et al 1996, Bensinger WI et al 1995 und 1996, Corringham RET et al 1995). Eine weitere Methode zur T-Zell-Depletion ist die Verwendung T-Zell-spezifischer Antikörper (Wiesneth M et al 1996). Komplett verhindern läßt sich die GvHD mit der T-Zell-Depletion nicht. Sie tritt entgegen früherer Annahmen auch noch bei einer T-Zell-Zahl von weniger als 10^5 / kgKG des Empfängers auf (Dreger P et al 1996). Eine Kombination aus CD-34-Selektion und Purging mit spezifischen Antikörpern gegen T-Zellen ermöglicht eine Reduktion der T-Zell-Zahlen um mehr als 4 Zehnerpotenzen. Dies kann GvHDs bei haploidentischen Spendern sogar komplett verhindern, ohne dass die Inzidenz von Graft-

rejections zunimmt (Wiesneth M et al 1996). Langzeitergebnisse fehlen, so dass die Befürchtung höherer Rezidivwahrscheinlichkeiten noch nicht ausgeräumt ist. Dies könnte sich jedoch durch eine Anreicherung des Aphereseproduktes mit natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) oder mit gegen Leukämiezellen aktivierten T-Zellen ausgleichen lassen. Diese Zellen könnten auch zu einem späteren Zeitpunkt nach der Transplantation transfundiert werden (Glass B et al 1995, Uharek L et al 1995). Verbesserungen lassen sich außerdem am Protokoll der GvHD-Prophylaxe vornehmen. Tabelle 4.2.1 zeigt zum Beispiel, dass es bei Lemoli et al (1998) nur in 7 % zu schweren akuten und chronischen GvHDs gekommen ist. Diese Arbeitsgruppe arbeitete mit einer Gesamt MTX-Dosis von $45 \text{ mg} / \text{m}^2$ KO, ohne dass es dabei zu einer erhöhten transplantationsbedingten Mortalität gekommen wäre. Przepiorka et al veröffentlichten 1996 Ergebnisse, die darauf hindeuten, dass eine GvHD-Prophylaxe mit FK-506 und Methylprednisolon der Standardprophylaxe mit MTX und CsA überlegen sein könnte. 65 Patienten erhielten entweder Cyclosporin A oder FK-506 zur Langzeitprophylaxe. Die Stoßprophylaxe erfolgte bei mit Knochenmark transplantierten Patienten mit Methotrexat und bei Patienten, die mit peripheren Stammzellen transplantiert wurden, mit Methylprednisolon. Die Langzeitprophylaxe erfolgte entweder mit Cyclosporin A oder mit FK 506. Dabei zeigte sich bei den Patienten, die FK-506 erhielten, eine signifikant geringere Inzidenz von GvHDs vom Schweregrad ≥ 2 , als bei den Patienten, die Cyclosporin A erhielten (32 % vs. 44 %, $p = 0.01$). Der Anstieg der Granulozytenzahlen wurde allein durch Methotrexat beeinflusst. Patienten, die periphere Stammzellen mit einer GvHD-Prophylaxe von FK-506 und Methylprednisolon erhielten, hatten am Tag 180 ein signifikant höheres Gesamtüberleben als knochenmarktransplantierte Patienten, die MTX und CsA erhielten.

4.2.7 Einfluss von PBSZ zur allogenen SZT auf die Dauer des stationären Aufenthaltes nach Transplantation

In der überwiegenden Zahl der Veröffentlichungen zum Vergleich von PBSZ und KMSZ in der allogenen SZT war die stationäre Behandlung im direkten Anschluß an die Transplantation bei den Patienten, die PBSZ erhielten, geringer. Der Unterschied lag im Bereich von 4 bis 6 Tagen.

4.2.8 Einfluss von PBSZ zur allogenen SZT auf die Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeiten

In Tabelle 4.2.2 sind die Angaben zum Überleben, der Rezidivwahrscheinlichkeit sowie dem rezidivfreien Überleben (disease-free survival, DFS) und der transplantationsbedingten Mortalität (TRM) aus den vorliegenden Veröffentlichungen zusammengefaßt.

Einzig in der Veröffentlichung von Przepiorka D et al 1997 ist eine signifikant höhere **Gesamtüberlebendwahrscheinlichkeit** für Patienten, die eine PBSZ-T erhielten, gegenüber Patienten, die eine KMT erhielten, angegeben (Tag 180 nach Transplantation: 68 vs 32 %, $p < 0,05$). Die Überlebendwahrscheinlichkeit für die mit KMSZ transplantierten Patienten ist dabei mit 32 % im Vergleich zu den Angaben in den anderen Veröffentlichungen, in denen sie zwischen 41 und 100 % lag, auffällig niedrig. Alle anderen Veröffentlichungen geben für den Zeitraum von 100 Tagen bis 3 Jahren keinen signifikanten Unterschied im Gesamtüberleben an.

Russell JA et 1999 geben ein signifikant höheres **rezidivfreies Überleben (DFS)** für Patienten mit AML in 1. kompletter Remission an („good-risk“-Gruppe 93 vs 62 % $p < 0.05$), jedoch nicht für die Patienten mit AML in 2.CR oder MDS („poor-risk“-Gruppe 23 vs 23 %, $p = \text{ns}$). Im von Champlin RE et al 2000 veröffentlichten Bericht der EBMT und des IBMTR zeigte sich bei den Patienten, die eine PBSZ-T erhielten, gegenüber Patienten, die eine KMT erhielten, hingegen ein verbessertes rezidivfreies Überleben im ersten Jahr für Patienten mit Leukämien in fortgeschrittenen Stadien (jeweils PBSZT vs KMT: Akute Leukämien in 2. CR: 77 vs 54 %, $p < 0,05$, CML in akzelerierter Phase: 68 vs 32 %, $p < 0,001$). Auch die **transplantationsbedingte Mortalität (TRM)** war in der Veröffentlichung von Champlin RE et al 2000 bei den Patienten in fortgeschrittenen Krankheitsstadien, die eine PBSZ-T erhielten, signifikant geringer als bei Patienten, die im fortgeschrittenen Stadium ihrer Erkrankung eine KMT erhielten (jeweils PBSZ-T vs KMT: AML in 2. CR: 13 vs 30 %, $p < 0,05$, CML in AP: 26 vs 67 %, $p < 0,01$). Bei Russell JA et al 1999 zeigte sich ein Trend zu einer geringeren **Rezidivwahrscheinlichkeit** unter den Patienten der „good-risk“-Gruppe für diejenigen Patienten, die eine PBSZ-T erhielten, (PBSZ-T vs KMT: 7 vs 37 %, $p = 0,07$).

In den drei prospektiv randomisierten Studien (Blaise D et al 2000, Schmitz N et al 1998 und Powels R et al 2000) ist nur in der von Powels R et al 2000 veröffentlichten doppel-blind angelegten Studie eine signifikant geringere Rezidivwahrscheinlichkeit für die mit PBSZ transplantierten Patienten im Vergleich zu Patienten, die eine KMT erhielten, angegeben (0 vs 37 %, $p = 0,01$). Ansonsten sind in den drei prospektiv randomisierten Studien keine signifikanten Unterschiede im Gesamtüberleben, für das rezidivfreie Überleben, für die Rezidivwahrscheinlichkeit und für die transplantationsbedingte Mortalität angegeben.

