

Aus der Klinik für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und -Immunologie
des Zentrums für Kinderheilkunde der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Universitätsprof. Dr. med. U. Göbel

**Klinischer Verlauf und in vitro Untersuchungen
nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Katrin Lauer

2005

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

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. dent. Wolfgang H.-M. Raab

Dekan

Referent: Univ.-Prof. Dr. Göbel

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Germing

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen	2
Abkürzungen und Erläuterungen	3
1. Einleitung	5
1.1 Einführung in das Thema	5
1.2 Zielsetzung der Arbeit	12
2. Patienten und Methode	13
2.1 Patienten	13
2.2 Untersuchungsparameter	17
2.2.1 Immunologischer Phänotyp	17
2.2.2 Zytokinbestimmung	18
2.2.3 Leukozytäres Engraftment	18
2.2.4 Infektionen	19
2.2.5 GvHD	19
2.3 Statistik	20
3. Ergebnisse	21
3.1 Allgemeine Daten nach Transplantation	21
3.1.1 Transplantierte mononukleäre Zellen, Stammzellen und T-Zellen	21
3.1.2 Leukozytäres Engraftment und Graft failure	22
3.1.3 GvHD	23
3.1.4 Infektionen	24
3.1.5 Erythrozyten und Thrombozytenkonzentratverbrauch	25
3.2 Korrelation der Transplantationsdaten	26
3.2.1 Korrelation zwischen transplantierten Progenitorzellen und mononukleären Zellen und benötigten Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentraten	26
3.2.2 Korrelation zwischen transplantierten Progenitorzellen und mononukleären Zellen und dem Zeitpunkt des Engraftments	28
3.3 Engraftmentprogramm	29
3.3.1 Immunologischer Differentialverlauf nach HST	29
3.3.1.1 Progenitorzellverlauf (CD34+) - prozentualer Anteil	31
3.3.1.2 T-Zellverlauf (CD3+) - prozentualer Anteil	33
3.3.1.3 B-Zellverlauf (CD20+) - prozentualer Anteil	37
3.3.1.4 Monozyten-Verlauf (CD14+) - prozentualer Anteil	40
3.3.1.5 Granulozyten (CD15+) - prozentualer Anteil	43
3.3.1.6 NK-Zellen (CD56+) - prozentualer Anteil	46
3.3.2 Zytokinverlauf nach HST	49
4. Diskussion	51
5. Literaturverzeichnis	70
Lebenslauf	79
Danksagung	80
Zusammenfassung	81

Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

Abb. 3.1-1:	Inzidenz der GvHD – kutan, intestinal und hepatisch _____	23
Abb. 3.1-2:	Inzidenz von akuten Infektionen / Sepsis _____	25
Abb. 3.2-1:	Erythrozytenkonzentratverbrauch und transplantierte CD34- und MNC-Zahl _	27
Abb. 3.2-2:	Thrombozytenkonzentratverbrauch und transplantierte CD34- und MNC-Zahl _	28
Abb. 3.2-3:	Zeitpunkt des Engraftments und transplantierte CD34- und MNC-Zahl _____	29
Abb. 3.3-1:	Leukozytenverlauf im KM und PB – absoluter Anteil _____	30
Abb. 3.3-2:	Prozentualer Anteil der Progenitorzellen an den mononukleären Zellen im KM _	32
Abb. 3.3-3:	Prozentualer Anteil der T-Zellen an den mononukleären Zellen im KM _____	35
Abb. 3.3-4:	Prozentualer Anteil der T-Zellen an den mononukleären Zellen im PB _____	36
Abb. 3.3-5:	Prozentualer Anteil der B-Zellen an den mononukleären Zellen im KM _____	38
Abb. 3.3-6:	Prozentualer Anteil der B-Zellen an den mononukleären Zellen im PB _____	39
Abb. 3.3-7:	Prozentualer Anteil der Monozyten an den mononukleären Zellen im KM _____	41
Abb. 3.3-8:	Prozentualer Anteil der Monozyten an den mononukleären Zellen im PB _____	42
Abb. 3.3-9:	Prozentualer Anteil der Granulozyten an den mononukleären Zellen im KM _____	44
Abb. 3.3-10:	Prozentualer Anteil der Granulozyten an den mononukleären Zellen im PB _____	45
Abb. 3.3-11:	Prozentualer Anteil der NK-Zellen an den mononukleären Zellen im KM _____	47
Abb. 3.3-12:	Prozentualer Anteil der NK-Zellen an den mononukleären Zellen im PB _____	48
Abb. 3.3-13:	Verlauf des INFy im KM _____	50
Abb. 3.3-14:	Verlauf des INFy im PB _____	50
Tabelle 2.1-1:	Patientencharakteristik nach <i>allogen unrelated</i> Transplantation _____	14
Tabelle 2.1-2:	Patientencharakteristik nach <i>allogen related</i> Transplantation _____	15
Tabelle 2.1-3:	Patientencharakteristik nach <i>autologer</i> Transplantation _____	16
Tabelle 2.1-4:	Patientencharakteristik nach <i>Cord Blood</i> Transplantation _____	17
Tabelle 2.1-5:	Klinische Stadien- und Gradeinteilung der akuten GvHD _____	19
Tabelle 3.1-1:	Signifikanz des Engraftments zwischen den Transplantatgruppen _____	22
Tabelle 3.1-2:	Signifikanz des EK- und TK-Verbrauches zwischen den Transplantatgruppen_	26
Tabelle 3.3-1:	Prozentualer Anteil der Progenitorzellen an den mononukleären Zellen im KM	31
Tabelle 3.3-2:	Prozentualer Anteil der T-Zellen an den mononukleären Zellen im KM _____	33
Tabelle 3.3-3:	Prozentualer Anteil der T-Zellen an den mononukleären Zellen im PB _____	33
Tabelle 3.3-4:	CD4/CD8-Quotient des prozentualen Anteils der T-Zellen im KM und PB____	34
Tabelle 3.3-5:	Prozentualer Anteil der B-Zellen an den mononukleären Zellen im KM _____	37
Tabelle 3.3-6:	Prozentualer Anteil der B-Zellen an den mononukleären Zellen im PB _____	37
Tabelle 3.3-7:	Prozentualer Anteil der Monozyten an den mononukleären Zellen im KM____	40
Tabelle 3.3-8:	Prozentualer Anteil der Monozyten an den mononukleären Zellen im PB____	40
Tabelle 3.3-9:	Prozentualer Anteil der Granulozyten an den mononukleären Zellen im KM__	43
Tabelle 3.3-10:	Prozentualer Anteil der Granulozyten an den mononukleären Zellen im PB__	43
Tabelle 3.3-11:	Prozentualer Anteil der NK-Zellen an den mononukleären Zellen im KM____	46
Tabelle 3.3-12:	Prozentualer Anteil der NK-Zellen an den mononukleären Zellen im PB _____	46
Tabelle 3.3-13:	INFy-Werte im KM _____	49
Tabelle 3.3-13:	INFy-Werte im PB _____	49

Abkürzungen und Erläuterungen

Abb	Abbildung
AK	Antikörper
ALL	Akute Lymphatische Leukämie
<i>allogen unrelated</i>	allogen unverwandt
<i>allogen related</i>	allogen verwandt
AML	Akute Myeloische Leukämie
BFU	Burst Forming Unit
CB	Cord Blood
CD	Cluster of Differentiation, Differenzierungsantigen von Zellen
CD3	reife T-Zellen
CD4	T-Helferzellen
CD8	T-Suppressorzellen
CD14	Monozyten
CD15	Granulozyten
CD20	reife B-Zellen
CD34	Stammzellen/Progenitorzellen
CD56	NK-Zellen
CFU	Colony Forming Unit
CFU-GM	Colony Forming Unit Granulozyten + Makrophagen
CFU-Mix	Colony Forming Unit Granulozyten + Makrophagen + Burst
CML	Chronische Myeloische Leukämie
CMV	Cytomegalievirus
CRP	C-reaktives Protein
EK	Erythrozytenkonzentrate
G-CSF	Granulozyten-Colonien stimulierender Faktor
GM-CSF	Granulozyten-Makrophagen-Colonien stimulierender Faktor
GvLR	Graft-versus-Leukemia Reaktion
GvHD	Graft-versus-Host Reaktion
HLA	Human Leukocyte Antigen
HST	hämatopoetische Stammzelltransplantation
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M

IL	Interleukin
INF γ	Interferon γ
KM	Knochenmark
KMT	Knochenmarktransplantation
MNC	mononukleäre Zellen
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
m ² KOF	m ² Körperoberfläche
PB	peripheres Blut
PBST	periphere Stammzelltransplantation
PBSZ	periphere Stammzellen
PCR	Polymerase Chain Reaction
TK	Thrombozytenkonzentrate
VOD	veno-occlusive disease

1. Einleitung

1.1 Einführung in das Thema

Die Inzidenz maligner Erkrankungen bei Kindern und Jugendlichen bis zum 15. Lebensjahr beträgt 13,6/100 000 Kinder pro Jahr, wobei die pädiatrisch relevanten Leukämieformen 35,4% und die Lymphome 12,6% ausmachen (Kinderkrebsregister 1997). Ziel der klinischen Forschung ist es, eine an den Heilungserfolg adaptierte Behandlung durchzuführen, die möglichst geringe Akut- oder Spätfolgen für den Patienten aufweist. Bei entsprechenden Risikogruppen sind die *allogene* bzw. *autologe* Stammzelltransplantation als Therapieintensivierung in das Behandlungskonzept einzubeziehen (Burdach et al. 1997).

Eine der wichtigsten Entwicklungen in der Behandlung von onkologischen, hämatologischen und immunologischen Erkrankungen ist die Knochenmarktransplantation (KMT) (Kalwak et al. 2002, Ramsay & Kersey 1990, Thomas et al. 1975a&b) – terminologisch neu definiert als hämatopoetische Stammzelltransplantation (HST) (Lenarsky 1995). Vor der Durchführung einer HST ist es zunächst erforderlich, die Myeloablation des Empfängers durchzuführen (Konditionierung). Dazu werden die pathologischen Zellen durch eine hochdosierte Radio-/ Chemotherapie eliminiert.

Bei malignen hämatologischen Erkrankungen (Akute Lymphatische Leukämie [ALL] / Akute Myeloische Leukämie [AML] / Chronische Myeloische Leukämie [CML]), müssen die nach der myeloablativen Therapie eliminierten Stammzellen erneuert werden. Liegen solide Tumoren vor (z.B. Neuroblastom, Ewing-Sarkom), so dient die HST nach einer Hochdosistherapie einer Verkürzung der Knochenmarkaplasie oder -hypoplasie. Bei leerem Knochenmark (z.B. schwere aplastische Anämie) wird die fehlende Hämatopoese durch gesunde Stammzellen ersetzt.

Bei der hämatopoetischen Stammzelltransplantation unterscheidet man grundsätzlich die Verfahren der *allogenen* und der *autologen* Transplantation. Als Stammzellquelle werden entweder Knochenmark (KM), periphere Stammzellen (PB) oder Cord Blood (CB, plazentares Restblut) verwendet. Bei der *autologen* HST werden dem Patienten Knochenmark oder periphere Stammzellen entnommen, aufbereitet

und anschließend reinfundiert. Für die *allogene* Transplantation werden Knochenmark oder periphere Stammzellen verwendet, welche optimalerweise die gleiche HLA-Typisierung wie die des Empfängers aufweisen. Unterschieden werden bei diesem Verfahren die verwandte (*related*) und unverwandte (*unrelated*) Transplantation. Bei ersterer kommen als Spender primär nahe Verwandte (insbesondere HLA-identische Geschwister) in Frage, um Folgekomplikationen möglichst gering zu halten, bei letzterer handelt es sich um Fremdspender. *Cord Blood* repräsentiert eine neue Quelle von hämatopoetischen Stammzellen, die zunehmend für Transplantationen eingesetzt werden (Broxmeyer et al. 1989, Broxmeyer et al. 1991, Gluckman et al. 1989, Wagner et al. 1995).

Die Rekonstitution des Immunsystems kann abhängig von der Quelle der Stammzellen (Knochenmark, periphere Stammzellen oder Cord Blood) und der Art des Spenders (*autolog*, *allogene related* oder *unrelated*, *matched* oder *mismatched*) variieren (Lenarsky 1995). Im Vergleich zur Knochenmarktransplantation führt die periphere Stammzelltransplantation zu einer relativ kurzen Aplasie mit geringerer Morbidität und Mortalität und einem geringeren Bedarf an Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentraten (EK, TK) (Stachel 1999a).

Die Anzahl der Progenitorzellen im peripheren Blut gesunder Personen ist sehr gering. In der Rekonstitution nach einer Chemotherapie, insbesondere nach Mobilisation mit Granulozyten-Kolonien-stimulierendem Faktor (G-CSF), treten diese jedoch vermehrt auf (Höglund et al. 1996). Dies ist wahrscheinlich bedingt durch den Verlust von Adhäsionsmolekülen, die für die Anheftung an das Knochenmarkstroma wichtig sind (To et al. 1997).

Im Rahmen einer *autologen* Transplantation bieten mobilisierte Stammzellen Vorteile gegenüber Knochenmark aufgrund einer schnelleren hämatopoetischen Wiederherstellung (Beyer et al. 1995, Goldman et al. 1998, Schmitz et al. 1996b, Sheridan et al. 1992) und einem kürzeren Krankenhausaufenthalt. Heutzutage werden periphere Stammzellen als wichtigste Quelle der hämatopoetischen Progenitorzellen für *autologe* Transplantationen bei Kindern verwendet (Diaz et al. 2000). Auch im Rahmen von *allogenen* Familienspenden findet dieses Verfahren aufgrund seiner Vorteile zunehmend Verwendung (Bensinger et al. 1996, Blaise D 2000, Ottinger et al. 1996) und wird heute als eine Alternative zu Knochenmark

bewertet (Bensinger et al. 1995, Kessinger et al. 1989, Körbling et al. 1995a&b, Körbling et al. 1996, Miniero et al. 1999, Schmitz et al. 1995, Schmitz et al. 1996a).

Die Vorteile der Transplantation mit *Cord Blood* bestehen in der einfachen und sicheren Sammlung, sofortiger Verfügbarkeit, dem geringeren Risiko einer viralen Kontamination und einer niedrigeren Inzidenz einer Graft-versus-Host-Reaktion (GvHD) bei dem Empfänger (Locatelli et al. 1996). *Cord Blood* ist reich an Progenitorzellen und bietet den Vorteil einer höheren immunologischen Toleranz, als dieses von HLA (Human Leukocyte Antigen) -differenten Familien- oder Fremdspendern bekannt ist (Kögler et al. 1996). Unter Berücksichtigung der geringeren GvHD-Inzidenz können bei *Cord Blood* Transplantationen mehr HLA-Differenzen akzeptiert werden als bei Knochenmark- oder peripherer Stammzelltransplantation (O'Reilly et al. 1996). Die Annahme, dass das Engraftment nach *Cord Blood* Transplantation verzögert ist, konnte nicht bestätigt werden (Niehues et al. 2001).

Nach der Transplantation der Stammzellen kommt es zum Engraftment, d.h. dem Anwachsen des Transplantates und dem Erscheinen von Leukozyten im peripheren Blut. Dies geschieht, indem die infundierten Stammzellen wieder ins Knochenmark gelangen und dort mit den Stromazellen der extramedullären Matrix interagieren. Die dort gebundenen hämatopoetischen Wachstumsfaktoren, wie z.B. Granulozyten-Makrophagen-Colonien-stimulierender Faktor (GM-CSF) und Interleukin 3 (IL3), werden den Stammzellen zur Verfügung gestellt (Gordon & Greaves 1989, Moore 1991). Durch die Wachstumsfaktoren und das IL3 proliferieren die myeloetischen Progenitorzellen zu Makrophagen und Granulozyten und differenzieren sich (Metcalf 1986). Das Engraftment wird definiert als der Zeitpunkt, an dem die Zahl der neutrophilen Granulozyten konstant $>500/\mu\text{l}$ ist bzw. die Leukozytenzahl $1000/\mu\text{l}$ beträgt und lässt sich an einem Anstieg der Leukozyten, Thrombozyten und Erythrozyten erkennen. Sind am Tag +28 nach *allogener* und *autologer* Transplantation im peripheren Blut <500 Granulozyten/ μl nachweisbar, spricht man von einem graft failure (Stachel 1999b).

Die Zeit nach einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation lässt sich in verschiedene Phasen einteilen:

- Die Frühphase der Aplasie bis zum Engraftment mit dem Risiko für bakterielle und mykotische Infektionen
- Die Stabilisierungsphase mit dem Risiko für virale Infektionen und der Entwicklung einer chronischen GvHD
- Die Spätphase mit der Normalisierung der Immunfunktionen

Viele Faktoren beeinflussen die Immunrekonstitution, wie z.B. Infektionen, eine akute oder chronische GvHD und die Histokompatibilität zwischen Spender und Empfänger. Ebenso scheint das Alter des Empfängers eine entscheidende Rolle zu spielen (Storek et al. 1995). Bei der GvHD reagieren immunkompetente T-Lymphozyten des Transplantats im Rahmen einer Transplantat-gegen-Wirt Reaktion gegen Antigenstrukturen des immunsupprimierten Empfängergewebes (Ferrara et al. 1991, Thomas et al. 1975b). Als positiver Effekt der akuten GvHD ist der Graft-versus-Leukemia Effekt (GvLR) zu beobachten, der von großer klinischer Bedeutung ist. Dabei wird angenommen, dass die transplantierten T-Zellen des Spenders auch fremde Antigene auf den Tumorzellen des Empfängers erkennen und diese zerstören. Dies trägt zusätzlich zur Tumorzellreduktion und zur Minderung von Rezidiven bei (De Lima et al. 2001). Nach *allogener* Transplantation konnte gezeigt werden, dass die Graft-versus-Leukemia Reaktion mit dem Auftreten einer GvHD korreliert (Slavin et al. 1990, Sosman et al. 1993). An der GvHD wirken unterschiedliche immunkompetente Zellen mit, wobei den T-Zellen eine zentrale Bedeutung zukommt. „Diese Reaktion kann sich an allen Geweben mit lymphoiden Zellen und epithelialen Strukturen manifestieren, besonders aber an den 3 großen Zielorganen Haut, Leber und Gastrointestinaltrakt“ (Karrer 2003). Die etablierte Prophylaxe der GvHD besteht in der Gabe von Methotrexat, Cyclosporin A und Kortison (Casper et al. 1995).