Experimentelle Hinweise legen einen verstärkten GvL-Effekt durch die Transplantation peripherer Blutstammzellen nahe. Glass B et al beschrieben 1997 die Ergebnisse von allogenen Transplantationen von bestimmten Mausstämmen (Empfänger: mit B-lymphozytischen Leukämiezellen infizierte Balb/c-Mäuse, Spender HLA-gematchte DBA/2-Mäuse und syngene Balb/c-Mäuse). Nach Ganzkörperbestrahlung erhielten die Empfängermause eine Transplantation mit syngenen ($n = 22$) und allogenen ($n = 23$) PBSZ sowie allogenen KMSZ ($n = 26$). Die Zahl der transfundierten mononukleären Zellen wurde dabei bei allen Transplantationen auf $1 \times 10^9 / \text{kgKG}$ der Empfängermause eingestellt. Dabei enthielten die PBSZ-Präparate die 4-fache Anzahl an CD3-Zellen. Die Rezidivraten betragen dabei 80 % nach der syngenen PBSZ-T, 60 % nach der allogenen KMT und 34 % nach der allogenen PBSZ-T (allogene PBSZ-T vs KMT $p = 0,032$).

Im hier vorgestellten Kollektiv der in Düsseldorf transplantierten Patienten fanden sich in Bezug auf die Parameter TRM, RFS, Gesamtüberlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeit keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten, die eine PBSZ-T erhielten, und der historischen Vergleichsgruppe der mit Knochenmark transplantierten Patienten.

Zusammengefaßt läßt sich sagen, dass es vereinzelte Hinweise darauf gibt, dass sich durch Verwendung von peripheren Blutstammzellen in der allogenen HLA-identischen Geschwisterspende eine Verbesserung im Gesamtüberleben, in der Rezidivwahrscheinlichkeit, dem rezidivfreien Überleben und der transplantationsbedingten Mortalität gegenüber der Verwendung von Knochenmarkstammzellen erreichen läßt. Als gesichert kann jedoch nur angesehen werden, dass die Transplantation von PBSZ in den oben genannten Parametern keinen Nachteil für die Patienten gegenüber der Knochenmarktransplantation bedeutet.

4.3 CFU-GM-Stammzellassays zur Überwachung der Hämatopoetischen Regeneration

Die Anfertigung von CFU-GM-Stammzellassays von Knochenmarkzellen scheint ein geeignetes Verfahren zur Überwachung der Repopulation des Knochenmarkes des Empfängers durch die Stammzellen des Spenders zu sein. Am besten geeignet scheint die Kultivierung von am Tag 14 nach Transplantation entnommenen Knochenmarkzellen zu sein. Patienten, bei denen nach zwei Wochen Kultivierungszeit mehr als die mediane Anzahl an CFU-G-Kolonien gezählt wurden, hatten einen günstigeren Verlauf als Patienten, bei denen jeweils weniger gezählt wurden. Sie erlitten seltener schwere Infektionen vom WHO-Grad III und IV (0 vs 38,9 %, $p = 0,008$), hatten tendenziell eine höhere kumulative Wahrscheinlichkeit, im ersten Jahr zu überleben (82 vs 61 %, $p = \text{ns}$) und eine tendenziell geringere kumulative Wahrscheinlichkeit für ein Rezidiv im ersten Jahr (19 vs 36 %, $p = \text{ns}$). Die Häufigkeit von akuten GvHDs unterschied sich nicht (12 vs 18 %, $p = \text{ns}$). Zusätzlich fiel eine Gruppe von 10 Patienten auf, bei denen am Tag 14 keine ausreichende Menge Knochenmark entnommen werden konnte, da sie ein leeres Mark aufwiesen (Punctio sicca, p -Werte jeweils im Vergleich zur Gruppe mit mehr als der medianen Anzahl CFU-G-Kolonien nach zwei Wochen Kultivierungszeit). Diese Patienten erlitten im Vergleich zu Patienten mit mehr als der medianen Anzahl an CFU-G-Kolonien häufiger schwere Infektionen (40 vs 0 %, $p = 0,010$) und hatten eine geringere kumulative Überlebenswahrscheinlichkeit für das erste Jahr (30 vs 82 %, $p = 0,004$). Schwere akute GvHDs traten bei ihnen nicht auf (0 vs 0 %, $p = \text{ns}$).

Die Auszählung der CFU-M-Kolonien sowie von gemischten CFU-GM-Kolonien brachte ebenso keine verwertbaren Ergebnisse wie die Anfertigung von Stammzellassays mit an den Tagen 21 und 28 nach Transplantation entnommenem Knochenmark.

Die Zahl der zur PBSZ-T transfundierten CD34+Zellen korrelierte bei den hier vorgestellten Patienten recht gut mit der Zahl CFU-G-Kolonien nach zwei Wochen Kultivierungszeit ($r = 0,708$, $p = 0,001$). Eine Korrelation mit der Anzahl der kernhaltigen Zellen in den PBSZ-Präparaten fand sich nicht.

5 Zusammenfassung

Zwischen Februar 1991 und Januar 1995 führten wir eine prospektiv randomisierte Studie zum Einsatz von Filgrastim (Granulocyte Colony-Stimulating Factor, G-CSF) nach allogener Knochenmarktransplantation (KMT) von HLA-identischen Geschwisterspendern durch. 22 Patienten erhielten G-CSF in einer Dosis von 10 µg / kg Körpergewicht ab dem ersten Tag nach der Transplantation (Gruppe KMT+G-CSF). 23 Patienten wurden dem Kontrollarm (Gruppe KMT) zugeteilt. Zwischen Januar 1995 und Mai 1997 erhielten alle weiteren Patienten eine allogene periphere Blutstammzelltransplantation (PBSZ-T) ihrer HLA-identischen Geschwisterspender (Gruppe PBSZ-T, n = 29). Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss von G-CSF nach allogener KMT und der Verwendung von peripheren Blutstammzellen (PBSZ) anstelle von Knochenmarkstammzellen (KMSZ) auf die hämatopoetische Regeneration und den klinischen Verlauf nach allogener Stammzelltransplantation (SZT) zu untersuchen. Die mediane Nachbeobachtungszeit betrug für die Patienten der Gruppe KMT 47 Monate; KMT+G-CSF 43 Monate und PBSZ-T 11 Monate. Die drei Gruppen unterschieden sich in Bezug auf klinisch relevante Risikofaktoren nicht. Die Dauer der Agranulozytose war im Vergleich zur Gruppe KMT (20 Tage) in der Gruppe KMT+G-CSF um 3 Tage (17 Tage, p = 0,053) und in der Gruppe PBSZ-T um einen Tag (19 Tage, p = 0,042) kürzer.

Hinweise auf klinisch relevante Vorteile durch die Verabreichung von **G-CSF nach KMT** sahen wir nicht. Wir konnten keinen Unterschied in der Regeneration der Erytho- oder Megakaryopoese, im Bedarf an Antibiotika, in der Zahl der Fiebertage, in der Inzidenz und Ausprägung von schweren Infektionen sowie der akuten oder chronischen Graft-versus-Host Disease (GvHD), in der Dauer der stationären Therapie, in der Mortalität oder in der Rezidivwahrscheinlichkeit feststellen.

Patienten, die **PBSZ** erhielten, benötigten im Vergleich zu den Patienten, die KMSZ erhielten, signifikant weniger Thrombozytenkonzentrate (38 vs 68 Einheiten, p = 0,028), hatten eine signifikant geringere Inzidenz von schweren Infektionen (Grad 3 und 4 nach WHO: 7 % vs 30 %, p = 0,028), signifikant seltener Erreger in den Blutkulturen (0 % vs. 52 %, p ≤ 0,001) und wiesen tendenziell seltener pulmonale Infiltrate (4 % vs 17 %, p = ns) auf. Sie erlitten jedoch signifikant häufiger eine chronische GvHD vom Grad „extensive“ (36 vs 16 %, p = 0,007). Es ergab sich kein signifikanter Unterschied im Wiederanstieg der Thrombozytenzahlen, des Hämoglobinwertes, der Anzahl der Fiebertage, der Dauer der intravenösen Antibiotikatherapie und des stationären Aufenthaltes, der Inzidenz oder Ausprägung akuter GvHDs, der Überlebens- und Rezidivwahrscheinlichkeit gegenüber den Patienten, die KMSZ erhielten. In **Stammzellassays**, die mit am Tag 14 nach Transplantation entnommenen Knochenmarkzellen angefertigt wurden, wiesen Patienten der Gruppe PBSZ-T (n = 17) gegenüber Patienten der Gruppe KMT (n = 13) nach einer Woche signifikant mehr CFU-G-Zellcluster (67 vs 0, p = 0,012) (CFU-G; Colony-Forming-Units of Granulocytes) und nach zwei Wochen signifikant mehr CFU-G-Zellkolonien (114 vs 0, p = 0,047) auf. Bei den Patienten der Gruppe KMT+G-CSF (n = 16) wurde kein signifikant stärkeres Wachstum gefunden als bei den Patienten der Gruppe KMT (CFU-G-Kolonien nach 2 Wochen 10 vs 0, p = ns). Unabhängig von der Zugehörigkeit zur Therapiegruppe erlitten Patienten, die nach 2 Wochen Kultivierungszeit mehr als die mediane Anzahl von CFU-G-Kolonien aufwiesen, signifikant weniger schwere Infektionen als Patienten mit weniger CFU-G-Kolonien (Infektionen Grad III+IV nach WHO: 0 vs 39 %, p = 0,008).

Höhere **CD34+Zellzahlen** zur PBSZ-T gingen mit einer kürzeren Agranulozytose und kürzeren Zeiten der GvHD-Prophylaxe einher, während eine höhere **Anzahl kernhaltiger Zellen** die Agranulozytosedauer nicht verkürzten, jedoch eine längere GvHD-Prophylaxe notwendig machten.

Schlußfolgerungen: Das Verfahren der PBSZ-T verdrängt auch bei allogener SZT die klassische KMT zunehmend. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Inzidenz der chronischen GvHD nach PBSZ-T zunimmt. Ansonsten ist nach unseren Untersuchungen die PBSZ-T in allen wesentlichen klinischen Verlaufsparemtern mit der KMT vergleichbar oder ihr sogar überlegen. Künftige Studien sollten sich auf Verbesserungen der Verfahren zur Mobilisierung und Selektion von Stammzellen zur PBSZ-T, Verbesserungen in der GvHD-Prophylaxe und der sonstigen supportiven Therapie sowie die Langzeitbeobachtung der Patienten und Spender konzentrieren. Die Rolle der Stammzellkultivierung zur Überwachung der hämatopoetischen Regeneration und als Prognosefaktor für den klinischen Verlauf nach Transplantation sollte in kontrollierten Studien untersucht werden.

6 Literaturverzeichnis

- Anderlini-P, Przepiorka-D, Seong-D, Miller-P, Sundberg-J, Lichtiger-B, Norfleet-F, Chan-KW, Champlin-R, Korbling-M. Clinical toxicity and laboratory effects of granulocyte-colony-stimulating factor (filgrastim) mobilization and blood stem cell apheresis from normal donors and analysis of charges for the procedures, *Transfusion*. 1996; 36: 590-5
- Anderson-KC. Autologous peripheral blood progenitor cell transplantation, *J-Clin-Apheresis*. 1995; 10: 131-8
- Andrews-RG, Briddell-RA, Knitter-GH, Rowley-SD, Appelbaum-FR, McNiece-IK. Rapid engraftment by peripheral blood progenitor cells mobilized by recombinant human stem cell factor and recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in nonhuman primates, *Blood*. 1995; 85: 15-20
- Appelbaum-FR. Intensiv chemotherapy or chemotherapy with autologous marrow support as treatment for Patient with solid tumors. *Hematol/Oncol-Clin-N-Am*, 1988; 3: 345-52
- Armitage LO. Bone marrow transplantation, *New-Engl-J-Med*, 1994; 330: 827-38
- Azevedo-WM, Aranha-FJ, Gouvea-JV, Vigorito-AC, Marques-JF Jr, Eid-KA, Azevedo-AM, Souza-CA. Allogeneic transplantation with blood stem cells mobilized by rhG-CSF for hematological malignancies, *Bone-Marrow-Transplant*. 1995; 16: 647-53
- Bacigalupo-A, Zikos-P, Van-Lint-MT, Valbonesi-M, Lamparelli-T, Gualandi-F, Occhini-D, Mordini-N, Bregante-S, Berisso-G, Vitale-V, Sessarego-M, Marmont-AM. Allogeneic bone marrow or peripheral blood cell transplants in adults with hematologic malignancies: a single-center experience, *Exp-Hematol*. 1998; 26: 409-14
- Baume-D, Cosset-JM, Pico-JL, Girinski-T, Le-Bail-N, Nabholtz-JM, Benhamou-E, Dutreix-J, Hayat-M. Comparison between single-dose and hyperfractionated total-body irradiation for the conditioning of allogenic grafts of the bone marrow. A retrospective study of 54 patients with malignant hematologic diseases, *Bull-Cancer*. 1988; 75: 361-72
- Baumgarten-G. Internistische Behandlung onkologischer Erkrankungen, Chemotherapie und Hormontherapie, aus Wraba-H. Kombinierte Tumortherapie, Hippokratesverlag, Stuttgart 1995
- Beelen-DW, Quabeck-K, Kaiser-B, Wiefelsputz-J, Scheulen-ME, Graeven-U, Grosse-Wilde-H, Sayer-HG, Schaefer-UW. Six weeks of continuous intravenous cyclosporine and short-course methotrexate as prophylaxis for acute graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation, *Transplantation*. 1990; 50: 421-7
- Bender-JG, To-LB, Williams-S, Schwartzberg-LS. Defining a therapeutic dose of peripheral blood stem cells, *J-Hematother*. 1992; 1: 329-41
- Bender-JG, Unverzagt-KL, Walker-DE, Lee-W, Van-Epps-DE, Smith-DH, Stewart-CC, To-LB. Identification and comparison of CD34-positive cells and their subpopulations from normal peripheral blood and bone marrow using multicolor flow cytometry, *Blood*. 1991; 77: 2591-6
- Bensinger-WI, Clift-R, Martin-P, Appelbaum-FR, Demirer-T, Gooley-T, Lilleby-K, Rowley-S, Sanders-J, Storb-R, Buckner-CD. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in patients with advanced hematologic malignancies: a retrospective comparison with marrow transplantation, *Blood*. 1996; 88: 2794-800
- Bensinger-WI, Price-TH, Dale-DC, Appelbaum-FR, Clift-R, Lilleby-K, Williams-B, Storb-R, Thomas-ED, Buckner-CD. The effects of daily recombinant human granulocyte colony-stimulating factor administration on normal granulocyte donors undergoing leukapheresis, *Blood*. 1993; 81: 1883-8
- Bensinger-WI, Rowley-SD, Demirer-T, Lilleby-K, Schiffman-K, Clift-RA, Appelbaum-FR, Fefer-A, Barnett-T, Storb-R, Chauncey-T, Maziarz-RT, Klarnet-J, McSweeney-P, Holmberg-L, Maloney-DG, Weaver-CH, Buckner-CD. High-dose therapy followed by autologous hematopoietic stem-cell infusion for patients with multiple myeloma, *J-Clin-Oncol*. 1996; 14: 1447-56
- Bensinger-WI, Singer-J, Appelbaum-F, Lilleby-K, Longin-K, Rowley-S, Clarke-E, Clift-R, Hansen-J, Shields-T. Autologous transplantation with peripheral blood mononuclear cells collected after administration of recombinant granulocyte stimulating factor, *Blood*. 1993; 81: 3158-63
- Bensinger-WI, Weaver-CH, Appelbaum-FR, Rowley-S, Demirer-T, Sanders-J, Storb-R, Buckner-CD. Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells mobilized by recombinant human granulocyte