Das Auftreten einer GvHD wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst. Hierzu zählen in erster Linie das HLA-mismatch und die unverwandte HST (Casper et al. 1995). Des Weiteren ist das Risiko erhöht bei

- Transplantaten von Spendern des anderen Geschlechts,
- mit zunehmendem Alter des Spenders (Gale et al. 1987),
- einem CMV-positiven Spender oder Empfänger,
- der Art der hämatologischen oder genetischen Störung,

- der Art der GvHD-Prophylaxe,
- der Durchführung einer T-Zell Depletion und
- dem Stadium der Erkrankung zum Zeitpunkt der Transplantation

(Bacigalupo et al. 1993, Gale et al. 1987). Deshalb ist die frühe und präzise Diagnose von größter Wichtigkeit. Patienten nach einer *Cord Blood* Transplantation haben bisher eine niedrigere GvHD-Inzidenz, ohne dass sie ein erhöhtes Rezidivrisiko haben (Wagner et al. 1996).

Bakterielle und mykotische Infektionen bei Kindern nach einer Knochenmarktransplantation stellen eine bedeutende Ursache für Morbidität und Mortalität dar (Engelhard et al. 1986). Die zunehmende Resistenz einer Vielfalt von pathogenen Keimen ist von großer Bedeutung und limitiert die Durchführung einer Antibiotikaprophylaxe (Engelhard 1998). Die vorherrschenden pathogenen Keime in der Frühphase nach KMT, während der Neutropenie, sind gramnegative (*E. coli*, *K. pneumoniae* und *P. aeruginosa*) und grampositive (*S. viridans* und *E. faecalis*) Bakterien sowie Pilze (*Candida* und *Aspergillus*) (Elishoov et al. 1998). In den letzten Jahren hat die Häufigkeit von invasiven Pilzinfektionen mit hoher Mortalitätsrate zugenommen (Engelhard et al. 1997, Weinberger et al. 1997).

Der Erfolg der Transplantation wird anhand einer kompletten und anhaltenden Remission und der prozentualen Morbidität bzw. Mortalität beurteilt (Charbonnier et al. 1997). Die Rekonstitution des Immunsystems ist erforderlich für ein Langzeitüberleben nach KMT (Lenarsky 1995). Nach einer *autologen* oder *allogenen* Transplantation besteht bei den Patienten ein bis zu zwei Jahre anhaltender zellulärer und humoraler Immundefekt (Foot et al. 1993, Keever et al. 1989, Lum 1987, Soiffer et al. 1990). Bis zu einem Jahr nach Transplantation weisen die myelo- und monozytären Zellen Mißverhältnisse in ihrer absoluten Anzahl und relativen Zusammensetzung auf (Lum 1987, Velardi et al. 1988). Man erwartet, dass der erste Schritt der immunologischen Rekonstitution nach *Cord Blood* Transplantation weniger effektiv als nach KMT ist, berücksichtigt man die geringe Zahl und die Unreife der transfundierten *Cord Blood* Lymphozyten (Harris et al. 1994, Keever et al. 1995), die zudem eher eine Suppressor- als eine Helferaktivität zeigen (Andersson et al. 1981, Jacoby et al. 1984, Maccario et al. 1987).

Die Monozyten sind bis zu einem Jahr nach Transplantation deutlich erhöht, wohingegen die Granulozyten nach vier bis sechs Wochen Normalwerte erreichen. Ebenso sind die natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) während des ersten Jahres absolut und relativ erhöht (Bengtsson et al. 1989, Jacobs et al. 1992). Die Phagozytosefähigkeit und Antigenpräsentation der Monozyten kehren nach sechs Wochen zurück (Tsoi et al. 1984) und die gestörte Chemotaxis der Granulozyten bei normaler Phagozytose bleibt bis zu vier Monate nach allogener Transplantation bestehen (Sosa et al. 1980). Die NK-Zellen weisen ihre Fähigkeit zur Zellyse nach ein bis zwei Monaten wieder auf (Keever et al. 1989).

Der relative und absolute Anteil der B-Lymphozyten ist innerhalb der ersten sechs Monate nach *allogener* Transplantation stark vermindert (Charbonnier et al. 1997). Die Produktion der Immunglobuline (IgG und IgM) durch die B-Lymphozyten setzt erst nach etwa vier Monaten wieder ein (Foot et al. 1993, Keever et al. 1989).

Der relative und absolute Anteil der T-Lymphozyten (Foot et al. 1993, Gratama et al. 1989) sowie die absolute Zahl der T-Helferzellen sind bei nahezu normaler Anzahl der T-Suppressorzellen reduziert, so dass sich ein verminderter CD4/CD8-Quotient ergibt (Bengtsson et al. 1989, Velardi et al. 1988), der für etwa ein Jahr bestehen bleibt. Entwickelt sich eine GvHD, verändert sich der inverse CD4/CD8-Quotient nicht (Witherspoon et al. 1984).

Die gestörte Zytokinsynthese ist ein weiterer Aspekt der zellulären immunologischen Fehlfunktion. Zytokine spielen eine wichtige Rolle sowohl als interzelluläre Botenstoffe zwischen Leukozyten als auch zwischen Leukozyten und anderem nicht immunologischem Gewebe (Cunningham et al. 1993). Zytokine werden von aktivierten Zellen, insbesondere T-Zellen, produziert und vermitteln die Kommunikation des humoralen und zellulären Immunsystems. Zytokine induzieren nicht nur ihre eigene Produktion in den Zellen, sondern auch die anderer Zytokine, so dass ihre eigene Funktion verstärkt wird und weitere Zellpopulationen in die Immunantwort mit einbezogen werden können (Dinarello & Mier 1987, Ramsay et al. 1993). Durch schwerwiegende Komplikationen nach einer Transplantation, wie z.B. eine VOD (veno-occlusive disease), eine GvHD sowie bakterielle und virale Infektionen, wird die Zytokin-Produktion beeinflusst (Antin et al. 1992, Holler et al. 1990, Jadus et al. 1992, Lum 1987, Niederwieser et al. 1990, Siegert et al. 1990).

Durch die verminderte CD4/CD8-Ratio kommt es nach *allogener* und *autologer* Transplantation zu einer reduzierten Interleukin 2 (IL2) -Synthese. IL2 wird von aktivierten Lymphozyten gebildet und fördert dort die Differenzierung und Proliferation der zytotoxischen T-Zellen, der B-Lymphozyten und der NK-Zellen (Smith 1993). In Anwesenheit des IL2-Rezeptors wird Interferon γ (INF γ) von aktivierten T-Lymphozyten produziert (Grabstein et al. 1986, Waldmann 1986). Durch INF γ wird wiederum die Proliferation und Differenzierung von NK-Zellen sowie T- und B-Lymphozyten gefördert. Nach *autologer* und *allogener* Transplantation ist das INF γ im Plasma während der ersten dreißig Tage post transplantationem vermindert. Nach *allogener* Transplantation sind die Werte jedoch vergleichbar mit denen der Kontrollgruppe (Hananberg et al. 1995).

Nach einer KMT werden weniger hämatopoetische Wachstumsfaktoren gebildet. Nach in vitro Stimulation ist die Synthese von GM-CSF vermindert (Thomas et al. 1990). GM-CSF stimuliert Granulozyten und Makrophagen. Die Substitution von rekombinanten GM-CSF nach einer KMT kann dazu genutzt werden, die granulozytär-monozytäre Colony Forming Unit (CFU) zu stimulieren, um die Zeit der Aplasie zu verkürzen (Brandt et al. 1988, Nemunaitis et al. 1988). Verglichen mit der KMT, bei der der Gebrauch hämatopoetischer Wachstumsfaktoren eine signifikant schnellere Wiederherstellung der myeloischen Zellen zeigt (Locatelli et al. 1996, Schriber et al. 1994), scheint die Verwendung dieser Zytokine bei *Cord Blood* Transplantation die Reduktion und Rekonstitution der Neutrophilen nicht zu beeinflussen (Wagner et al. 1995).

1.2 Zielsetzung der Arbeit

In der folgenden Arbeit wird untersucht, ob *in vitro* Untersuchungen nach einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation relevante Voraussagen über den klinischen Verlauf der transplantierten Patienten ermöglichen.

Die Patienten wurden anhand der Transplantationsart (*allogen unrelated*, *allogen related*, *autolog* und *Cord Blood*) verschiedenen Gruppen zugeteilt.

Es erfolgten Untersuchungen in definierten Zeiträumen nach der Transplantation (Tag 0 [Tag der Transplantation], Tag 20-60, Tag >100 und Tag >180). Dabei wurden die Progenitorzellen, die T- und B-Lymphozyten, die Monozyten, die Granulozyten und die NK-Zellen mittels Facs-Analysen sowie der INF γ -Wert mittels Zytokinmessung bestimmt. Als Bezugsparameter für den klinischen Verlauf der Patienten wurden der Zeitpunkt des leukozytären Engraftments, die Inzidenz und die Ausprägung einer GvHD, das Auftreten von akuten Infektionen sowie der Verbrauch von Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentraten untersucht und mit der transplantierten mononukleären Zellzahl (MNC) und dem absoluten Anteil der transplantierten Progenitorzellen (CD34+) korreliert.

2. Patienten und Methode

2.1 Patienten

In der Zeit zwischen Januar 1995 und Dezember 1998 erhielten in der Kinderklinik der Heinrich-Heine-Universität in Düsseldorf 83 Patienten mit benigner oder maligner hämatopoetischer Grunderkrankung eine *allogene* oder *autologe* hämatopoetische Stammzelltransplantation (HST) mit Knochenmark, peripheren Stammzellen oder Cord Blood.

Die Ausschlusskriterien für die Studie wurden wie folgt definiert: Vorliegen einer nicht hämatopoetischen Grunderkrankung (z.B. Mamma-Ca), ein zu hohes Alter oder ein zu geringer Datensatz der Patienten. 65 Patienten erfüllten letztendlich die Voraussetzungen für die Auswertung und wurden in die Studie miteinbezogen. Ein Patient ist sowohl in der *allogen unrelated* Gruppe als auch in der *Cord Blood* Gruppe aufgeführt. Daher ergibt sich eine Summe von insgesamt 66 Transplantationen.

Anhand der Transplantationsarten wurden die Patienten vier verschiedenen Gruppen zugeteilt: 1. *allogen unrelated*, 2. *allogen related*, 3. *autolog*, 4. *Cord Blood*

Das Alter aller Patienten lag zwischen vier Monaten und 23 Jahren, der Mittelwert betrug 9,1 Jahre.

Als Stichtag für die Auswertung wurde der 31.10.1999 festgelegt.

Tabelle 2.1-1: Patientencharakteristik nach *allogen unrelated* Transplantation (n=13)

GRUNDERKRANKUNG	TRANS-PLANTAT	CHEMOTHERAPIE	GANZKÖRPER-BESTRAHLUNG (12 GY)
Cong. Erythr. Porphyrie	KM match	ALG Busulfan Cyclophosphamid	-
MDS / AML	KM match	VP 16 Cyclophosphamid	+
c-ALL	KM match	ALG VP 16 Busulfan	-
AML	KM mismatch	VP 16 Cyclophosphamid	+
CML	KM mismatch	Cyclophosphamid	+
MDS / AML (sek.)	KM match	Cyclophosphamid	+
MDS (sek.)	KM match	Cyclophosphamid	+
NHL	PB match	ALG VP 16 Busulfan	-
T-ALL	KM match	VP 16 Cyclophosphamid	+
aplastische Anämie	KM match	ALG Cyclophosphamid	+
T-NHL	KM	ALG VP 16 Busulfan	-
Amegakaryozytäre Thrombozytopenie	KM	ALG Thiotepa Fludarabine	-
prä-prä B-ALL	KM mismatch	VP 16 Cyclophosphamid	+

Tabelle 2.1-2: Patientencharakteristik nach *allogen related* Transplantation (n=24)

GRUNDERKRANKUNG	TRANS- PLANTAT	CHEMOTHERAPIE	GANZKÖRPER- BESTRAHLUNG (12 GY)
FEL	PB match	VP 16 Busulfan Cyclophosphamid	-
AML	PB match	Busulfan Cyclophosphamid	-
ALL	PB match	VP 16	+
MDS / AML	PB match	Busulfan Cyclophosphamid	-
CML	PB match	Busulfan Cyclophosphamid	-
MDS	KM match	Busulfan Melphalan Cyclophosphamid	-
T-ALL	PB mismatch	Cyclophosphamid	+
AML	PB	VP 16 Cyclophosphamid	+
M. Hogkin IVb	PB mismatch	ALG Busulfan Fludarabine	-
FEL	PB	Busulfan Cyclophosphamid	-
AML / MDS	PB	ALG Busulfan Fludarabine	-
aplastische Anämie	KM match	ALG Cyclophosphamid	-
Wiscott-Aldrich-Syndrom	PB match	ALG Busulfan Cyclophosphamid	-
MDS	KM match	Busulfan Melphalan Cyclophosphamid	-
aplastische Anämie	KM	ALG Cyclophosphamid	-
AML	PB match	Busulfan Melphalan Cyclophosphamid	-
juvenile CML	PB match	Busulfan Melphalan Cyclophosphamid	-
prä B-ALL	PB match	VP16 Cyclophosphamid	+
FEL	PB	Busulfan Cyclophosphamid	-
c-ALL	KM match	VP 16 Etoposid	+
T-NHL	PB mismatch	VP 16 Cyclophosphamid	+
AML	KM match	Busulfan Cyclophosphamid	-
Fanconi-Anämie	KM	Cyclophosphamid	+
T-ALL	PB match	VP16 Cyclophosphamid	+

Tabelle 2.1-3: Patientencharakteristik nach *autologer* Transplantation (n=23)

GRUNDERKRANKUNG	TRANS-PLANTAT	CHEMOTHERAPIE	GANZKÖRPER-BESTRAHLUNG (12 GY)
Ewing Sarkom	PB	Busulfan	-
Nephroblastom	PB	VP 16 Melphalan Carboplatin	-
Chondrosarkom	PB	VP 16 Cysplatin Iphosphamid	-
MPNT	PB	Busulfan	-
Rhabdomyosarkom	PB	Melphalan Cyclophosphamid	+
MPNT	PB	VP 16 Melphalan	-
Ewing Sarkom	PB	VP 16 Melphalan	-
Ewing Sarkom	PB	VP 16 Melphalan	-
Keinzelltumor	KM	VP 16 Melphalan Carboplatin	-
B-Zell-Lymphom	PB	VP 16 Busulfan Cyclophosphamid	-
AML	KM	Cytorabin Methoxantrom	-
Neuroblastom	PB	VP 16 Melphalan Carboplatin	-
Neuroblastom IV	PB	VP 16 Melphalan Carboplatin	-
Ewing-Sarkom	PB	VP 16 Melphalan	-
Rhabdomyosarkom	PB	VP 16 Melphalan	+
Neuroblastom IV	PB	VP 16 Melphalan	-
Neuroblastom IV	PB	VP 16 Melphalan Carboplatin	-
Ewing Sarkom	PB	VP 16 Melphalan	+
Osteosarkom	PB	Busulfan	-
Medulloblastom	PB	Busulfan Thiotepa	-
Osteosarkom	PB	VP 16 Melphalan	-
M. Hodgkin	PB	VP 16 BCNU Idarubicin Cyclophosphamid	-
Ewing-Sarkom	PB	Etoposid Melphalan	-

Tabelle 2.1-4: Patientencharakteristik nach Cord Blood Transplantation (n=6)

GRUNDERKRANKUNG	TRANS-PLANTAT	CHEMOTHERAPIE	GANZKÖRPER-BESTRAHLUNG (12 GY)
AML	CB mismatch	VP 16 Cyclophosphamid	+
CML	CB mismatch	ALG Busulfan Cyclophosphamid	-
CML	CB match	ALG Busulfan Cyclophosphamid	-
prä B-ALL	CB mismatch	Cyclophosphamid	+
prä-prä B-ALL	CB mismatch	VP 16 cyclophosphamid	-
prä B-ALL	CB mismatch	VP 16 ALG	+

2.2 Untersuchungsparameter

Die Patienten wurden in definierten Zeiträumen nach der Transplantation (Tag 0 [Tag der Transplantation], Tag 20-60, Tag >100 und Tag >180) untersucht. Dabei wurden die Progenitorzellen, die T- und B-Lymphozyten, die Monozyten, die Granulozyten und die NK-Zellen mittels Facs-Analysen sowie der INF γ -Wert mittels Zytokinmessung bestimmt. Als Bezugsparameter für den klinischen Verlauf der Patienten wurde der Zeitpunkt des leukozytären Engraftments, die Inzidenz und die Ausprägung einer GvHD, das Auftreten von akuten Infektionen sowie der Verbrauch von Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentraten untersucht und mit der transplantierten mononukleären Zellzahl (MNC) und dem absoluten Anteil der transplantierten Progenitorzellen (CD34+) korreliert. Diese Daten waren jedoch, insbesondere zu den späteren Untersuchungszeitpunkten, nicht immer verfügbar, so dass teilweise ein geringerer Datensatz zustande gekommen ist. Dies lässt sich dadurch erklären, dass Patienten bereits vorher verstorben waren oder nicht mehr zu den Nachuntersuchungen erschienen sind.