colony-stimulating factor, *Blood*. 1995 Mar 15; 85: 1655-8

- Bishop-MR, Tarantolo-SR, Jackson-JD, Anderson-JR, Schmit-Pokorny-K, Zacharias-D, Pavletic-ZS, Pirruccello-SJ, Vose-JM, Bierman-PJ, Warkentin-PI, Armitage-JO, Kessinger-A. Allogeneic-blood stem-cell collection following mobilization with low-dose granulocyte colony-stimulating factor, *J-Clin-Oncol*. 1997; 15: 1601-7
- Blaise-D, Vernant-JP, Fiere-D, Gluckman-E, Reiffers-J, Harrouseau-JR. A randomised, controlled, multicenter trial of rh-GCSF (Filgrastim) in Patients treated by Bone-marrow-transplantation (BMT) with total body irradiation (TBI) for acute lymphoblastic leukemia (ALL) or lymphoblastic lymphoma (LL), *Blood*. 1992 80:suppl 1 (abstract 982) 248a
- Blaise-D, Kuentz-M, Fortanier-C, Bourhis-JH, Milpied-N, Sutton-L, Jouet-JP, Attal-M, Bordigoni-P, Cahn-JY, Boiron-JM, Schuller-MP, Moatti-JP, Michallet-M. Randomized trial of bone marrow versus lenograstim-primed blood cell allogeneic transplantation in patients with early-stage leukemia: a report from the Societe Francaise de Greffe de Moelle, *J-Clin-Oncol*. 2000; 18: 537-46
- Bodey-GP, Buckley-M, Sathe-YS, Freireich-EJ. Quantitive Relationship Between Circulating Leukocytes and Infektion in Patients with Acute Leukemia, *Anal-of-internal-medicine*.1966; 64: 328-39
- Brown-RA, Adkins-D, Khoury-H, Vij-R, Goodnough-LT, Shenoy-S, DiPersio-JF. Long-term follow-up of high-risk allogeneic peripheral-blood stem-cell transplant recipients: graft-versus-host disease and transplant-related mortality, *J-Clin-Oncol*. 1999; 17: 806-12
- Buckner-CD, Peterson- FB, Bolonesi-FB. Bone marrow donors, in Forman-SJ, Blume-KG, Thomas-ED. *Bone Marrow Transplantation*, Blackwell-Scientific-Publication. 1994; 259-69
- Champlin-RE. Peripheral blood progenitor cells: a replacement for marrow transplantation?, *Semin-Oncol*. 1996; 23(Suppl 4): 15-21
- Champlin-RE, Schmitz-N, Horowitz-MM, Chapuis-B, Chopra-R, Cornelissen-JJ, Gale-RP, Goldman-JM, Loberiza-FR Jr, Hertenstein-B, Klein-JP, Montserrat-E, Zhang-MJ, Ringden-O, Tomany-SC, Rowlings-PA, Van-Hoef-ME, Gratwohl-A. Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation. IBMTR Histocompatibility and Stem Cell Sources Working Committee and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT), *Blood*. 2000; 95: 3702-9
- Chatta-GS, Price-TH, Allen-RC, Dale-DC. Effects of in vivo recombinant methionyl human granulocyte colony-stimulating factor on the neutrophil response and peripheral blood colony-forming cells in healthy young and elderly adult volunteers, *Blood*. 1994; 84: 2923-9
- Copelan-EA. Conditioning regimens for allogeneic bone marrow transplantation, *Blood-Rev*. 1992; 6: 234-42
- Cornelissen-JJ, Fibbe-WE, Schattenberg-AV, Petersen-EJ, Willemze-R, de-Witte-TJ, Lowenberg-B, Verdonck-LF, vd-Biezen-A, Brand-R. A retrospective Dutch study comparing T cell-depleted allogeneic blood stem cell transplantation vs T cell-depleted allogeneic bone marrow transplantation, *Bone-Marrow-Transplant*. 1998; 21 (Suppl 3): 66-70
- Corringham-RE, Ho-AD. Rapid and sustained allogeneic transplantation using immunoselected CD34(+)-selected peripheral blood progenitor cells mobilized by recombinant granulocyte- and granulocyte-macrophage colony-stimulating factors, *Blood*. 1995, 86: 2052-4
- Dao-C, Metcalf-D, Bilski-Pasquier-G. Bone marrow culture in agar and methylcellulose. *Cytology of granulocytic colonies*, *Nouv-Rev-Fr-Hematol*. 1977;18:253-4
- Dexter-TM, Testa-NG. *Hematopoietic growth factors; review of biology and clinical Potentia* (updated edition, first edition published 1990), Supplement update, consultant series, Gardliner-Caldwell Communications Ltd. 1993, ISSN 0963-6900
- Donnal-E, Storb-T, Storb-R. Technique for Human Marrow Grafting, *Blood* 1970; 36: 758-73
- Dreger-P, Glass-B, Uharek-L, Schmitz-N. Allogeneic peripheral blood progenitor cells: current status and future directions, *J-Hematother*. 1996; 5: 331-7
- Dreger-P, Haferlach-T, Eckstein-V, Jacobs-S, Suttorp-M, Loffler-H, Muller-Ruchholtz-W, Schmitz-N. G-CSF-mobilized peripheral blood progenitor cells for allogeneic transplantation: safety, kinetics of mobilization, and composition of the graft, *Br-J-Haematol*. 1994; 87: 609-13
- Ezaki-K, Tsuzuki-M. Cytokin Therapy for hematological Malignancies, *Japanese-Journal-of-Cancer-Chemotherapy*. Supplement 1 1997 (5) 182-94