2.2.1 Immunologischer Phänotyp

Die absolute Zahl der Progenitorzellen (CD34+), der T-Lymphozyten (CD3+), der T-Helferzellen (CD4+), der T-Suppressorzellen (CD8+), der B-Lymphozyten (CD20+), der Monozyten (CD14+), der Granulozyten (CD15+) und der NK-Zellen (CD56+)

wurde mittels der Durchflußzytometrie (FACStar plus oder FACScan; Becton Dickinson, Heidelberg, FRG) im Knochenmark und im peripheren Blut analysiert. Die Auswertung des relativen Anteils der einzelnen Subpopulationen erfolgte in Bezug auf die in der Zellkultur vorhandenen mononukleären Zellen (Hananberg et al. 1995, Raffael, Nebe & Valet, Grundlagen der Durchflußzytometrie).

2.2.2 Zytokinbestimmung

Die mononukleären Zellen wurden vor der Zellkultur mittels der Dichtegradientenzentrifugation (Ficoll-Isopaque) aus Vollblut isoliert, das Plasma wurde asserviert. 1×10^6 MNC/ml Kulturmedium wurden nach Stimulation mit 100 ng/ml CD3 mAb (BMA 030, Behring, FRG) oder in Anwesenheit von 100 U/ml IL2 (EuroCetus, Frankfurt, FRG) kultiviert. Nach dreitägiger Kultur wurde im zellfreien Überstand die Konzentration von INF γ (IRMA, Medgenix, Brüssel, Belgium) gemessen (Messbereich 0-90 U/ml). Zusätzlich wurde die Konzentration von INF γ im Plasma bestimmt (Hananberg et al. 1995).

Die Bestimmung des immunologischen Phänotyps und der Zytokinmessungen erfolgten im Labor für Stammzelltransplantation und Experimentelle Hämatologie der Klinik für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und -Immunologie an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

2.2.4 Leukozytäres Engraftment

Als leukozytäres Engraftment wurde der Zeitpunkt bezeichnet, an dem die Zahl der neutrophilen Granulozyten konstant größer als 500/ μ l war. Sofern dieser Wert nicht vorhanden war, wurde für die Analyse der Tag gewählt, an dem die Leukozytenzahl konstant 1000/ μ l betrug. Das erythrozytäre und thrombozytäre Engraftment wurde anhand der benötigten Erythrozytenkonzentrate und Thrombozytenkonzentrate bestimmt (EK/kg KG und TK/m² KOF).

2.2.5 Infektionen

Im Rahmen dieser Studie wurden zur Diagnose einer bakteriellen Infektion Blutkulturen und Abstriche, zur Diagnose einer Cytomegalievirus (CMV) -Infektion eine qualitative PCR (Polymerase Chain Reaction) durchgeführt. Der serologische CMV-Status von Spender und Empfänger wurde nicht zur Grundlage der Auswertung gemacht. Die folgenden Kriterien wurden für die Auswertung der Befunde zugrunde gelegt:

Bei gleichzeitigem Vorliegen von subjektiven oder objektiven Krankheitszeichen (Fieber, Schmerzen, Schwellung, Organdysfunktion, Anstieg der Entzündungsparameter wie Leukozyten und C-reaktives Protein [CRP]) wurde dies als Infektion gewertet und in die Auswertung einbezogen. Eine Candida-Infektion wurde angenommen bei Nachweis von Candida in zwei unterschiedlichen Abstrichen und klinischer Symptomatik bei anhaltendem Fieber >96h unter adäquater Antibiotikatherapie. Bei einer Sepsis handelte es sich um eine Allgemeininfektion mit Krankheitserscheinungen, die infolge konstanter oder periodischer Aussaat von Mikroorganismen (Bakterien, Pilze) von einem Herd aus in die Blutbahn auftreten.

2.2.6 GvHD

Der Schweregrad der GvHD wurde nach den von Thomas et al. publizierten Kriterien (Tabelle 2.1-5) vorgenommen (Thomas et al. 1975b).

Tabelle 2.1-5: Klinische Stadien- und Gradeinteilung der akuten GvHD

STADIUM	HAUT	LEBER	DARM
1	Makulopapulöses Exanthem (<25% der KOF)	Bilirubin 2-3 mg/dl	Diarrhöen 500-1000 ml/Tag
2	Makulopapulöses Exanthem (>25% der KOF)	Bilirubin 3-6 mg/dl	Diarrhöen 1000-1500 ml/Tag
3	Erythrodermie	Bilirubin 6-15 mg/dl	Diarrhöen >1500 ml/Tag
4	Blasige Umwandlung (i. S. einer tox. Epidermolyse)	Bilirubin >15 mg/dl	Schmerzen oder Ileus
GRAD	HAUT	LEBER	DARM
I	Stadium 1-2	0	0
II	Stadium 1-3	1	1
III	Stadium 2-3	2-3	2-3
IV	Stadium 2-4	2-4	2-4

2.3 Statistik

Aus den Einzelmessungen der mononukleären Subpopulationen, der Zytokine und der Colony-Assays am Tag 0 [Tag der Transplantation], am Tag 20-60, am Tag >100 und am Tag >180 nach der Transplantation wurden in jeder Gruppe und für jeden Zeitraum die Mittelwerte gebildet und miteinander verglichen.

Die statistische Untersuchung erfolgte mit dem *Student* t-Test für verbundene und unverbundene Stichproben. Bei multipler Testung der gleichen Patienten wurde ein signifikanter Unterschied für eine Irrtumswahrscheinlichkeit mit $p < 0.01$ festgelegt. Bei einer Signifikanzschränke von $p < 0.05$ wurde dieser Wert zu Informationszwecken in der Diskussion in Klammern eingefügt.

Alle Tabellen sind mit Mittelwert und Standardabweichung versehen. In einigen der folgenden Diagramme wurde „p“ für das Signifikanzniveau und „r“ für den Korrelationskoeffizienten verwendet.

3. Ergebnisse

3.1 Allgemeine Daten nach Transplantation

3.1.1 Transplantierte mononukleäre Zellen (MNC), Stammzellen (CD34+) u. T-Zellen (CD3+)

allogen unrelated (n=13)

12 Patienten dieser Gruppe erhielten Knochenmark und ein Patient periphere Stammzellen. Die *allogen unrelated* transplantierten Patienten erhielten durchschnittlich $10.7 \pm 9.2 \times 10^8/\text{kg KG}$ MNC (n=13), $3 \pm 3 \times 10^6/\text{kg KG}$ CD34-Zellen (n=8) und $2.04 \pm 2 \times 10^8/\text{kg KG}$ CD3-Zellen (n=9).

allogen related (n=24)

17 der 24 Patienten dieser Gruppe wurden mit peripheren Stammzellen und sieben mit Knochenmark transplantiert. Die mit KM transplantierten Patienten dieser Gruppe wurden als Subgruppe analysiert. Die durchschnittlich transplantierte Zellzahl lag bei $13.1 \pm 6.6 \times 10^8/\text{kg KG}$ MNC (n=14) [PBSZ] bzw. $4.8 \pm 1.7 \times 10^8/\text{kg KG}$ MNC (n=7) [KM], $7.7 \pm 3.7 \times 10^6/\text{kg KG}$ CD34-Zellen (n=17) [PBSZ] bzw. $5.6 \times 10^6/\text{kg KG}$ CD34-Zellen (n=1) [KM] und $5.6 \pm 5.2 \times 10^8/\text{kg KG}$ CD3-Zellen (n=10) [PBSZ] bzw. $0.2 \pm 0.2 \times 10^8/\text{kg KG}$ CD3-Zellen (n=2) [KM].

autolog (n=23)

21 Patienten dieser Gruppe erhielten periphere Stammzellen und zwei Patienten Knochenmark. Die *autologen* Patienten erhielten im Durchschnitt $5.6 \pm 3.7 \times 10^8/\text{kg KG}$ MNC (n=21), $5 \pm 4 \times 10^6/\text{kg KG}$ CD34-Zellen (n=23) und $0.86 \pm 0.75 \times 10^8/\text{kg KG}$ CD3-Zellen (n=21).

Cord Blood (n=6)

Sechs Patienten wurden in dieser Gruppe mit *Cord Blood* transplantiert. Die durchschnittlich transplantierte Zellzahl lag bei $10.5 \pm 14.5 \times 10^7/\text{kg KG}$ MNC (n=6), $6.1 \pm 10.5 \times 10^5/\text{kg KG}$ CD34-Zellen (n=5) und $1.0 \times 10^7/\text{kg KG}$ CD3-Zellen (n=1).

3.1.2 Leukozytäres Engraftment und Graft failure

allogen unrelated (n=13)

Das Engraftment trat bei den *allogen unrelated* transplantierten Patienten durchschnittlich am Tag 18.2 +/- 6.5 (n=12) ein. Ein Graft failure trat bei einem Patienten auf.

allogen related (n=24)

Die *allogen related* transplantierten Patienten engrafteten durchschnittlich am Tag 13.3 +/- 5.2 (n=17) [PBSZ] bzw. 19.8 +/- 6.3 (n=5) [KM] nach HST. Ein Graft failure trat bei zwei Patienten in der KM-Gruppe auf. In der PBSZ-Gruppe hatte kein Patient ein Graft failure.

autolog (n=23)

Bei den *autologen* Patienten trat das Engraftment durchschnittlich am Tag 9.7 +/- 1.6 (n=17) ein, die Aplasiephase war signifikant kürzer als bei den beiden vorgenannten Gruppen. Ein Graft failure trat bei einem Patienten auf.

Cord Blood (n=6)

Das Engraftment der mit *Cord Blood* transplantierten Patienten lag im Durchschnitt am Tag 27.2 +/- 5.1 (n=5) nach HST, die Aplasiephase war signifikant länger als die der vorgenannten drei Gruppen. Ein Graft failure trat bei einem Patienten auf.

Tabelle 3.1-1: Signifikanz des Engraftments zwischen den Transplantatgruppen

TRANSPLANTAT-GRUPPE	ALLOGEN UNRELATED	ALLOGEN RELATED PBSZ	ALLOGEN RELATED KM	AUTOLOG	CORD BLOOD
ALLOGEN UNRELATED		X		XXX	X
ALLOGEN RELATED PBSZ	X		X	X	XXX
ALLOGEN RELATED KM		X		X	
AUTOLOG	XXX	X	X		XXX
CORD BLOOD	X	XXX		XXX	

X=p<0.05, XX=p<0.01, XXX=p<0.005

3.1.3 GvHD

allogene unrelated (n=13)

Sechs der *allogene unrelated* transplantierten Patienten hatten eine GvHD \leq II^o, bei zwei Patienten lag eine GvHD $>$ II^o vor. Bei zwei weiteren Patienten bestand der Verdacht auf eine GvHD I^o bzw. II^o (Abb. 3.1-1).

allogene related (n=24)

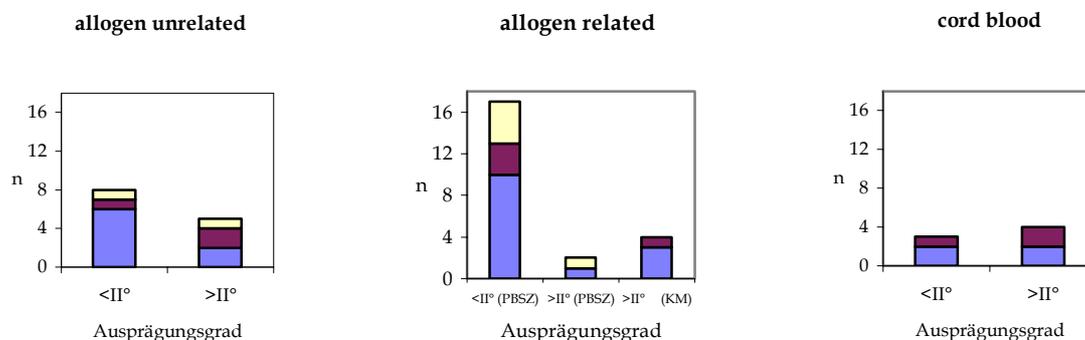
Zehn Patienten der *allogene related* PBSZ-Gruppe entwickelten eine GvHD \leq II^o, in der KM-Gruppe hatte kein Patient eine GvHD \leq II^o. Bei einem Patienten [PBSZ] bzw. drei Patienten [KM] lag eine GvHD $>$ II^o vor (Abb. 3.1-1).

Cord Blood (n=6)

Zwei Patienten der *Cord Blood*-Gruppe hatten eine GvHD \leq II^o und bei zwei Patienten lag eine GvHD $>$ II^o vor (Abb. 3.1-1).

Die GvHD lag bei allen Patienten in Form einer kutanen GvHD vor. Bei etwa der Hälfte aller Patienten bestand zusätzlich eine intestinale und/oder eine hepatische GvHD (Abb. 3.1-1).

Abb. 3.1-1: Inzidenz der GvHD – ■ kutan, ■ intestinal und ■ hepatisch



3.1.4 Infektionen

allogen unrelated (n=13)

Eine CMV-Infektion trat bei zwei Patienten auf, eine bakterielle Infektion bei sieben Patienten und eine Infektion mit *Candida albicans* bei zwei Patienten nach *allogen unrelated* Transplantation. Vier Patienten dieser Gruppe erkrankten an einer Sepsis (Abb.3.1-2 [S.25]).

allogen related (n=24)

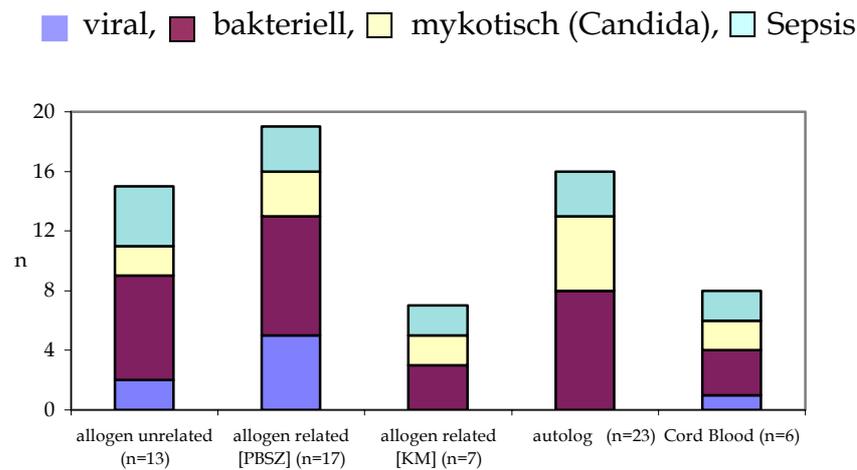
In der PBSZ-Gruppe erkrankten fünf Patienten an einer CMV-Infektion, acht Patienten an einer bakteriellen Infektion und drei Patienten an einer Infektion mit *Candida albicans*. In der KM-Gruppe trat bei keinem Patienten eine CMV-Infektion auf. Drei Patienten erkrankten an einer bakteriellen Infektion und zwei Patienten an einer Infektion mit *Candida albicans*. Bei drei Patienten [PBSZ] bzw. bei zwei Patienten [KM] trat eine Sepsis auf (Abb.3.1-2 [S.25]).

autolog (n=23)

Nach *autologer* Transplantation trat eine CMV-Infektion bei keinem Patienten auf, eine bakterielle Infektion bei acht Patienten und eine Infektion mit *Candida albicans* bei fünf Patienten. Drei Patienten erkrankten an einer Sepsis (Abb.3.1-2 [S.25]).

Cord Blood (n=6)

An einer CMV-Infektion erkrankte ein Patient, an einer bakteriellen Infektion drei Patienten und an einer Infektion mit *Candida albicans* zwei Patienten nach Transplantation mit *Cord Blood*. Bei zwei Patienten trat eine Sepsis auf (Abb.3.1-2 [S.25]).

Abb.3.1-2: Inzidenz von akuten Infektionen / Sepsis

3.1.5 Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentratverbrauch

allogene unrelated (n=13)

Die *allogene unrelated* transplantierten Patienten erhielten 0.4 ± 0.4 EK/kg KG (n=12) und 57 ± 58 TK/m² KOF (n=12).

allogene related (n=24)

Der Bedarf an Erythrozytenkonzentraten lag bei den *allogene related* transplantierten Patienten bei 0.32 ± 0.3 EK/kg KG [PBSZ] (n=17) bzw. 0.46 ± 0.3 EK/kg KG [KM] (n=7). Der Bedarf an Thrombozytenkonzentraten betrug 22 ± 24 TK/m² KOF [PBSZ] (n=17) bzw. 40 ± 25 TK/m² KOF [KM] (n=7).

autolog (n=23)

Die *autolog* transplantierten Patienten erhielten 0.09 ± 0.07 EK/kg KG (n=17) und 10 ± 11 TK/m² KOF (n=18).

Cord Blood (n=6)

Die Anzahl der benötigten Erythrozytenkonzentrate betrug bei den mit *Cord Blood* transplantierten Patienten 0.81 ± 0.48 EK/kg KG (n=5), die Anzahl der benötigten Thrombozytenkonzentrate betrug 83 ± 82 TK/m² KOF (n=5).

Tabelle 3.1-2: Signifikanz des EK- und TK-Verbrauches zwischen den Transplantatgruppen

TRANSPLANTAT-GRUPPE	ALLOGEN UNRELATED	ALLOGEN RELATED PBSZ	ALLOGEN RELATED KM	AUTOLOG	CORD BLOOD
ALLOGEN UNRELATED				X (EK) X (TK)	
ALLOGEN RELATED PBSZ				XX (EK)	X (EK)
ALLOGEN RELATED KM				X (EK) X (TK)	
AUTOLOG	X (EK) X (TK)	XX (EK)	X (EK) X (TK)		X (EK)
CORD BLOOD		X (EK)		X (EK)	

X=p<0.05, XX=p<0.01, XXX=p<0.005

3.2 Korrelation der Transplantationsdaten

In diesem Kapitel wird überprüft, ob ein Zusammenhang zwischen den transplantierten CD34- und MNC-Zahlen, den benötigten Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentraten und dem Zeitpunkt des Engraftments besteht.