- Falzetti-F, Aversa-F, Minelli-O, Tabilio-A. Spontaneous rupture of spleen during peripheral blood stem-cell mobilisation in a healthy donor, *Lancet*. 1999; 13: 353-5
- Finke-J, Brugger-W, Bertz-H, Behringer-D, Kunzmann-R, Weber-Nordt-RM, Kanz-L, Mertelsmann-R. Allogeneic transplantation of positively selected peripheral blood CD34+ progenitor cells from matched related donors, *Bone-Marrow-Transplant*. 1996; 18: 1081-6
- Forman-SJ, Blume-KG, Thomas-ED. *Bone marrow transplantation*, Blackwell Oxford. 1994
- Fujisaki-T, Otsuka-T, Harada-M, Ohno-Y, Niho-Y. Granulocyte colony-stimulating factor mobilizes primitive hematopoietic stem cells in normal individuals, *Bone-Marrow-Transplant*. 1995; 16: 57-62
- Gillespie-TW, Hillyer-CD. Peripheral blood progenitor cells for marrow reconstitution: mobilization and collection strategies, *Transfusion*. 1996; 36: 611-24
- Giralt-SA, LeMaistre-CF, Vriesendorp-HM, Andersson-BS, Dimopoulos-M, Gajewski-J, Van-Besien-K, Mehra-R, Przepiorka-D, Khouri-I. Etoposide, cyclophosphamide, total-body irradiation, and allogeneic bone marrow transplantation for hematologic malignancies, *J-Clin-Oncol*. 1994; 12: 1923-30
- Gisselbrecht-C, Prentice-HG, Bacigalupo-A, Biron-P, Milpied-N, Rubie-H. Placebo-controlled phase III trial of lenograstim in bone-marrow- transplantation, *Lancet*. 1994; 19: 343: 696-700
- Glass-B, Uharek-L, Zeis-M, Loeffler-H, Mueller-Ruchholtz-W, Gassmann-W, Graft-versus-leukaemia activity can be predicted by natural cytotoxicity against leukaemia cells, *Br-J-Haematol*. 1996; 93: 412-20
- Gratwohl-A, Passeweg-J, Baldomero-H and Hermanns-J. Blood and marrow transplantation activity in Europe 1996, *Bone-Marrow-Transplant*. 1998; 22: 227-40
- Gratwohl-A. Indications for bone marrow and peripheral stem cell transplantation in malignant hematological diseases, *Ther-Umsch*. 1996; 53: 152-7
- Gratwohl-A. Indications and donor source of hematopoietic stem cell transplantation in Europe 1993. Report from the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT), *Clin-Transplantation*. 1995; 9: 355-63
- Grigg-AP, Roberts-AW, Raunow-H, Houghton-S, Layton-JE, Boyd-AW, McGrath-KM, Maher-D. Optimizing dose and scheduling of filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor) for mobilization and collection of peripheral blood progenitor cells in normal volunteers, *Blood*. 1995; 86: 4437-45
- Haas-R, Mohle-R, Pfoersch-M, Fruehauf-S, Witt-B, Goldschmidt-H, Hunstein-W. Blood-derived autografts collected during granulocyte colony-stimulating factor-enhanced recovery are enriched with early Thy-1+ hematopoietic progenitor cells, *Blood*. 1995; 85: 1936-43
- Handelsman-H. Autologous peripheral stem-cell transplantation, *Health-Technol-Assess-Rockv*. 1995; 5: 1-16
- Harada-M. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation as an alternative to allogeneic bone marrow transplantation, *Intern-Med*. 1998; 37: 1001-2
- Harada-M, Nagafuji-K, Fujisaki-T, Kubota-A, Mizuno-S, Takenaka-K, Miyamoto-T, Ohno-Y, Gondo-H, Kuroiwa-M, Okamura-T, Inaba-S, Niho-Y. G-CSF-induced mobilization of peripheral blood stem cells from healthy adults for allogeneic transplantation, *J-Hematother*. 1996; 5: 63-71
- Helenglass-G, Powles-RL, McElwain-TJ, Lakhani-A, Milan-S, Gore-M, Nandi-A, Zuiable-A, Perren-T, Forgeson-G. Melphalan and total body irradiation (TBI) versus cyclophosphamide and TBI as conditioning for allogeneic matched sibling bone marrow transplants for acute myeloblastic leukaemia in first remission, *Bone-Marrow-Transplant*. 1988; 3: 21-9
- Iscove-NN, Messner-H, Till-JE, McCulloch-EA. Human marrow cells forming colonies in culture: analysis by velocity sedimentation and suspension culture, *Ser-Haematol*. 1972; 5: 37-49
- Kamble-R, Raju GMK, Kumar-L, Kochupillai-V. Blood stem cell transplantation, current concepts, *Indian-J-Med-Res*. 1997, 105: 1-8
- Kersey-JH, Kim-T, Levitt-S, Krivit-W, Nesbit-ME, Coccia-P, Warkentin-P, O'Leary-M, Ramsay-NK. Combined immunosuppression using cyclophosphamide plus total lymphoid irradiation in preparation for allogeneic marrow transplantation in humans, *Hamatol-Bluttransfus*. 1980; 25: 333-8.
- Kessinger-A. Autologous transplantation with peripheral blood stem cells: a review of clinical results, *J-Clin-Apheresis*. 1990; 5(2): 97-9
- Kessinger-A, Bierman-PJ, Vose-JM, Armitage-JO. High-dose cyclophosphamide, carmustine, and etoposide

followed by autologous peripheral stem cell transplantation for patients with relapsed Hodgkin's disease, *Blood*. 1991; 77: 2322-5

- Kobbe-G, Soehngen-D, Heyll-A, Fischer-J, Thiele-KP, Aul-C, Wernet-P. Large volume leukapheresis maximizes the progenitor cell yield for allogeneic peripheral blood- progenitor donation *J-Hematother*. 1997; 6: 125-31
- Körbling-M, Chan-KW, Anderlini-P, Seong-D, Durett-A, Langlinais-A, Przepiorka-D, Gajewski-J, Miller-P, Sundberg-J, Alilaen-P, Bojko-P, Mirza-N, Claxton-D, van-Besien-K, Khouri-I, Andersson-B, Mehra-R, Champlin-R. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation using normal patient-related pediatric donors, *Bone-Marrow-Transplant*. 1996; 18: 885-90
- Körbling-M, Huh-YO, Durett-A, Mirza-N, Miller-P, Engel-H, Anderlini-P, van-Besien-K, Andreeff-M, Przepiorka-D. Allogeneic blood stem cell transplantation: peripheralization and yield of donor-derived primitive hematopoietic progenitor cells (CD34+ Thy-1dim) and lymphoid subsets and possible predictors of engraftment and graft-versus-host disease, *Blood*. 1995; 1; 86: 2842-8
- Körbling-M, Przepiorka-D, Huh-YO, Engel-H, van-Besien-K, Giralt-S, Andersson-B, Kleine-HD, Seong-D, Deisseroth-AB. Allogeneic blood stem cell transplantation for refractory leukemia and lymphoma: potential advantage of blood over marrow allografts, *Blood*. 1995; 15; 85: 1659-65
- Kubota-K, Preisler-HD, Sagawa-K, Minowada-J. Comparison between agar and methylcellulose cultures of human leukemic cells, *Cancer-Res*. 1981; 41: 3052-7
- Lane-TA, Law-P, Maruyama-M, Young-D, Burgess-J, Mullen-M, Mealiffe-M, Terstappen-LW, Hardwick-A, Moubayed-M, Negrin-RS, Kusnierz-Glaz-C, Blume-KG, Strober-S. Harvesting and enrichment of hematopoietic progenitor cells mobilized into the peripheral blood of normal donors by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) or G-CSF: potential role in allogeneic marrow transplantation, *Bone-Marrow-Transplant*. 1996; 17 (Suppl 29): 31-3
- Leitner-A, Strobl-H, Fischmeister-G, Kurz-M, Romanakis-K, Haas-OA, Printz-D, Buchinger-P, Bauer-S, Gadner-H. Lack of DNA synthesis among CD34+ cells in cord blood and in cytokine-mobilized blood, *Br-J-Haematol*. 1996; 92: 255-62
- Lemoli-RM, Bandini-G, Leopardi-G, Rosti-G, Bonini-A, Fortuna-A, Rondelli-D, Mangianti-S, Motta-MR, Rizzi-S, Tassi-C, Cavo-M, Remiddi-C, Curti-A, Conte-R, Tura-S. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in patients with early-phase hematologic malignancy: a retrospective comparison of short-term outcome with bone marrow transplantation, *Haematologica*. 1998; 83: 48-55
- Linch-DC, Scarffe-H, Proctor-S, Chopra-R, Taylor-PR, Morgenstern-G, Cunningham-D, Burnett-AK, Cawley-JC, Franklin-IM. Randomised vehicle-controlled dose-finding study of glycosylated recombinant human granulocyte colony-stimulating factor after bone marrow transplantation, *Bone-Marrow-Transplant*. 1993; 11: 307-11
- Link-H, Arseniev-L, Bahre-O, Kadar-JG, Diedrich-H, Poliwoda-H. Transplantation of allogeneic CD34+ blood cells, *Blood*. 1996; 1, 87: 4903-9
- Lipp-HP. Metabolismus und Toxizität von Zytostatika, Teil 1-5. *Krankenhauspharmazie* 1994; 4:167-72, 5:269-77, 6:326-36, 7:392-401, 8:446-55
- Locatelli-F, Pession-A, Zecca-M, Bonetti-F, Prete-L, Carra-AM, Prete-A, Montagna-D, Comoli-P, Taibi-RM, Paolucci-G. Use of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in children given allogeneic bone marrow transplantation for acute or chronic leukemia, *Bone-Marrow-Transplant*. 1996; 17: 31-7
- Majolino-I, Aversa-F, Bacigalupo-A, Bandini-G, Arcese-W, Reali-G. Allogeneic transplants of rhG-CSF-mobilized peripheral blood stem cells (PBSC) from normal donors. GITMO. Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo, *Haematologica*. 1995; 80: 40-3
- Martin-Algarra-S, Bishop-MR, Tarantolo-S, Cowels-MK, Reed-E. Hematopoietic growth factors after HLA-identical allogeneic bone marrow transplantation in patients treated with methotrexate-containing graft-vs.-host disease prophylaxis, *Exp-hematol*. 1995; 23: 1503-8
- Martinez-C, Urbano-Ispizua-A, Mazzara-R, Rozman-C, Montserrat-E. Granulocyte colony-stimulating factor administration and peripheral blood progenitor cells collection in normal donors: analysis of leukapheresis-related side effects, *Blood*. 1996; 1, 87: 4916-7
- Masaoka-T, Takaku-F, Kato-S, Moriyama-Y, Kodera-Y, Kanamaru-A, Shimosaka-A, Shibata-H, Nakamura-H. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in allogeneic bone marrow transplantation, *Exp-*

Hematol. 1989; 17: 1047-50

- Mavroudis-D, Read-E, Cottler-Fox-M, Couriel-D, Molldrem-J, Carter-C, Yu-M, Dunbar-C, Barrett-J. CD34+ cell dose predicts survival, posttransplant morbidity, and rate of hematologic recovery after allogeneic marrow transplants for hematologic malignancies, *Blood*. 1996; 15, 88: 3223-9
- Mifflin-G, Charley-C, Stainer-C, Anderson-S, Hunter-A, Russell-N. Stem cell mobilization in normal donors for allogeneic transplantation: analysis of safety and factors affecting efficacy, *Br-J-Haematol*. 1996; 95: 345-8
- Miller-LL, Anderson-JR, Anderson-PN, Armitage-JO, Beckhardt-S, Bennet-CH, Bodey-GP, Crawford-J, Davidson-NE, Demetri-GD, Hamm-JT, Hillner-B, Kardinal-CG, Levine-MN, Miller-JA, Ochs-JJ, Ozer-H, Santana-Schiffer-CA, Shea-TC, Smith-TJ, Vadhan-Raj-S, Wade-JL, Weeks-JC, Winn-RJ. American Society of Clinical Oncology. Recommendations for the use of hematopoietic colony-stimulating factors: evidence-based, clinical practice guidelines, *J-Clin-Oncol*. 1994; 12: 2471-508
- Morstyn-G, Campbell-L, Souza-LM, Alton-NK, Keech-J, Green-M, Sheridan-W, Metcalf-D, Fox-R. Effect of granulocyte colony stimulating factor on neutropenia induced by cytotoxic chemotherapy, *Lancet*. 1988; 1: 667-72
- Negrin-RS, Kusnierz-Glaz-C, Blume-KG, Strober-S. Enrichment of allogeneic CD34+ cells and T cell depletion by percoll density gradient centrifugation, *Bone-Marrow-Transplant*. 1996; 17 (Suppl 2): 31-3
- Ohno-R, Tomonaga-M, Kobayashi-T, Kanamaru-A, Shirakawa-S, Masaoka-T, Omine-M, Oh-H, Nomura-T, Sakai-Y. Effect of granulocyte colony-stimulating factor after intensive induction therapy in relapsed or refractory acute leukemia, *N-Engl-J-Med*. 1990; 323: 871-7
- Old-LJ. *Spezial Krebsmedizin: Immuntherapie gegen Krebs, Spektrum-der-Wissenschaft*. 1996; Sonderheft 1: 77-83
- Oliff-A, Gibbs-JB, McCormick-F. Pharmaceutical research in molecular oncology, *Cell*. 1994; 79: 193-8
- Olveti-E, Nagy-G, Keszthelyi-G. Comparative study of the rheological properties of artificial saliva types based on hydroxy-propyl-methyl-cellulose (methocel) and carboxy-methyl-cellulose, *Fogorv-Sz*. 1992; 85: 57
- Ottinger-HD, Beelen-DW, Scheulen-B, Schaefer-UW, Grosse-Wilde-H. Improved immune reconstitution after allotransplantation of peripheral blood stem cells instead of bone marrow, *Blood*. 1996; 88: 2775-9
- Pan-L, Delmonte-J Jr, Jalonen-CK, Ferrara-JL. Pretreatment of donor mice with granulocyte colony-stimulating factor polarizes donor T lymphocytes toward type-2 cytokine production and reduces severity of experimental graft-versus-host disease, *Blood*. 1995; 86: 4422-9
- Papayannopoulou-T, Nakamoto-B, Peripheralization of hemopoietic progenitors in primates treated with anti-VLA4 integrin, *Proc-Natl-Acad-Sci-U-S-A*. 1993; 90: 9374-8
- Pavlitic-ZS, Bishop-RP, Tarantolo-SR, Martin Algarra-S, Biermann-PJ. Hematopoietic Recovery after allogeneic blood stem-cell transplantation compared with bone marrow transplantation in Patients with hematologic malignancies, *J-clin-oncol* 1997; 15: 1608-16
- Pike-BL, Robinson-WA, Human bone marrow colony growth in agar-gel, *J-Cell-Physiol*. 1970 Aug, 76(1): 77-84
- Powles-R, Mehta-J, Kulkarni-S, Treleaven-J, Millar-B, Marsden-J, Shepherd-V, Rowland-A, Sirohi-B, Tait-D, Horton-C, Long-S, Singhal-S. Allogeneic blood and bone-marrow stem-cell transplantation in haematological malignant diseases: a randomised trial, *Lancet*. 2000; 8, 355: 1231-7
- Prosper-F, Stroncek-D, Verfaillie-CM. Phenotypic and functional characterization of long-term culture-initiating cells present in peripheral blood progenitor collections of normal donors treated with granulocyte colony-stimulating factor, *Blood*. 1996; 15, 88: 2033-42
- Przepioraka-D, Anderlini-P, Ippoliti-C, Khouri-I, Fietz-T, Thall-P, Mehra-R, Giralt-S, Gajewski-J, Deisseroth-AB, Cleary-K, Champlin-R, van-Besien-K, Andersson-B, Körbling-M. Allogeneic blood stem cell transplantation in advanced hematologic cancers, *Bone-Marrow-Transplant*. 1997; 19: 455-60
- Przepioraka-D, Ippoliti-C, Khouri-I, Anderlini-P, Mehra-R, Giralt-S, Gajewski-J, Fritsche-H, Deisseroth-AB, Cleary-K, Champlin-R, van-Besien-K, Andersson-B, Körbling-M. Allogeneic transplantation for advanced leukemia: improved short-term outcome with blood stem cell grafts and tacrolimus, *Transplantation*. 1996; 27, 62: 1806-10
- Quast-U, Glaeser-L, Szy-D. Total body irradiation in Essen - dosimetry and physical treatment planning,