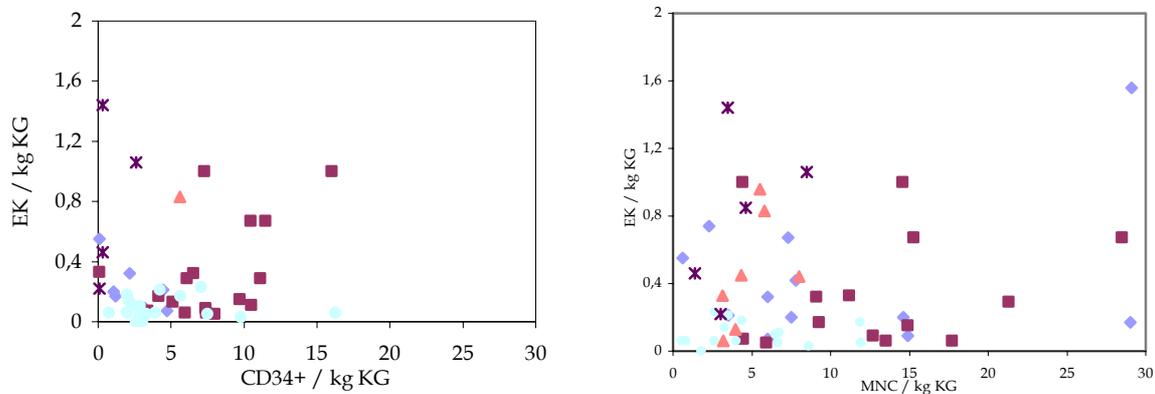
3.2.1 Korrelation zwischen transplantierten Progenitorzellen (CD34+) und mononukleären Zellen (MNC) und benötigten Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentraten

Mit Anzahl der transplantierten CD34-Zellen pro kg KG scheint der Erythrozytenkonzentratverbrauch in der Gruppe der *allogen related* [PBSZ] transplantierten Patienten zuzunehmen (p<0.05), allerdings ist der Korrelationskoeffizient entsprechend der starken Streuung der Einzelwerte niedrig (r=0,491). Dementsprechend weist die Korrelation von transplantierte MNC-Zahl und EK-Verbrauch in dieser Gruppe keinen signifikanten Zusammenhang auf (Abb. 3.2-1 [S.27]).

Nach *allogen unrelated* und *related* [KM] sowie nach *autologer* und *Cord Blood* Transplantation bestand jeweils kein signifikanter Zusammenhang zwischen der transplantierten CD34- bzw. MNC-Zahl und den benötigten Erythrozytenkonzentraten.

Abb. 3.2-1: Erythrozytenkonzentratverbrauch und transplantierte Progenitorzellzahl bzw. mononukleäre Zellzahl

◆allogen unrel., ■allogen rel. PBSZ, ▲allogen rel. KMT, ○ autolog, ★Cord Blood



TRANSPLANTAT-GRUPPE	EK / CD34+		EK / MNC	
	p	r	p	r
ALLOGEN UNRELATED		-0,670		0,310
ALLOGEN RELATED KM	/	/		0,519
ALLOGEN RELATED PBSZ	X	0,491		0,140
AUTOLOG		-0,033		0,009
CORD BLOOD		0,371		0,449

X=p<0.05, XX=p<0.01, XXX=p<0.005

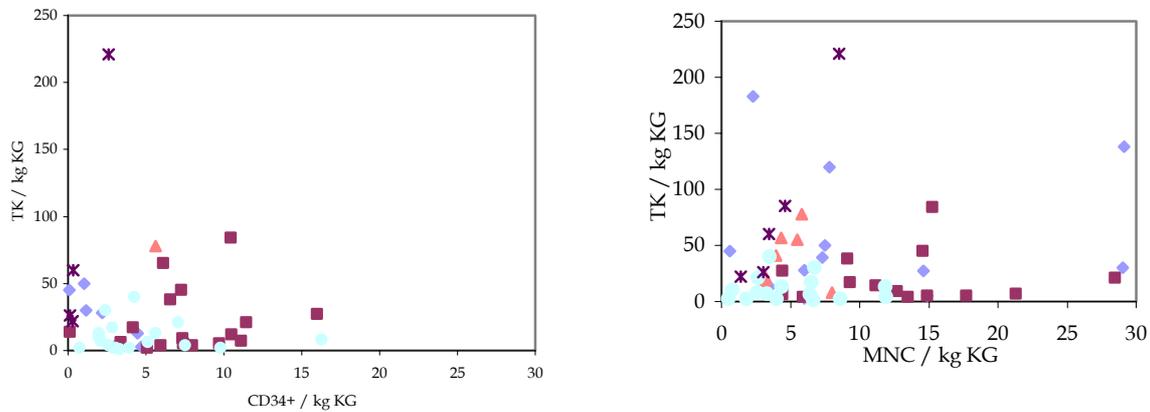
Die Korrelation zwischen der Anzahl der transplantierten CD34-Zellen pro kg KG und dem Thrombozytenkonzentratverbrauch ergab in der Gruppe der *allogen unrelated* transplantierten Patienten einen signifikanten Zusammenhang (p<0.01). Je höher die Zahl der transplantierten CD34-Zellen lag, desto weniger Thrombozytenkonzentrate wurden von den Patienten benötigt (Abb. 3.2-2 [S.28]). Die Korrelation von transplantierte MNC-Zahl und TK-Verbrauch zeigte in dieser Gruppe keinen signifikanten Zusammenhang.

In der Gruppe der *Cord Blood* Patienten ergab die Korrelation zwischen der Höhe der transplantierten MNC-Zahlen und dem TK-Verbrauch unter Berücksichtigung der kleinen Fallzahl einen signifikanten Zusammenhang (p<0.005). Je mehr MNC transplantiert wurden, desto mehr Thrombozytenkonzentrate benötigten die Patienten (Abb. 3.2-2 [S.28]). Als Erklärung dafür wäre möglicherweise die lange Aplasiephase nach *Cord Blood* Transplantation zu nennen.

Nach *allogen related* und *autolog* Transplantation konnte jeweils kein signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden.

Abb. 3.2-2: Thrombozytenkonzentratverbrauch und transplantierte Progenitorzellzahl (CD34+) bzw. mononukleäre Zellzahl (MNC)

◆allogen unrel., ■allogen rel. PBSZ, ▲allogen rel. KMT, ○ autolog, ★ Cord Blood



TRANSPLANTAT-GRUPPE	TK / CD34+		TK / MNC	
	p	r	p	R
ALLOGEN UNRELATED	XX	-0,897		0,054
ALLOGEN RELATED KM	/	/		0,011
ALLOGEN RELATED PBSZ		0,169		0,058
AUTOLOG		-0,052		-0,036
CORD BLOOD	X	0,987	XXX	0,973

X=p<0.05, XX=p<0.01, XXX=p<0.005

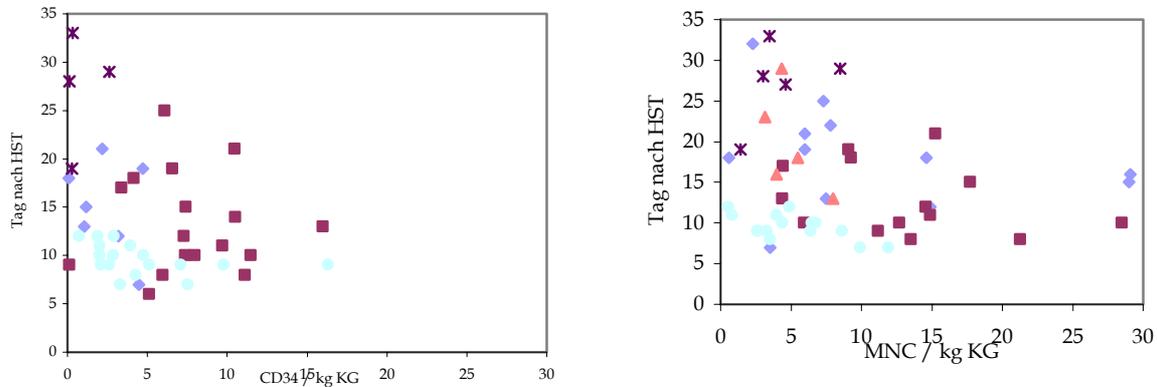
3.2.2 Korrelation zwischen transplantierten Progenitorzellen (CD34+) und mononukleären Zellen (MNC) und dem Zeitpunkt des Engraftments

Die Korrelation zwischen der transplantierten MNC-Zahl und dem Zeitpunkt des Engraftments ergab in der Gruppe der *autolog* transplantierten Patienten einen nicht signifikanten Zusammenhang ($p < 0.05$). Je höher die transplantierte Zellzahl lag, desto früher lag der Zeitpunkt des Engraftments (Abb. 3.2-3 [S.29]). Die Korrelation zwischen der transplantierten CD34-Zellzahl und dem Zeitpunkt des Engraftments ergab in dieser Gruppe zwar keinen signifikanten Zusammenhang, es zeigte sich jedoch ein Trend, der den Verlauf der mononukleären Zellen unterstützt (Abb. 3.2-3 [S.29]).

Nach *allogen unrelated*, *allogen related* und *Cord Blood* Transplantation bestand jeweils kein signifikanter Zusammenhang zwischen der transplantierten CD34- und MNC-Zahl und dem Zeitpunkt des Engraftments.

Abb. 3.2-3: Zeitpunkt des Engraftments und transplantierte Progenitorzellzahl (CD34+) bzw. mononukleäre Zellzahl (MNC)

◆allogen unrel., ■allogen rel. PBSZ, ▲allogen rel. KMT, ○ autolog, ★ Cord Blood



TRANSPLANTAT-GRUPPE	TK / CD34+		TK / MNC	
	p	R	p	R
ALLOGEN UNRELATED		-0,295		-0,283
ALLOGEN RELATED KM	/	/		-0,620
ALLOGEN RELATED PBSZ		-0,035		-0,309
AUTOLOG		-0,405	X	-0,631
CORD BLOOD		0,191		0,464

X=p<0.05, XX=p<0.01, XXX=p<0.005

3.3 Engraftmentprogramm

3.3.1 Immunologischer Differentialverlauf nach HST

Um darzulegen, ob es unterschiedliche Verlaufsprofile nach HST bei den vier verschiedenen Transplantatgruppen gibt, wurde für jede Gruppe der prozentuale Anteil der Progenitorzellmarker (CD34+) , der B - (CD20+), der T - (CD3+) und der NK-Zellen (CD56+), sowie der Monozyten (CD14+) und der Granulozyten (CD15+) mittels Durchflußzytometrie am Tag 20-60, am Tag >100 und am Tag >180 nach HST bestimmt.

Zunächst wird der absolute Leukozytenverlauf nach HST im Knochenmark und im peripheren Blut dargestellt (Abb. 3.3-1 [S.30])

3.3.1.1 Progenitorzellverlauf (CD34+) - prozentualer Anteil

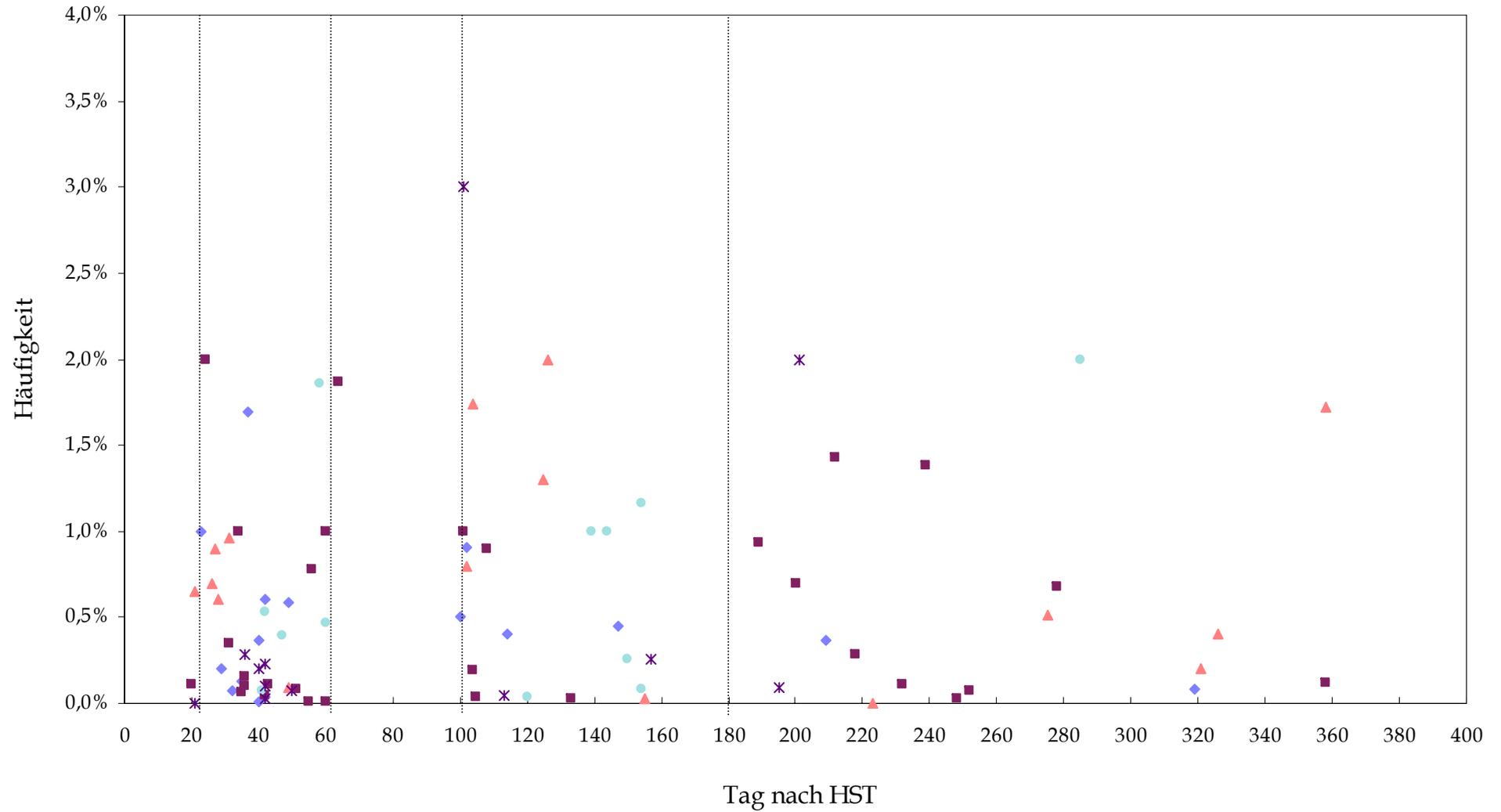
Der prozentuale Anteil der Progenitorzellen im KM wies in der Gruppe der *Cord Blood* Patienten einen zügigen Anstieg nach Transplantation auf. Auch bei den *autolog* transplantierten Patienten kam es nach einem initial etwas protrahierten Verlauf insgesamt zu einem Anstieg. In der *allogen related* PBSZ-Gruppe blieben die Werte konstant, in den beiden anderen *allogenen* Gruppen reduzierte sich der prozentuale Anteil der Progenitorzellen in einem Zeitraum von sechs Monaten nach Transplantation (Tabelle 3.3-1, Abb. 3.3-2 [S.32]).

Tabelle 3.3-1: Prozentualer Anteil (M±S) der Progenitorzellen an den mononukleären Zellen im KM

TRANSPLANTAT-GRUPPE	TAG 20-60	TAG >100	TAG >180
ALLOGEN UNRELATED KM und PBSZ	0.48 +/- 0.56 (n=9)	0.57 +/- 0.23 (n=4)	0.23 +/- 0.21 (n=2)
ALLOGEN RELATED KM	0.65 +/- 0.3 (n=6)	1.17 +/- 0.48 (n=5)	0.68 +/- 0.71 (n=4)
ALLOGEN RELATED PBSZ	0.38 +/- 1 (n=12)	0.43 +/- 0.48 (n=5)	0.45 +/- 0.45 (n=8)
AUTOLOG PBSZ	+/- 0.79 (n=4)	0.59 +/- 0.52 (n=6)	2 (n=1)
CORD BLOOD	0.14 +/- 0.11 (n=6)	1.1 +/- 1.65 (n=3)	1.05 +/- 1.35 (n=2)

Abb. 3.3-2: Prozentualer Anteil der Progenitorzellen (CD34+) an den mononukleären Zellen im KM

◆ allogene unrelated, ■ allogene related PBSZ, ▲ allogene related KMT, ○ autolog, ★ Cord Blood



3.3.1.2 T-Zellverlauf (CD3+) - prozentualer Anteil

Die *allogen* transplantierten Patienten wiesen einen Anstieg des prozentualen Anteils der T-Lymphozyten im Knochenmark nach Transplantation auf, der in der *unrelated* Gruppe zügig und in der *related* Gruppe verzögert verlief. Bei den *Cord Blood* Patienten kam es zu einem sehr späten und protrahierten Anstieg und bei den *autologen* Patienten zu einer deutlichen Reduktion der T-Zellen nach der Transplantation (Tabelle 3.3-2, Abb.3.3-3 [S. 35]).

Im peripheren Blut wiesen die *Cord Blood* und die *allogen related* transplantierten Patienten einen deutlichen Anstieg der T-Lymphozyten im Verlauf von sechs Monaten nach der Transplantation auf. Bei den *allogen unrelated* und *autologen* Patienten kam es insgesamt zu einer deutlichen Reduktion (Tabelle 3.3-3, Abb. 3.3-4 [S. 36]).

Tabelle 3.3-2: Prozentualer Anteil (M±S) der T-Zellen an den mononukleären Zellen im KM

TRANSPLANTAT-GRUPPE	TAG 20-60	TAG >100	TAG >180
ALLOGEN UNRELATED KM und PBSZ	3.8 +/- 2.2 (n=9)	5.3 +/- 1.5 (n=4)	11.8 +/- 4.4 (n=4)
ALLOGEN RELATED KM	4 +/- 3.2 (n=6)	3.5 +/- 6 (n=4)	12.5 +/- 13 (n=4)
ALLOGEN RELATED PBSZ	7 +/- 4 (n=12)	7 +/- 6 (n=6)	9.5 +/- 6 (n=8)
AUTOLOG PBSZ	38.7 +/- 27.4 (n=3)	7.3 +/- 10.2 (n=6)	6 (n=1)
CORD BLOOD	8.5 +/- 11.7 (n=6)	2.7 +/- 1.5 (n=3)	13.7 +/- 16.9 (n=3)

Tabelle 3.3-3: Prozentualer Anteil (M±S) der T-Zellen an den mononukleären Zellen im PB

TRANSPLANTAT-GRUPPE	TAG 20-60	TAG >100	TAG >180
ALLOGEN UNRELATED KM und PBSZ	22.4 +/- 38 (n=5)	13.8 +/- 6.9 (n=4)	11.3 +/- 10 (n=3)
ALLOGEN RELATED KM	12.3 +/- 8 (n=4)	11 +/- 1 (n=3)	27.7 +/- 22 (n=3)
ALLOGEN RELATED PBSZ	15.3 +/- 7.4 (n=3)	14 +/- 9 (n=5)	30.5 +/- 11.1 (n=11)
AUTOLOG PBSZ	48.2 +/- 28.2 (n=5)	27.8 +/- 20.8 (n=4)	14.5 +/- 3.5 (n=2)
CORD BLOOD	6 +/- 6.9 (n=4)	13 +/- 1.4 (n=2)	25.3 +/- 14.0 (n=3)

Der prozentuale CD4/CD8-Quotient lag bei allen vier Patientengruppen im Knochenmark und im peripheren Blut deutlich unterhalb des Referenzwertes. Keine Gruppe wies eine deutliche Veränderung im Verlauf auf (Tabelle 3.3-4).

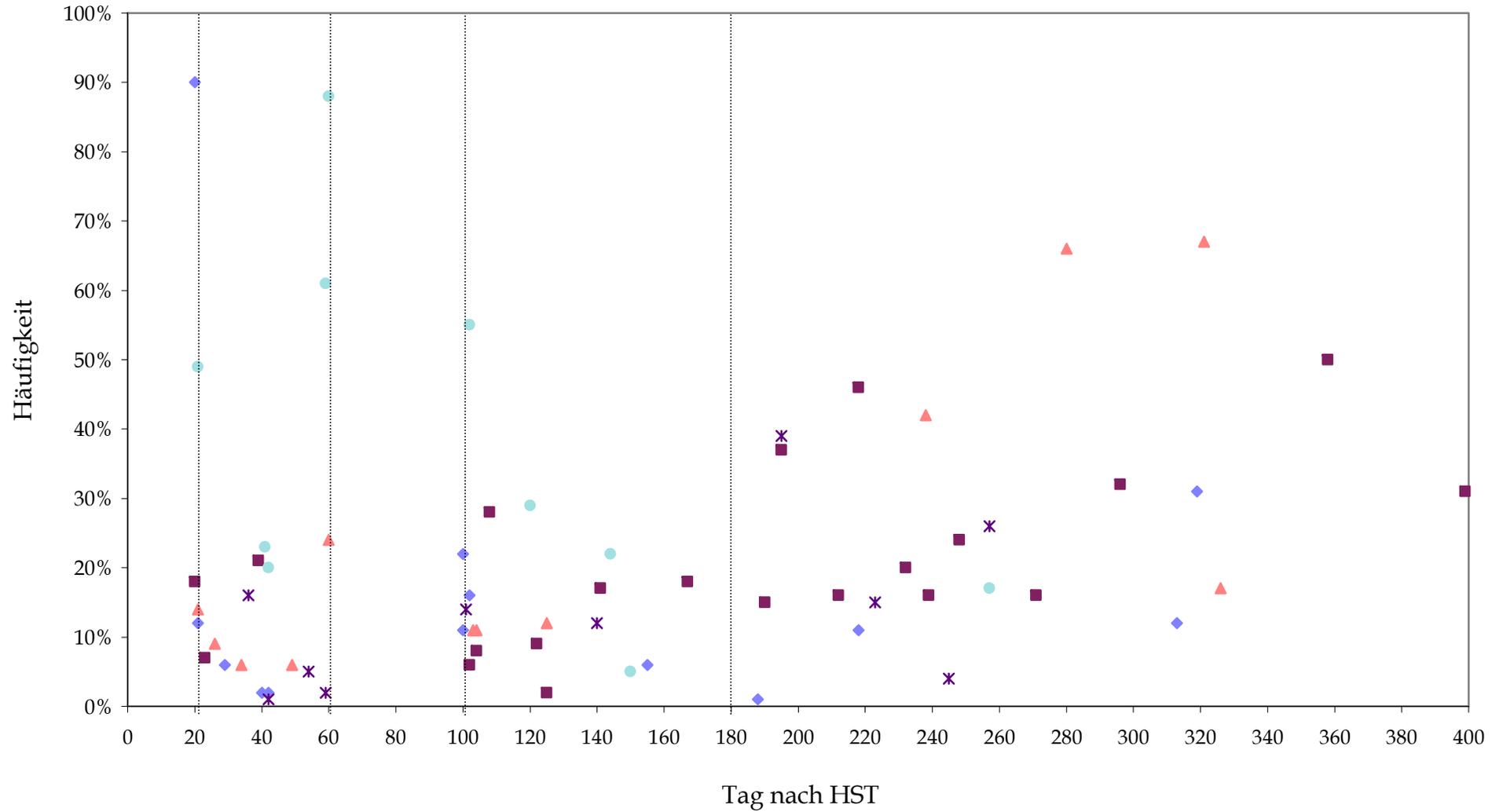
Tabelle 3.3-4: CD4/CD8-Quotient des prozentualen Anteils der T-Zellen im KM und PB (Referenzwert: >2)

KM	TRANSPLANTAT	TAG 20-60	TAG >100	TAG >180
ALLOGEN UNRELATED	0,9	1	0,5	0,5
ALLOGEN RELATED	1,3	1	0,5	0,4
AUTOLOG	1,2	0,4	0,3	0,5
CORD BLOOD	0,5	0,5	0,5	0,8

PB	TRANSPLANTAT	TAG 20-60	TAG >100	TAG >180
ALLOGEN UNRELATED	1,1	0,4	0,8	0,4
ALLOGEN RELATED	1,5	0,5	0,6	0,6
AUTOLOG	0,8	0,1	0,6	0,9
CORD BLOOD		0,8	0,4	0,4

Abb. 3.3-4: Prozentualer Anteil der T-Zellen (CD3+) an den mononukleären Zellen im PB

◆ allogene unrelatierte, ■ allogene verwandte PBSZ, ▲ allogene verwandte KMT, ○ autolog, ★ Cord Blood



3.3.1.3 B-Zellverlauf (CD20+) - prozentualer Anteil

Die *allogen unrelated*, die *autologen* und die *Cord Blood* Patienten wiesen insgesamt einen stabilen Anstieg des prozentualen Anteils der B-Lymphozyten nach der Transplantation auf; bei den *Cord Blood* Patienten verlief dieser zunächst protrahiert. In der *allogen related* Gruppe wurde bei den KM- und PBSZ-Patienten im Knochenmark eine Reduktion der B-Zellen sechs Monate nach Transplantation gemessen. Im peripheren Blut fiel eine Reduktion bei den KM-Patienten und ein Anstieg der B-Lymphozyten bei den PBSZ-Patienten auf (Tabelle 3.3-5 und Tabelle 3.3-6, Abb. 3.3-5 [S. 38] und Abb. 3.3-6 [S. 39]).

Tabelle 3.3-5: Prozentualer Anteil (M±S) der B-Zellen an den mononukleären Zellen im KM

TRANSPLANTAT-GRUPPE	TAG 20-60	TAG >100	TAG >180
ALLOGEN UNRELATED KM- und PBSZ	2.1 +/- 3.1 (n=7)	3.5 +/- 3.1 (n=4)	7.3 +/- 2.5 (n=3)
ALLOGEN RELATED KM	11 (n=1)	2.7 +/- 3.1 (n=3)	8 (n=1)
ALLOGEN RELATED PBSZ	21 +/- 4.5 (n=9)	4 +/- 2.7 (n=5)	5.7 +/- 3.2 (n=7)
AUTOLOG PBSZ	1.8 +/- 1 (n=4)	6.6 +/- 1.7 (n=5)	2 (n=1)
CORD BLOOD	3.5 +/- 3 (n=6)	3.7 +/- 3.1 (n=3)	9.7 +/- 7 (n=3)

Tabelle 3.3-6: Prozentualer Anteil (M±S) der B-Zellen an den mononukleären Zellen im PB

TRANSPLANTAT-GRUPPE	TAG 20-60	TAG >100	TAG >180
ALLOGEN UNRELATED KM und PBSZ	0.5 +/- 0.6 (n=4)	3.5 +/- 3.3 (n=4)	28 +/- 19.8 (n=2)
ALLOGEN RELATED KM	6.7 +/- 9.2 (n=2)		2.5 +/- 2.1 (n=2)
ALLOGEN RELATED PBSZ	1 (n=1)	2 +/- 1 (n=4)	8.1 +/- 1.9 (10)
AUTOLOG PBSZ	1.5 +/- 2.4 (n=4)	7.7 +/- 6.7 (n=3)	16 (n=1)
CORD BLOOD	6 +/- 7.4 (n=4)	7 +/- 4.2 (n=2)	13 +/- 7.6 (n=3)

Abb. 3.3-5: Prozentualer Anteil der B-Zellen (CD20+) an den mononukleären Zellen im KM

◆ allogene unrelatierte, ■ allogene verwandte PBSZ, ▲ allogene verwandte KMT, ○ autolog, ★ Cord Blood

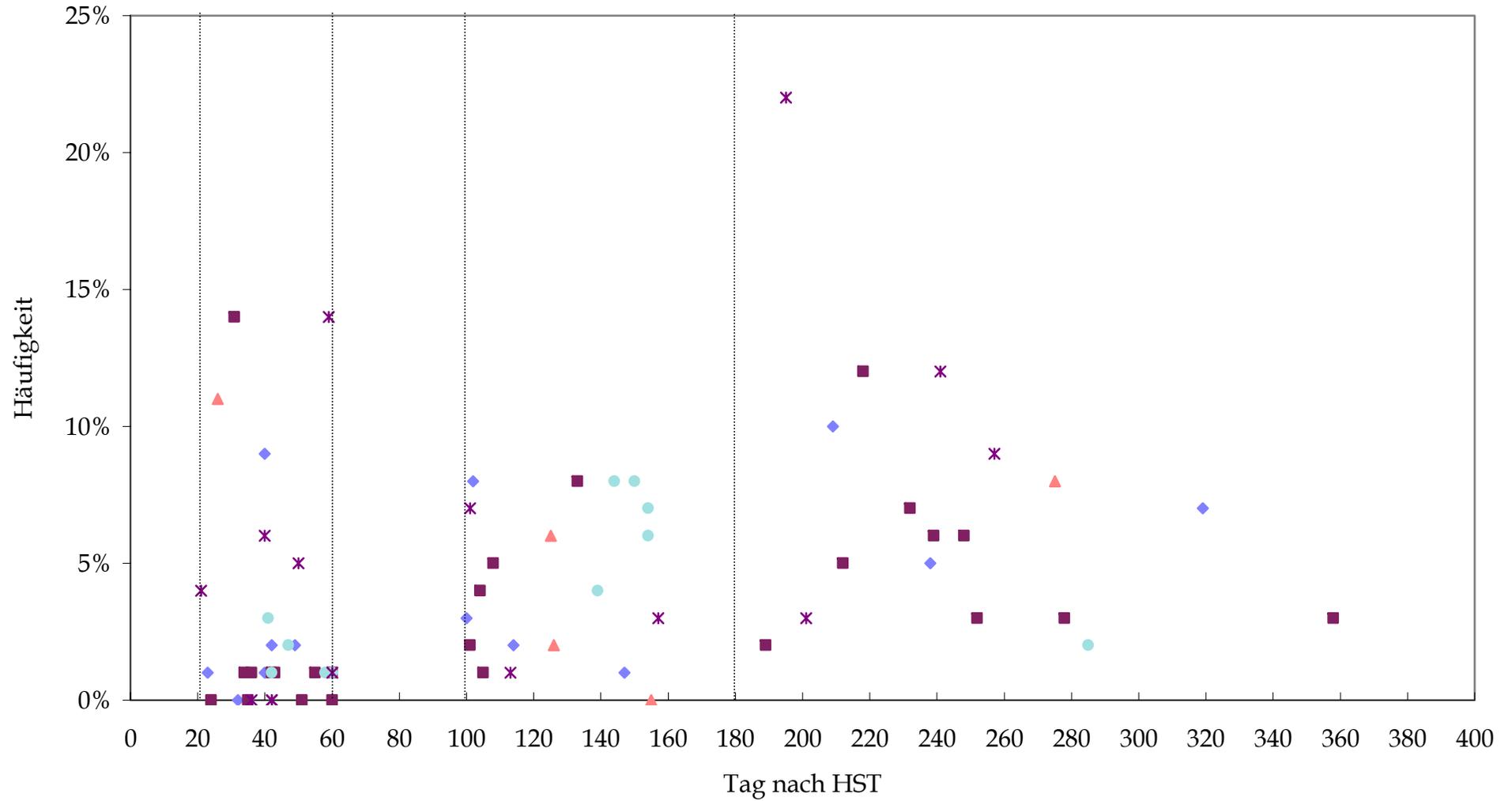
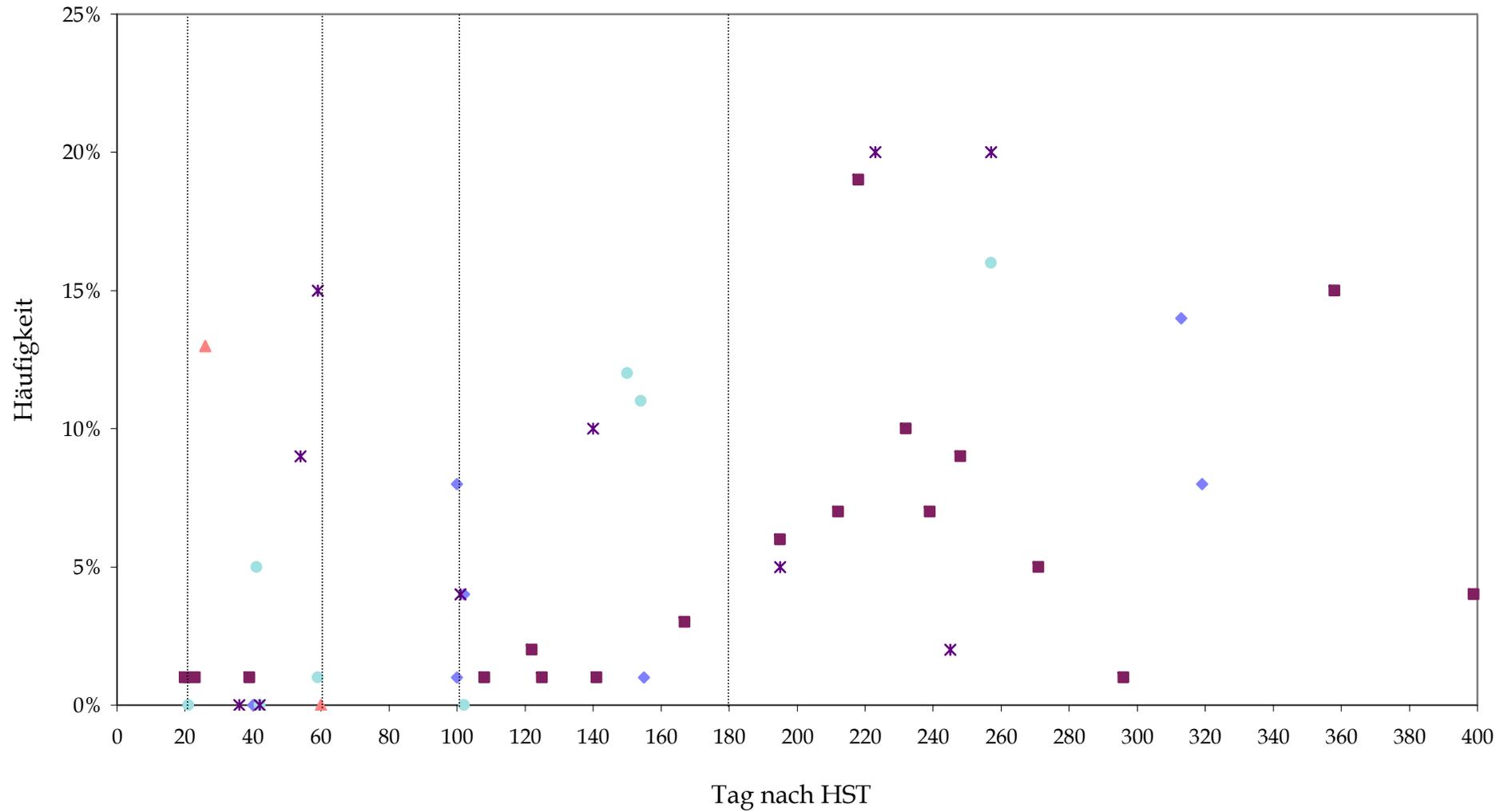


Abb. 3.3-6: Prozentualer Anteil der B-Zellen (CD20+) an den mononukleären Zellen im PB

◆ allogene unrelated, ■ allogene related PBSZ, ▲ allogene related KMT, ○ autolog, ★ Cord Blood



3.3.1.4 Monozyten-Verlauf (CD14+) - prozentualer Anteil

Der prozentuale Anteil der Monozyten reduzierte sich im Knochenmark und peripheren Blut in der *Cord Blood* und den beiden *allogenen* Gruppen innerhalb der ersten sechs Monate nach Transplantation kontinuierlich und deutlich. Die *autologen* Patienten wiesen in diesem Zeitraum relativ konstante Werte auf (Tabelle 3.3-7 und Tabelle 3.3-8, Abb. 3.3-7 [S. 41] und Abb. 3.3-8 [S.42]).