Strahlenther-Onkol. 1986; 162: 240-2

- Rabitsch-W, Reiter-E, Keil-F, Malzer-R, Leitner-G, Fischer-G, Dieckman-K, Kalhs-P, Lechner-K, Greinix-HAT. Experience with allogeneic and syngeneic blood stem cell transplantation in patients with hematological malignancies, Bone-Marrow-Transplant. 1998; 22 (Suppl 4):S49-52
- Rosenfeld-C, Collins-R, Pineiro-L, Agura-E, Nemunaitis-J. Allogeneic blood cell transplantation without posttransplant colony-stimulating factors in patients with hematopoietic neoplasm: a phase II study, J-Clin-Oncol. 1996; 14: 1314-9
- Russell-JA, Larratt-L, Brown-C, Turner-AR, Chaudhry-A, Booth-K, Woodman-RC, Wolff-J, Valentine-K, Stewart-D, Ruether-JD, Ruether-BA, Klassen-J, Jones-AR, Gyonyor-E, Egeler-M, Dunsmore-J, Desai-S, Coppes-MJ, Bowen-T, Anderson-R, Poon-MC. Allogeneic blood stem cell and bone marrow transplantation for acute myelogenous leukemia and myelodysplasia: influence of stem cell source on outcome, Bone-Marrow-Transplant. 1999; 24: 1177-83
- Russel-N, Gratwohl-A, Schmitz-N. The place of blood stem cells in allogeneic transplantation, Br-J-Haematol. 1996; 93: 747-53
- Sakamaki-S, Matsunaga-T, Hirayama-Y, Kuga-T, Niitsu-Y. Haematological study of healthy volunteers 5 years after G-CSF, Lancet. 1995; 346: 1432-3
- Santos-GW, Sensenbrenner-LL, Anderson-PN, Burke-PJ, Klein-DL, Slavin-RE, Schacter-B, Borgaonkar-DS. HL-A-identical marrow transplants in aplastic anemia, acute leukemia, and lymphosarcoma employing cyclophosphamide, Transplant-Proc. 1976; 8: 607-10
- Schmidt-Wolf-IG, Dejbakhsh-Jones-S, Ginzton-N, Greenberg-P, Strober-S. Cell subsets and suppressor cells in human bone marrow, Blood. 1992; 80: 3242-50
- Schmitz-N, Dreger-P, Zander-A. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (filgrastim) after autologous bone marrow transplantation for lymphoma: an open label randomized trial in Germany, Blood. 1992; 80 (abstr, suppl 1): 292a
- Schmitz-N, Dreger-P, Suttorp-M, Rohwedder-EB, Haferlach-T, Loffler-H, Hunter-A, Russell-NH. Primary transplantation of allogeneic peripheral blood progenitor cells mobilized by filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor, Blood. 1995; 85: 1666-72
- Schmitz-N, Bacigalupo-A, Labopin-M, Majolino-I, Laporte-JP, Brinch-L, Cook-G, Lambertenghi-Deliliers-G, Lange-A, Rozman-C, Garcia-Conde-J, Finke-J, Domingo-Albos-A, Gratwohl-A. Transplantation of allogeneic peripheral blood progenitor cells - the EBMT experience, Bone-Marrow-Transplant. 1996; 17 (Suppl 2): 40-6
- Schmitz-N, Linch-DC, Dreger-P, Goldstone-AH, Boogaerts-MA, Ferrant-A, Demuyneck-HM, Link-H, Zander-A, Barge-A. Randomised trial of filgrastim-mobilised peripheral blood progenitor cell transplantation versus autologous bone-marrow transplantation in lymphoma patients, Lancet. 1996; 10, 347: 353-7
- Schmitz-N, Bacigalupo-A, Hasenclever-D, Nagler-A, Gluckman-E, Clark-P, Bourquelot-P, Greinix-H, Frickhofen-N, Ringden-O, Zander-A, Apperley-JF, Gorin-C, Borkett-K, Schwab-G, Goebel-M, Russell-NH, Gratwohl-A. Allogeneic bone marrow transplantation vs. filgrastim-mobilised peripheral blood progenitor cell transplantation in patients with early leukaemia: first results of a randomised multicentre trial of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, Bone-Marrow-Transplant. 1998; 21: 995-1003
- Schriber-JR, Chao-NJ, Long-GD, Negrin-RS, Tierney-DK, Kusnierz-Glaz-C, Lucas-KS, Blume-KG. Granulocyte colony-stimulating factor after allogeneic bone marrow transplantation, Blood. 1994; 84: 1680-4
- Scott-MA, Gandhi-MK, Jestice-HK, Mahendra-P, Bass-G, Marcus-RE. Trend towards an increased incidence of chronic graft-versus-host disease following allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation: a case controlled study, Bone-Marrow-Transplant. 1998; 22: 273-6
- Sheridan-WP, Morstyn-G, Wolf-M, Dodds-A, Lusk-J, Maher-D, Layton-JE, Green-MD, Souza-L, Fox-RM. Granulocyte colony-stimulating factor and neutrophil recovery after high-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation, Lancet. 1989; 14, 2: 891-5
- Shpall-EJ, Jones-RB, Bearman-SI, Purdy-MH, Franklin-WA, Heimfeld-S, Berenson-RJ. Transplantation of CD34+ hematopoietic progenitor cells, J-Hematother. 1994; 3: 145-7
- Shulman-H, Sullivan-K, Weiden-P. Chronic graft-versus-host syndrom in man, A long-term clinicopathological study of 20 Seattle patients, Am-J-Med. 1980; 69: 204
- Söhngen-D, Wienen-S, Siebler-M, Boogen-C, Scheid-C, Schulz-A, Kobbe-G, Diehl-V, Heyll-A. Analysis of