Tabelle 3.3-7: Prozentualer Anteil (M±S) der Monozyten an den mononukleären Zellen im KM

TRANSPLANTAT-GRUPPE	TAG 20-60	TAG >100	TAG >180
ALLOGEN UNRELATED KM und PBSZ	8.2 +/- 7 (n=6)	9.3 +/- 3.5 (n=3)	5.3 +/- 1.2 (n=3)
ALLOGEN RELATED KM	1 (n=1)	5.2 +/- 1.9 (n=5)	3 (n=1)
ALLOGEN RELATED PBSZ	6.5 +/- 3.7 (n=11)	2 +/- 2.8 (n=2)	4.3 +/- 1.6 (n=7)
AUTOLOG PBSZ	6.8 +/- 4 (n=4)	6 +/- 2.8 (n=6)	7 (n=1)
CORD BLOOD	16.2 +/- 8.5 (n=6)	7.3 +/- 5.1 (n=3)	2.3 +/- 1.5 (n=3)

Tabelle 3.3-8: Prozentualer Anteil (M±S) der Monozyten an den mononukleären Zellen im PB

TRANSPLANTAT-GRUPPE	TAG 20-60	TAG >100	TAG >180
ALLOGEN UNRELATED KM und PBSZ	14.5 +/- 22.4 (n=4)	10 +/- 4 (n=3)	3.3 +/- 2.3 (n=3)
ALLOGEN RELATED KM	1 (n=1)		1 (n=1)
ALLOGEN RELATED PBSZ	29.7 +/- 35 (n=3)	10.3 +/- 5.9 (n=4)	8.1 +/- 2.9 (n=10)
AUTOLOG PBSZ	5.8 +/- 3.3 (n=4)	5.3 +/- 2.5 (n=3)	7.5 +/- 2.1 (n=2)
CORD BLOOD	19.5 +/- 4.8 (n=4)	14 +/- 1.4 (n=2)	9.7 +/- 7.4 (n=3)

Abb. 3.3-7: Prozentualer Anteil der Monozyten (CD14+) an den mononukleären Zellen im KM

◆ allogene unrelatierte, ■ allogene verwandte PBSZ, ▲ allogene verwandte KMT, ○ autologe, ★ Cord Blood

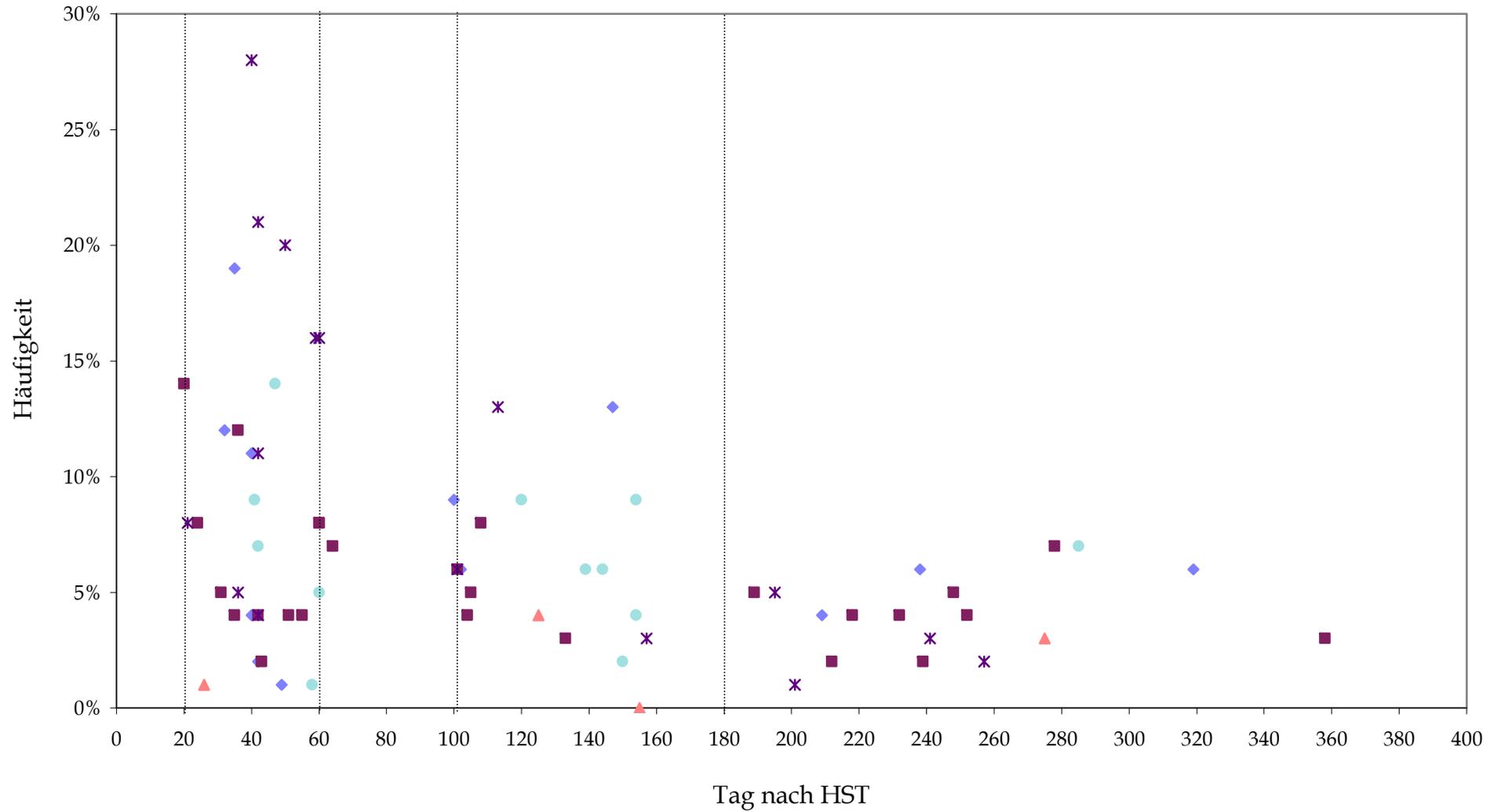
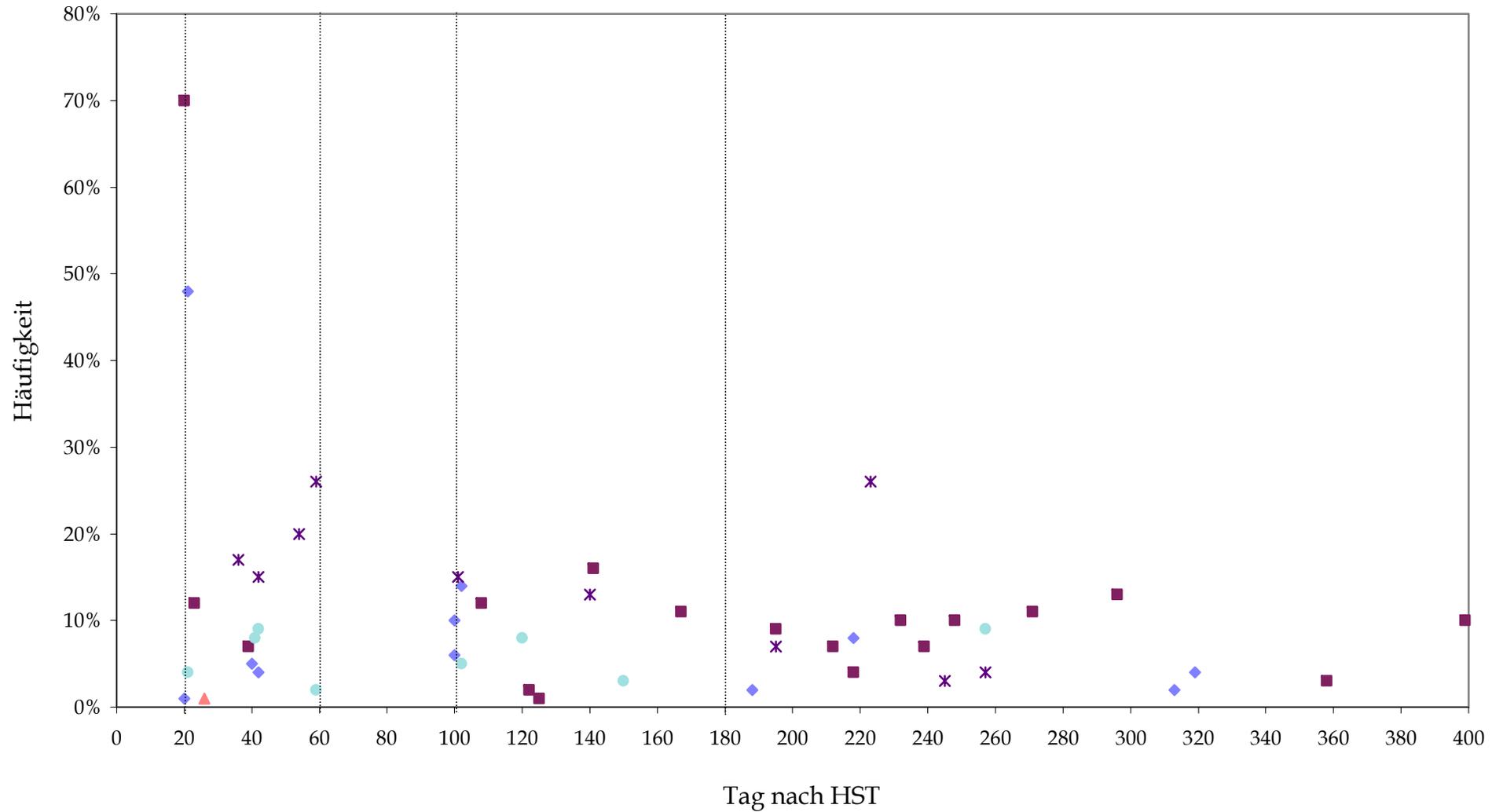


Abb. 3.3-8: Prozentualer Anteil der Monozyten (CD14+) an den mononukleären Zellen im PB

◆ allogene unrelatierte, ■ allogene verwandte PBSZ, ▲ allogene verwandte KMT, ○ autologe, ★ Cord Blood



3.3.1.5 Granulozyten-Verlauf (CD15+) - prozentualer Anteil

Die *autologen* Patienten wiesen einen kontinuierlichen und stabilen Anstieg des prozentualen Anteils der Granulozyten im KM und PB innerhalb von sechs Monaten nach Transplantation auf. Bei den *allogen* und mit *Cord Blood* transplantierten Patienten wurde im peripheren Blut eine Reduktion der Werte und im Knochenmark relativ konstante Granulozytenzahlen beobachtet (Tabelle 3.3-9 und Tabelle 3.3-10, Abb. 3.3-9 [S. 44] und Abb. 3.3-10 [S.45]).

Tabelle 3.3-9: Prozentualer Anteil (M±S) der Granulozyten an den mononukleären Zellen im KM

TRANSPLANTAT-GRUPPE	TAG 20-60	TAG >100	TAG >180
ALLOGEN UNRELATED KM und PBSZ	57.5 +/- 19.2 (n=6)	40.7 +/- 13.7 (n=3)	68.5 +/- 3.5 (n=2)
ALLOGEN RELATED KM	7 (n=1)	43 +/- 52.3 (n=2)	75 (n=1)
ALLOGEN RELATED PBSZ	73 +/- 10.8 (n=11)	68 +/- 15.7 (n=4)	65 +/- 7.1 (n=7)
AUTOLOG PBSZ	51 +/- 25.7 (n=4)	71.8 +/- 9.4 (n=6)	83 (n=1)
CORD BLOOD	53 +/- 19.8 (n=6)	73.3 +/- 12.1 (n=3)	60 +/- 3.5 (n=3)

Tabelle 3.3-10: Prozentualer Anteil (M±S) der Granulozyten an den mononukleären Zellen im PB

TRANSPLANTAT-GRUPPE	TAG 20-60	TAG >100	TAG >180
ALLOGEN UNRELATED KM und PBSZ	58.5 +/- 41.3 (n=4)	71.5 +/- 11.5 (n=4)	25.3 +/- 20.5 (n=3)
ALLOGEN RELATED KM	5 (n=1)		2 (n=1)
ALLOGEN RELATED PBSZ	72.7 +/- 7.4 (n=3)	65.5 +/- 17.5 (n=4)	47.1 +/- 11.6 (n=10)
AUTOLOG PBSZ	39.5 +/- 20.8 (n=4)	42.3 +/- 15 (n=3)	56.5 +/- 19.1 (n=2)
CORD BLOOD	58.3 +/- 15.5 (n=4)	64.5 +/- 2.1 (n=2)	50.7 +/- 12.2 (n=3)

Abb. 3.3-9: Prozentualer Anteil der Granulozyten (CD15+) an den mononukleären Zellen im KM

◆ allogene unrelatierte, ■ allogene verwandte PBSZ, ▲ allogene verwandte KMT, ○ autologe, ★ Cord Blood

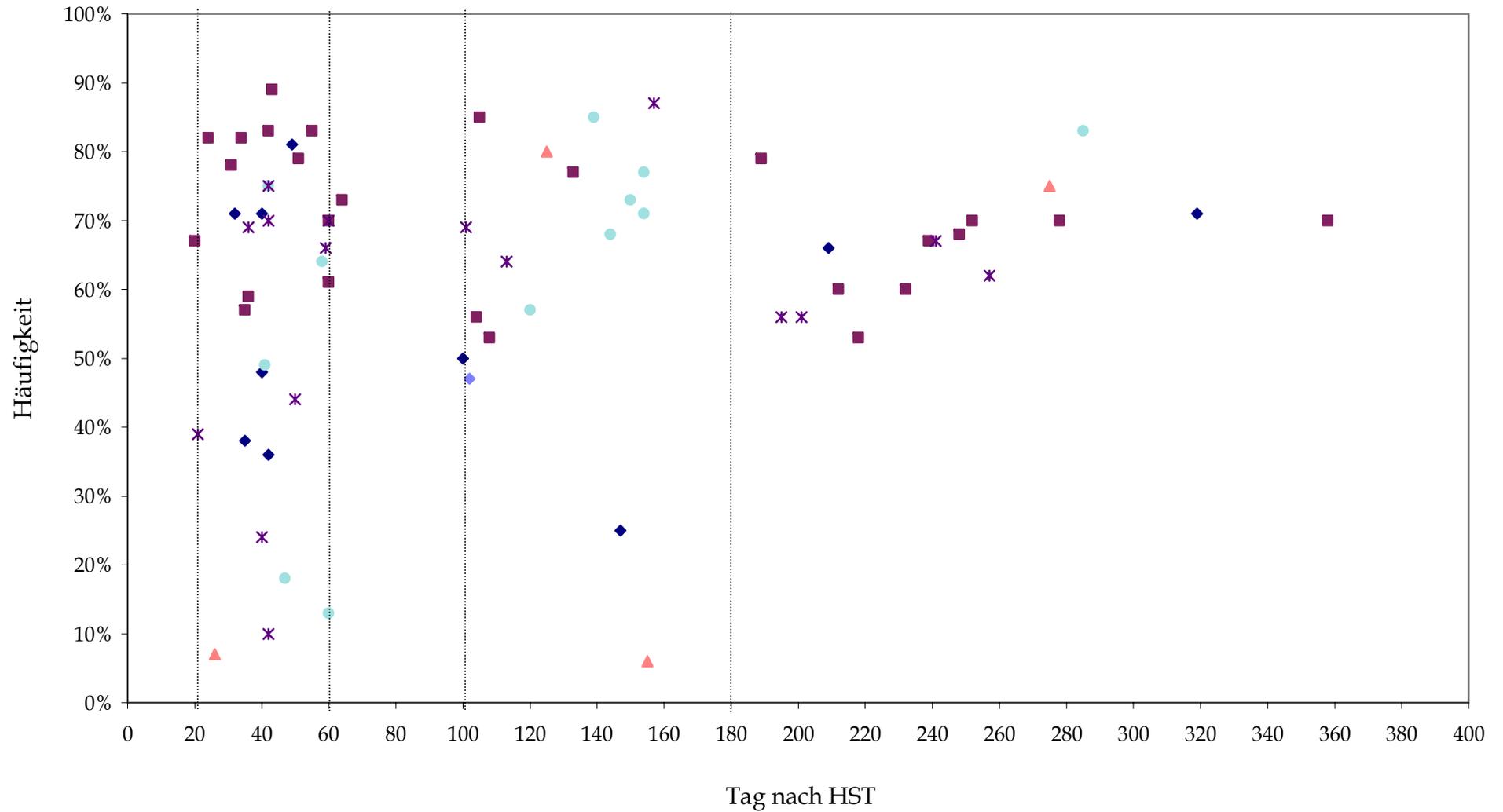
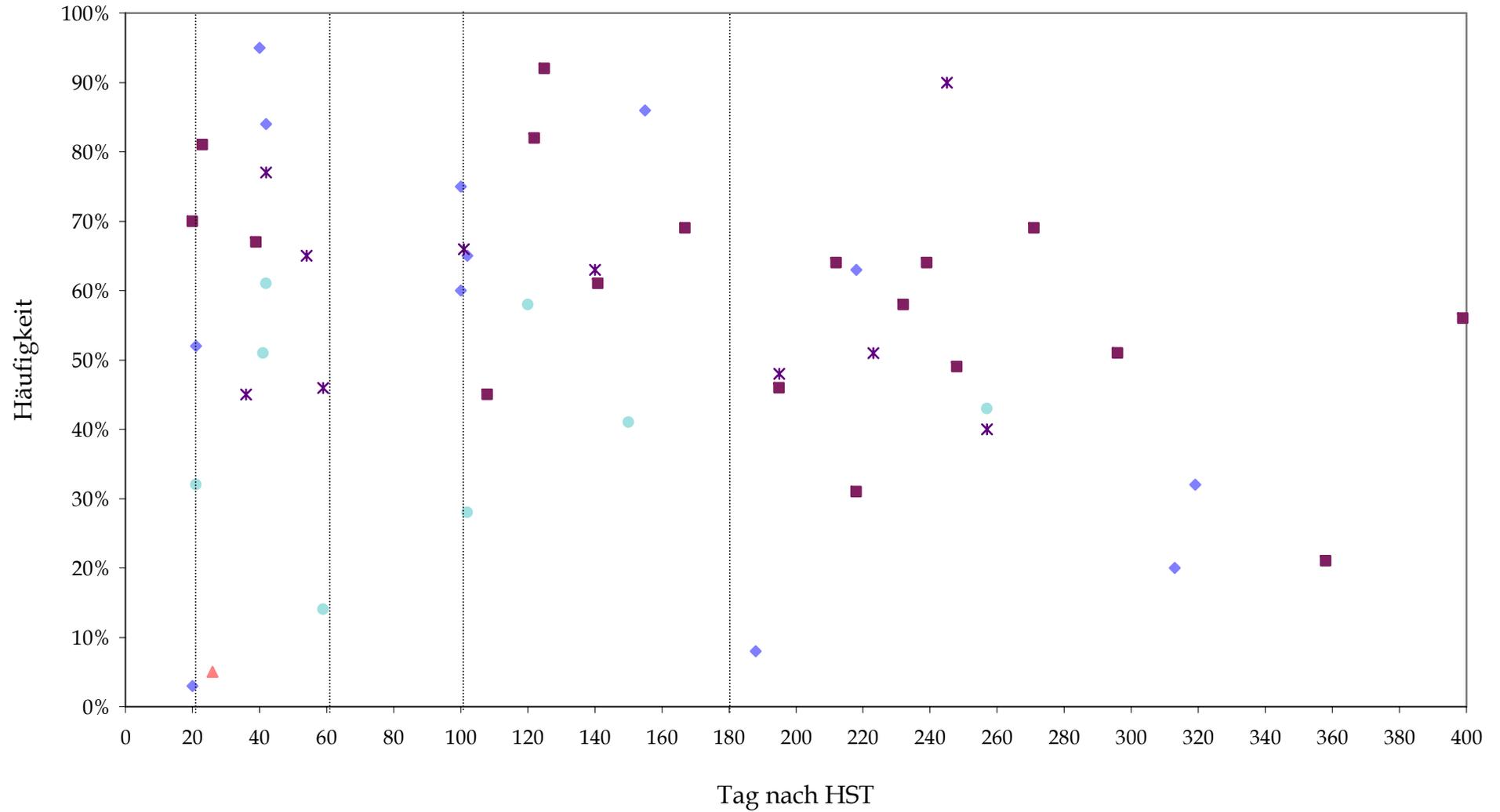


Abb. 3.3-10: Prozentualer Anteil der Granulozyten (CD15+) an den mononukleären Zellen im PB

◆ allogene unrelatierte, ■ allogene verwandte PBSZ, ▲ allogene verwandte KMT, ○ autolog, ★ Cord Blood



3.3.1.6 NK-Zellen-Verlauf (CD56+) – prozentualer Anteil

Der prozentuale Anteil der NK-Zellen veränderte sich in allen Gruppen im Knochenmark und im peripheren Blut innerhalb von sechs Monaten nach Transplantation nur unwesentlich. In der *allogen related* Gruppe kam es bei den PBSZ-Patienten zu einem leichten Anstieg der Werte. Nach *autologer* Transplantation zeigte sich eine Reduktion der NK-Zellen im Verlauf nach der Transplantation (Tabelle 3.3-11 und Tabelle 3.3-12, Abb. 3.3-11 [S. 47] und Abb. 3.3-12 [S.48]).

Tabelle 3.3-11: Prozentualer Anteil (M±S) der NK-Zellen an den mononukleären Zellen im KM

TRANSPLANTAT-GRUPPE	TAG 20-60	TAG >100	TAG >180
ALLOGEN UNRELATED KM und PBSZ	4.1 +/- 2.9 (n=8)	3 +/- 1 (n=3)	3 (n=1)
ALLOGEN RELATED KM	8 +/- 7 (n=2)	5 +/- 2.8 (n=2)	3 (n=1)
ALLOGEN RELATED PBSZ	3.8 +/- 1.8 (n=10)	3.5 +/- 3.7 (n=4)	4.4 +/- 2.5 (n=7)
AUTOLOG PBSZ	12 +/- 9.9 (n=2)	5.2 +/- 3 (n=5)	
CORD BLOOD	8.2 +/- 4.5 (n=6)	3 +/- 2.8 (n=2)	8 (n=1)

Tabelle 3.3-12: Prozentualer Anteil (M±S) der NK-Zellen an den mononukleären Zellen im im PB

TRANSPLANTAT-GRUPPE	TAG 20-60	TAG >100	TAG >180
ALLOGEN UNRELATED KM und PBSZ	5.6 +/- 2.6 (n=5)	5 +/- 2 (n=3)	4.5 +/- 3.5 (n=2)
ALLOGEN RELATED KM	4.7 +/- 4.7 (n=3)	7 (n=1)	6 (n=1)
ALLOGEN RELATED PBSZ	4 (n=1)	7 +/- 4.6 (n=3)	9.5 +/- 6.7 (n=8)
AUTOLOG PBSZ	10.5 +/- 7.4 (n=4)	18 +/- 14.1 (n=3)	3.5 +/- 2.1 (n=2)
CORD BLOOD	3 +/- 0.01 (n=3)		5 (n=1)

Abb. 3.3-11: Prozentualer Anteil der NK-Zellen (CD56+) an den mononukleären Zellen im KM

◆ allogene unrelatierte, ■ allogene verwandte PBSZ, ▲ allogene verwandte KMT, ○ autologe, ★ Cord Blood

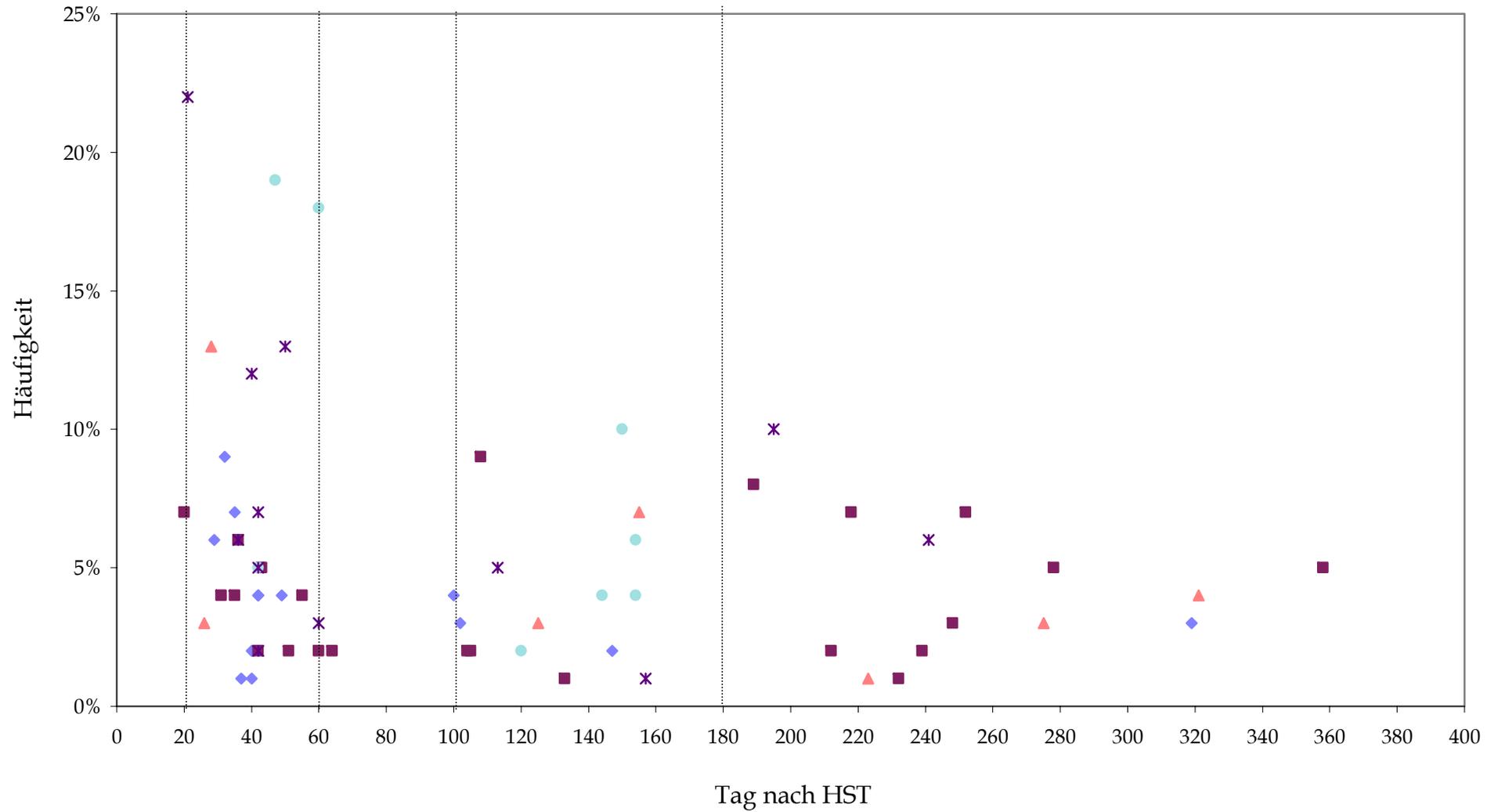
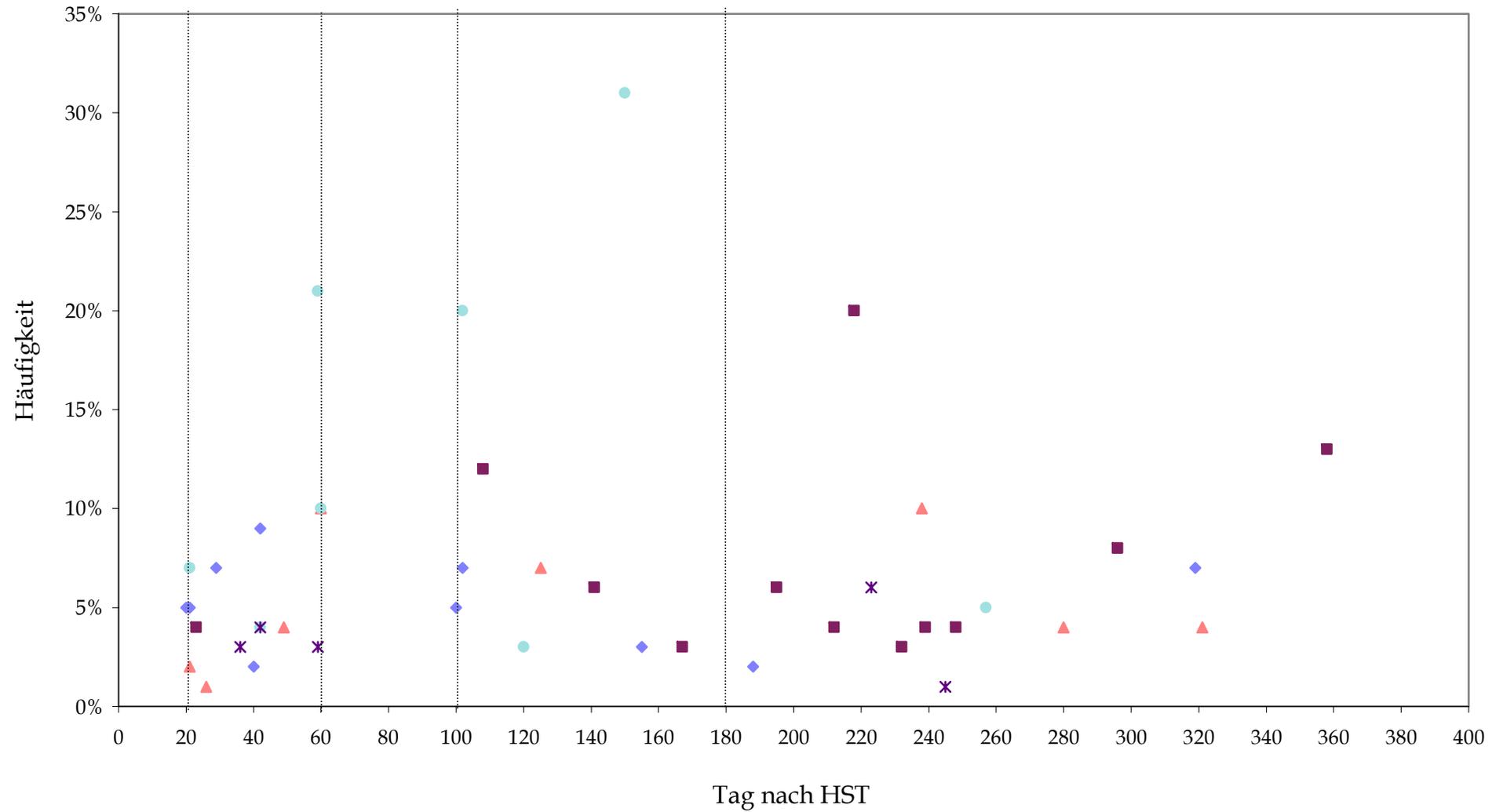


Abb. 3.3-12: Prozentualer Anteil der NK-Zellen (CD56+) an den mononukleären Zellen im PB

◆ allogene unrelatierte, ■ allogene verwandte PBSZ, ▲ allogene verwandte KMT, ○ autolog, ★ Cord Blood



3.3.2 Zytokinverlauf nach HST

Bei den *allogen unrelated* transplantierten Patienten kam es im KM und PB nach einem Anstieg am Tag 20-60 zu einer Reduktion des INF γ . Im PB wurde am Tag >180 wieder ein deutlicher Anstieg über den Ausgangswert nachgewiesen (Tabelle 3.3-13 und Tabelle 3.3-14, Abb. 3.3-13 und Abb. 3.3-14 [S.50]).

In der *allogen related* Gruppe [PBSZ und KM] kam es innerhalb von sechs Monaten nach Transplantation zu einem Anstieg des INF γ , der in der PBSZ-Gruppe etwas stärker ausgeprägt war als in der KM-Gruppe (Tabelle 3.3-13 und Tabelle 3.3-14, Abb. 3.3-13 und Abb. 3.3-14 [S.50]).

Bei den *autologen* Patienten kam es im KM und PB zu einem Anstieg des Interferons bis zum Tag >100 nach Transplantation (Tabelle 3.3-13 und Tabelle 3.3-14, Abb. 3.3-13 und Abb. 3.3-14 [S.50]).

In der Gruppe der *Cord Blood* Patienten zeigte sich keine deutliche Änderung des INF γ im KM und PB nach der Transplantation (Tabelle 3.3-13 und Tabelle 3.3-14 Abb. 3.3-13 und Abb. 3.3-14 [S.50]).

Tabelle 3.3-13: INF γ -Werte im KM

TRANSPLANTATGRUPPE	TAG 20-60	TAG >100	TAG >180
ALLOGEN UNRELATED KM und PBSZ	1.6 +/- 2 (n=2)	0.3 +/- 0.04 (n=2)	
ALLOGEN RELATED KM	0.5 +/- 0.2 (n=5)	0.6 +/- 0.2 (n=4)	0.7 +/- 1 (n=5)
ALLOGEN RELATED PBSZ	0.7 +/- 0.8 (n=5)	5 (n=1)	1.3 +/- 1.3 (n=4)
AUTOLOG PBSZ	1.3 +/- 0.6 (n=3)	2.2 +/- 1.8 (n=2)	
CORD BLOOD	0.6 +/- 0.1 (n=2)	(n=1)	

Tabelle 3.3-14: INF γ -Werte im PB

TRANSPLANTATGRUPPE	TAG 20-60	TAG >100	TAG >180
ALLOGEN UNRELATED KM und PBSZ	2.3 +/- 2.7 (n=6)	0.5 (n=1)	10 (n=1)
ALLOGEN RELATED KM	0.7 +/- 0.2 (n=6)	0.9 +/- 0.2 (n=3)	0.9 +/- 0.3 (n=3)
ALLOGEN RELATED PBSZ	0.8 +/- 0.2 (n=3)		10 +/- 14.1 (n=2)
AUTOLOG PBSZ	1.3 +/- 0 (n=2)	2.4 +/- 2.3 (n=2)	
CORD BLOOD	0.9 (n=1)		