- rhG-CSF-effects on platelets by in vitro bleeding test and transcranial Doppler ultrasound examination, *Bone-Marrow-Transplant*. 1998; 22: 1087-90
- Stahel-RA, Muller-E, Pichert-G. Dose intensification with autologous marrow support in high-risk lymphoma: acceleration of hematopoietic recovery and reduction of days of hospitalization with granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) in a randomized open label trial (meeting Abstract), *Proc-Am-Soc-Clin-Onc*. 1992; 11: 331
 - Stroncek-DF, Clay-ME, Petzoldt-ML, Smith-J, Jaszcz-W, Oldham-FB, McCullough-J. Treatment of normal individuals with granulocyte colony-stimulating factor: donor experiences and the effects on peripheral blood CD34+ cell counts and on the collection of peripheral blood stem cells, *Transfusion*. 1996; 36: 601-10
 - Stroncek-DF, Holland-PV, Bartch-G, Bixby-T, Simmons-RG, Antin-JH, Anderson-KC, Ash-RC, Bolwell-BJ, Hansen-JA. Experiences of the first 493 unrelated marrow donors in the National Marrow Donor Program, *Blood*. 1993; 81: 1940-6
 - Suzue-T, Kawano-Y, Takaue-Y, Kuroda-Y. Cell processing protocol for allogeneic peripheral blood stem cells mobilized by granulocyte colony-stimulating factor, *Exp-Hematol*. 1994, 22: 888-92
 - Teshima-A, Harada-M. Mobilization of peripheral blood progenitor cells for allogeneic transplantation, *Cytokines-Cell-Mol-Ther*. 1997; 3: 101-14
 - Teshima-H, Ishikawa-J, Kitayama-H, Yamagami-T, Hiraoka-A, Nakamura-H, Shibata-H, Masaoka-T, Takaku-F. Clinical effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in leukemia patients: a phase I/II study, *Exp-Hematol*. 1989; 17: 853-8
 - Thomas-E, Storb-R, Clift-RA, Fefer-A Johnson-FL, Neimann-PE. Bone marrow transplantation, *N-Eng-J-Med*. 1975; 292: 896
 - Tjonnfjord-GE, Steen-R, Evensen-SA, Thorsby-E, Egeland-T. Characterization of CD34+ peripheral blood cells from healthy adults mobilized by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor, *Blood*. 1994; 15: 2795-801
 - To-LB. Assaying the CFU-GM in blood: correlation between cell dose and haemopoietic reconstitution, *Bone-Marrow-Transplant*. 1990; 5 (Suppl 1): 16-8
 - To-LB, Haylock-DN, Dowse-T, Simmons-PJ, Trimboli-S, Ashman-LK, Juttner-CA. A comparative study of the phenotype and proliferative capacity of peripheral blood (PB) CD34+ cells mobilized by four different protocols and those of steady-phase PB and bone marrow CD34+ cells, *Blood*. 1994; 1, 84: 2930-9
 - To-LB, Shepperd-KM, Haylock-DN, Dyson-PG, Charles-P, Thorp-DL, Dale-BM, Dart-GW, Roberts-MM, Sage-RE. Single high doses of cyclophosphamide enable the collection of high numbers of hemopoietic stem cells from the peripheral blood, *Exp-Hematol*. 1990; 18: 442-7
 - Tuschka PJ, Copelan EA, Klein JP. Bone marrow transplantation for leukemia following a new busulphan and cyclophosphamid regim, *Blood*. 1987; 70: 1382
 - Uharek-L, Gassmann-W, Glass-B, Steinmann-J, Loeffler-H, Mueller-Ruchholtz-W. Influence of cell dose and graft-versus-host reactivity on rejection rates after allogeneic bone marrow transplantation, *Blood*. 1992; 79: 1612-21
 - Urbano-Ispizua A, Rozman-C, Martinez-C, Marin-P, Briones-J, Rovira-M, Feliz-P, Viguria-MC, Merino-A, Sierra-J, Mazzara-R, Carreras-E, Montserra-E. Rapid Engraftment without significant Graft-vs-host Disease After Allogeneic Transplantation of CD34+ Selected Cells From Peripheral Blood, *Blood*. 1997; 89: 3967-74
 - Urbano-Ispizua-A, Solano-C, Brunet-S, de-la-Rubia-J, Odriozola-J, Zuazu-J, Figuera-A, Caballero-D, Martinez-C, Garcia-J, Sanz-G, Torrabadella-M, Alegre-A, Perez-Oteiza-J, Jurado-M, Oyonarte-S, Sierra-J, Garcia-Conde-J, Rozman-C. Allogeneic transplantation of purified CD34+ cells from peripheral blood: Spanish experience of 62 cases. Spanish Group of allo-PBT, *Bone-Marrow-Transplant*. 1998; 21 (Suppl 3): 71-4
 - Van-Hoef-ME. HLA-identical sibling peripheral blood progenitor cell transplants (PBPCT), *Bone-Marrow-Transplant*. 1999; 24: 707-14
 - Vigorito-AC, Azevedo-WM, Marques-JF, Azevedo-AM, Eid-KA, Aranha-FJ, Lorand-Metze-I, Oliveira-GB, Correa-ME, Reis-AR, Miranda-EC, de-Souza-CA. A randomised, prospective comparison of allogeneic bone marrow and peripheral blood progenitor cell transplantation in the treatment of haematological malignancies, *Bone-Marrow-Transplant*. 1998; 22: 1145-51

-
- Waller-CF, Bertz-H, Wenger-MK, Fetscher-S, Hardung-M, Engelhardt-M, Behringer-D, Lange-W, Mertelsmann-R, Finke-J. Mobilization of peripheral blood progenitor cells for allogeneic transplantation: efficacy and toxicity of a high-dose rhG-CSF regimen, *Bone-Marrow-Transplant*. 1996; 18: 279-83
 - Wiesneth-M, Schreiner-T, Sandherr-M, Maccari-B, Erne-E, Bischof-C, Frickhofen-N, von-Schilling-C, Kubanek-B. Haematopoietic reconstitution after autologous transplantation of CD34(+)-selected versus non-selected peripheral blood progenitor cells, *Beitr-Infusionsther-Transfusionsmed*. 1997; 34: 133-8
 - Williams-N, Bertocello-I, Kavnoudias-H, Zsebo-K, McNiece-I. Recombinant rat stem cell factor stimulates the amplification and differentiation of fractionated mouse stem cell populations, *Blood*. 1992; 79: 58-64
 - Young-MM, Kinsella-TJ, Miser-JS, Triche-TJ, Glaubiger-DL, Steinberg-SM, Glatstein-E. Treatment of sarcomas of the chest wall using intensive combined modality therapy. *Int-J-Radiat-Oncol-Biol-Phys*. 1989; 1: 49-57
 - Zander-AR, Culbert-S, Jagannath-S, Spitzer-G, Keating-M, Larry-N, Cockerill-K, Hester-J, Horwitz-L, Vellekoop-L. High dose cyclophosphamide, BCNU, and VP-16 (CBV) as a conditioning regimen for allogeneic bone marrow transplantation for patients with acute leukemia *Cancer*. 1987; 59: 1083-6

Curriculum Vitae

Zur Person

Jan Eickmeyer
geboren am 31.08.1970 in Braunschweig
verheiratet

Schulbildung

1977-1990 Grundschule und Gymnasium in Erkrath

Wehrdienst

07.90 - 07.92 Dienst als Soldat auf Zeit für zwei Jahre

Hochschulausbildung

10.92-04.93 Chemie an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

4.93-12.99 Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Promotion

Bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med. A. Heyll, Ltd. Oberarzt der Klinik für Hämatologie Onkologie und klinische Immunologie.

Arzt im Praktikum

01.2000-06.2001 Evangelisches Krankenhaus Düsseldorf
Klinik für Anästhesiologie, Operative Intensiv- und Schmerztherapie
Chefarzt Dr. med. U. Zaune, ärztlicher Direktor des EVK

Assistenzarzt

07.2001-08.2002 Klinikum Remscheid GmbH
Abteilung für Anästhesie und operative Intensivmedizin
Chefarzt Dr. med. R. Hoffmann

Seit 09.2001 Evangelisches Krankenhaus Düsseldorf
Klinik für Anästhesiologie, Operative Intensiv- und Schmerztherapie
Chefarzt Dr. med. U. Zaune, ärztlicher Direktor des EVK