Abb. 3.3-13: Verlauf des INF γ im KM

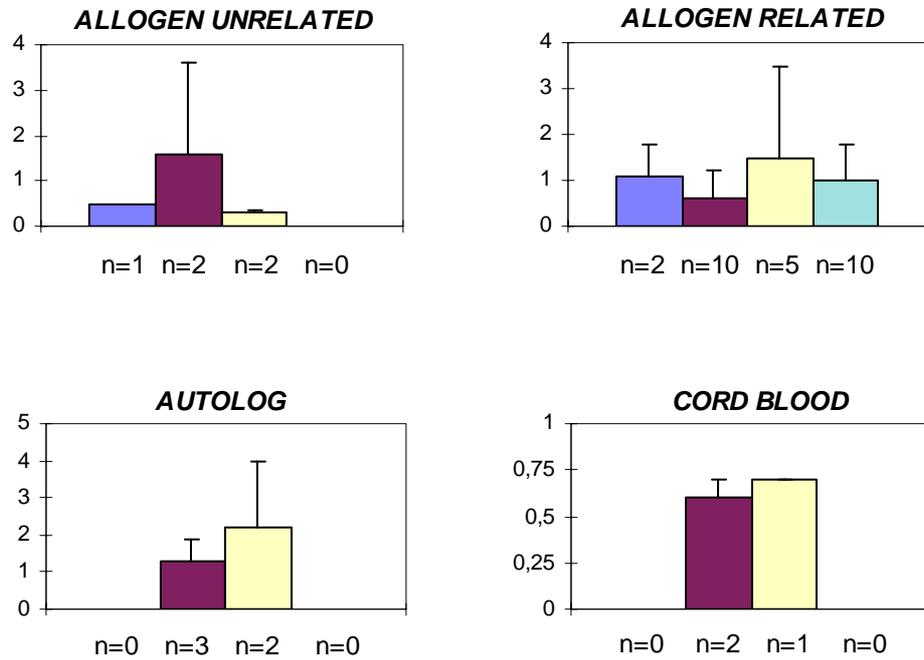
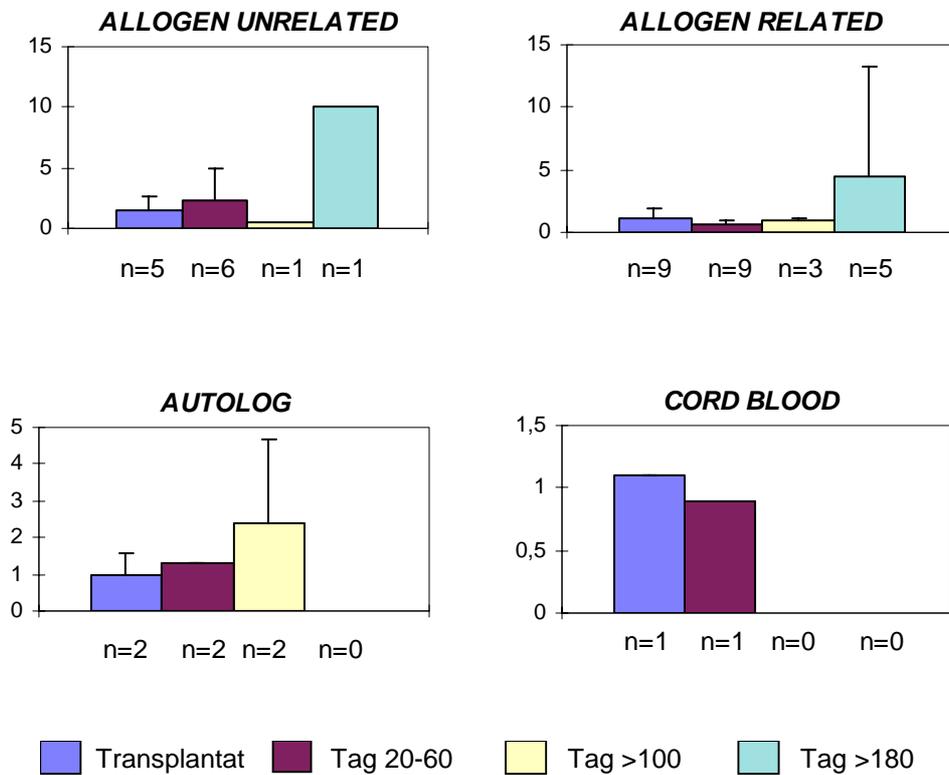


Abb. 3.3-14: Verlauf des INF γ im PB



4. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, ob in vitro Untersuchungen nach einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation relevante Aussagen über den klinischen Verlauf der transplantierten Patienten ermöglichen. Dazu wurden die Rekonstitution des Immunsystems, der Engraftmentzeitpunkt, das Auftreten von akuten Infektionen sowie die Inzidenz und Ausprägung einer GvHD während relevanter Zeiträume untersucht: die Frühphase der Aplasie bis zum Engraftment mit dem Risiko für bakterielle und mykotische Infektionen (Tag 20-60), die Stabilisierungsphase mit dem Risiko für virale Infektionen und der Entwicklung einer chronischen GvHD (Tag >100), und zuletzt die Spätphase mit der Normalisierung der Immunfunktionen und der Rückkehr der Patienten zum Alltagsleben (Tag >180).

Bei der hämatopoetischen Stammzelltransplantation werden die *allogene* und die *autologe* Transplantation unterschieden. Als Stammzellquelle werden Knochenmark, periphere Blutstammzellen oder Cord Blood verwendet. In dieser Studie wurde die Zahl der transplantierten mononukleären Zellen und der Progenitorzellen mit dem Engraftmentzeitpunkt korreliert und geprüft, ob unter diesen jeweils ein Zusammenhang besteht.

Die *allogen unrelated* transplantierten Patienten erhielten durchschnittlich $10.7 \times 10^8/\text{kg KG}$ mononukleäre Zellen und $3 \times 10^6/\text{kg KG}$ Stammzellen. Das Engraftment trat durchschnittlich am Tag +18.2 ein. In der Gruppe der *allogen related* transplantierten Patienten betrug die durchschnittlich transplantierte MNC-Zahl $13.1 \times 10^8/\text{kg KG}$ [PBSZ] bzw. $4.8 \times 10^8/\text{kg KG}$ [KM] und die transplantierte CD34-Zellzahl $7.7 \times 10^6/\text{kg KG}$ [PBSZ] bzw. $5.6 \times 10^6/\text{kg KG}$ [KM]. Die Patienten engrafteten im Durchschnitt am Tag +13.3 [PBSZ] bzw. am Tag +19.8 [KM]. Der Engraftmentzeitpunkt lag früher nach einer *allogen related* [PBSZ] Transplantation als nach einer *allogen related* [KM] ($p < 0.05$) bzw. nach einer *allogen unrelated* Transplantation ($p < 0.05$).

Nagatoshi et al. (2002) untersuchten in einer Studie die *allogen* verwandte Transplantation mit peripheren Stammzellen und Knochenmark. Die transplantierte MNC-Zahl betrug nach PBST $5.5 \times 10^8/\text{kg KG}$ und nach KMT $4.1 \times 10^8/\text{kg KG}$, die

transplantierte CD34-Zellzahl lag nach PBST bei $5.9 \times 10^6/\text{kg KG}$. Das Engraftment trat signifikant früher ($p < 0.05$) nach peripherer Stammzelltransplantation (Tag +11) als nach Knochenmarktransplantation (Tag +15) ein. Mit diesen Ergebnissen konnte bestätigt werden, dass die hämatopoetische Rekonstitution nach PBST signifikant schneller war als nach KMT (Nagatoshi et al. 2002). Miniero et al. (1999) untersuchten 15 Kinder mit hämatologischen Erkrankungen, die einer *allogenen* PBST unterzogen wurden. Die Patienten erhielten durchschnittlich $14.4 \times 10^8/\text{kg KG MNC}$ und $10.4 \times 10^6/\text{kg KG CD34-Zellen}$. Das Engraftment trat im Durchschnitt am Tag +12 ein (Miniero et al. 1999). Auch in einer Studie von Sobrevilla-Calvo et al. (2002) wurde nach *allogener* PBST ein frühes Engraftment am Tag +14 beschrieben.

Diese Ergebnisse können durch unsere Daten bestätigt werden. Die mit PBSZ transplantierten Patienten unserer Studie erhielten zwar deutlich mehr mononukleäre Zellen und Progenitorzellen als in der Studie von Nagatoshi et al. (2002), das Engraftment trat jedoch sowohl in unserer Studie, als auch bei Nagatoshi et al. (2002) früher ($p < 0.05$) nach peripherer Stammzelltransplantation als nach Knochenmarktransplantation auf. Auch Miniero et al. (1999) konnten mit hohen transplantierten MNC- und CD34-Zellzahlen ein frühes Engraftment nach PBST demonstrieren. Die *allogene* periphere Stammzelltransplantation ist durch eine schnelle hämatopoetische Rekonstitution charakterisiert (Blaise et al. 2000, Ottinger et al. 1996, Powles et al. 2000, Sobrevilla-Calvo et al. 2002, To et al. 1997).

Die Höhe der infundierten mononukleären Zellen nach *allogener* peripherer Stammzelltransplantation ist ein wichtiger prognostischer Faktor: eine niedrige MNC-Zahl ist mit einem erhöhten Abstoßungsrisiko und einem langsameren Engraftment assoziiert (Niederwieser et al. 1988), sowie mit einer erhöhten transplantatbedingten Mortalität (Mehta et al. 1997, Sierra et al. 1997, Sierra et al. 2000), unabhängig von der Art des Spenders (*related* oder *unrelated*) und der Quelle der Stammzellen (KM, PBSZ oder CB) (Gluckman et al. 1997, Russell et al. 1999). Bittencourt et al. (2002) konnten nachweisen, dass eine infundierte CD34-Zellzahl von $>3 \times 10^6/\text{kg KG}$ mit einem zügigeren Engraftment assoziiert ist. Mit diesem Ergebnis konnte demonstriert werden, dass die Höhe der transplantierten CD34-Zellen einen signifikanten Einfluss auf die hämatopoetische Rekonstitution hat (Bittencourt et al. 2002). In unserer Studie hingegen konnte nach *allogener*

Transplantation kein signifikanter Zusammenhang zwischen der transplantierten MNC- und CD34-Zahl und dem Engraftmentzeitpunkt festgestellt werden.

Die *autologen* Patienten erhielten $5.6 \times 10^8/\text{kg}$ KG MNC und $5 \times 10^6/\text{kg}$ KG Progenitorzellen. Das Engraftment trat durchschnittlich am Tag +9.7 ein. Die Korrelation des Engraftmentzeitpunktes mit der Höhe der transplantierten Zellen ergab einen nicht signifikanten Zusammenhang ($p < 0.05$) bei den mononukleären Zellen. Die Patienten engrafteten früher, je höher die Zahl der transplantierten MNC-Zahlen war. Auch der Verlauf der Progenitorzellen wies einen Trend auf, der den oben beschriebenen Verlauf der MNC-Zahlen unterstützt.

Diaz et al. (1998) untersuchten 46 Kinder mit hämatologischen Erkrankungen, die eine *autologe* PBST erhielten. Die Patienten erhielten durchschnittlich $7.8 \times 10^8/\text{kg}$ KG MNC und $4.9 \times 10^6/\text{kg}$ KG CD34-Zellen. Das Engraftment trat im Durchschnitt am Tag +9 nach Transplantation auf. Des weiteren wurde ein signifikanter Zusammenhang ($p < 0.05$) zwischen der Höhe der transplantierten CD34-Zellen und dem Engraftmentzeitpunkt beschrieben (Diaz et al. 1998). In einer weiteren von Diaz et al. (2000) durchgeführten Studie wurden 92 Patienten mit *autologer* PBST untersucht. Die durchschnittlich infundierte CD34-Zellzahl betrug $3.2 \times 10^6/\text{kg}$ KG. Das Engraftment trat am Tag +9 ein (Diaz et al. 2000). Wie in der vorherigen Studie von Diaz et al. (1998) wurde auch in dieser Untersuchung von Diaz et al. (2000) eine signifikante Korrelation ($p < 0.05$) zwischen der Höhe der transplantierten CD34-Zellen und dem Engraftmentzeitpunkt beschrieben. Patienten, die $\geq 5 \times 10^6/\text{kg}$ KG CD34-Zellen erhielten, hatten eine signifikant schnellere hämatopoetische Rekonstitution als Patienten, deren Transplantat weniger CD34-Zellen enthielt. Diese schnellere hämatopoetische Wiederherstellung nach hoher infundierter CD34-Zellzahl resultierte in weniger Transfusionen, einer kürzeren intravenösen Antibiotikatherapie und einem kürzeren Krankenhausaufenthalt (Diaz et al. 2000). Aus diesem Grund beschreiben Diaz et al. (1998, 2000) die Höhe der transplantierten Progenitorzellen als den wichtigsten steuerbaren Faktor für das Engraftment nach *autologer* peripherer Stammzelltransplantation.

Diese Ergebnisse werden insofern von unserer Studie bestätigt, als die *autolog* transplantierten Patienten ein frühes und stabiles Engraftment erreichten. Die Höhe der infundierten Progenitorzellen lag in dem von Diaz et al. (1998, 2000)

empfohlenen Bereich von $5 \times 10^6/\text{kg KG}$. Zwar bestand in unseren Untersuchungen kein signifikanter Zusammenhang zwischen den transplantierten CD34-Zellen und dem Engraftmentzeitpunkt, jedoch konnte ein Trend demonstriert werden, der die oben beschriebenen Ergebnisse von Diaz et al. bestätigt.

Die *Cord Blood* Patienten erhielten durchschnittlich $10.5 \times 10^7/\text{kg KG}$ mononukleäre Zellen und $6.1 \times 10^5/\text{kg KG}$ Progenitorzellen. Das Engraftment trat am Tag +27.2 ein. Die Korrelation zwischen Engraftmentzeitpunkt und Höhe der infundierten MNC- und CD34- Zellen ergab keinen signifikanten Zusammenhang. Thomson et al. (2000) untersuchten in einer Studie 27 Kinder nach *Cord Blood* Transplantation. Die durchschnittlich infundierte MNC-Zahl betrug $3.63 \times 10^7/\text{kg KG}$ und die CD34-Zellzahl betrug $1.5 \times 10^5/\text{kg KG}$. Der Engraftmentzeitpunkt lag im Durchschnitt am Tag +27. Es bestand kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Engraftment und der Höhe der infundierten MNC und CD34-Zellen (Thomson et al. 2000). Diese fehlende signifikante Korrelation wurde durch Wagner et al. (1996) bestätigt, wohingegen Kurtzberg et al. (1996), Nishihira et al. (2003) und Rubinstein et al. (1998) eine direkte Korrelation zwischen neutrophilem Engraftment und Höhe der infundierten MNC demonstrierten. Wagner et al. (1996) untersuchte 152 Patienten nach *Cord Blood* Transplantation. Die durchschnittlich infundierte MNC-Zahl betrug $3.1 \times 10^7/\text{kg KG}$, die CD34-Zellzahl $2.8 \times 10^5/\text{kg KG}$. Der Engraftmentzeitpunkt lag im Durchschnitt am Tag +23. Es bestand ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Engraftment und der Höhe der infundierten CD34-Zellen, wohingegen die Korrelation mit den infundierten MNC-Zahlen nicht signifikant war (Wagner et al. 1996). In weiteren Studien wurde der Engraftmentzeitpunkt nach *unrelated Cord Blood* Transplantation zwischen Tag +22-30 beschrieben (Gluckman et al. 1997, Kurtzberg et al. 1996, Nishihira et al. 2003, Rubinstein et al. 1998, Wagner et al. 1996). Als mögliche Erklärung für das verzögerte Engraftment nach *Cord Blood* Transplantation können sowohl die unterschiedliche Zahl an infundierten Progenitorzellen im Vergleich zur KMT herangezogen werden, als auch die Charakteristika der Proliferation, der Rekonstitution und der Differenzierungskapazität von *Cord Blood* Zellen (Locatelli et al. 1996).

Lim et al. (1999) führen aus, daß im Rahmen einer *Cord Blood* Transplantation die nukleären Zellzahlen das hämatopoetische Potential des Transplantates

reflektieren und aus diesem Grund der Zeitpunkt des Engraftments mit der Zahl an infundierten nukleären Zellen korreliert. Die Ergebnisse unserer Studie bestätigen die bekannte Tatsache, dass es nach *Cord Blood* Transplantation zu einem verzögerten, aber stabilen Engraftment kommt (Lim et al. 1999). Im Gegensatz zu den von Thomson et al. (2000) und Wagner et al. (1996) beschriebenen Ergebnissen lagen unsere Werte der infundierten MNC- und CD34-Zahl deutlich höher, das Engraftment trat jedoch zum einem ähnlichen Zeitpunkt ein. In den verschiedenen Studien variieren die Ergebnisse bezüglich eines signifikanten Zusammenhangs zwischen dem Engraftmentzeitpunkt und der transplantierten MNC- und CD34-Zellzahl (vgl. Kurtzberg et al. 1996, Nishihira et al. 2003, Rubinstein et al. 1998, Thomson et al. 2000, Wagner et al. 1996). Es stellt sich daher die Frage, inwieweit die Höhe der infundierten MNC und CD34-Zellen tatsächlich eine Rolle für den Zeitpunkt des Engraftments spielt.

Eine weiterer wichtiger Aspekt der hämatopoetischen Rekonstitution ist der Verbrauch von Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentraten sowie eine mögliche signifikante Korrelation derselben mit der Höhe der transplantierten Stammzellen und mononukleären Zellen. Dazu wurde der Bedarf an Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentraten (EK und TK) nach der Transplantation untersucht. In den *allogenen* Gruppen betrug die Zahl der benötigten EK 0,4 (*unrelated*) und 0,32 [*related* PBSZ] bzw. 0,46 [*related* KM] Einheiten/kg KG und der benötigten TK 57 (*unrelated*) und 22 [*related* PBSZ], bzw. 40 [*related* KM] Einheiten/m² KOF. Diese Differenz ist statistisch nicht signifikant. In der bereits erwähnten Studie von Nagatoshi et al. (2002) konnte ein signifikant früheres thrombozytäres Engraftment nach PBST (Tag +14) als nach KMT (Tag +26) nachgewiesen werden. Auch in den bereits erwähnten Studien von Miniero et al. (1999) und Sobrevilla-Calvo et al. (2002) wurde nach *allogener* PBST ein frühes thrombozytäres Engraftment am Tag +15 beschrieben. Die Ergebnisse unserer Studie sind zwar nicht signifikant, es kann jedoch demonstriert werden, dass die Patienten nach *allogen related* PBST deutlich weniger Thrombozytenkonzentrate benötigten als nach KMT und nach *allogen unverwandter* Transplantation. Damit lässt sich die Erkenntnis bestätigen, dass eine *allogene* PBST eine schnellere hämatopoetische Rekonstitution begünstigt als eine KMT. Des Weiteren ergab die Korrelation zwischen der Anzahl der transplantierten

CD34-Zellen pro kg KG und dem TK-Verbrauch in der Gruppe der *allogen unrelated* transplantierten Patienten unserer Studie einen signifikanten Zusammenhang ($p < 0.01$). Je höher die Zahl der transplantierten CD34-Zellen lag, desto weniger Thrombozytenkonzentrate wurden von den Patienten benötigt. Anhand dieses Ergebnisses kann man schlussfolgern, dass eine schnelle hämatopoetische Rekonstitution nach *allogen unrelated* Transplantation u.a. von der Zahl der transplantierten CD34-Zellen abhängt.

Die *autologen* Patienten in unserer Studie benötigten 0.09 Einheiten/kg KG Erythrozytenkonzentrate und 10 Einheiten/m² KOF Thrombozytenkonzentrate. Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen transplantierten MNC- und CD34-Zahlen und benötigten EK und TK beschrieben werden. Diaz et al. konnten in ihren Studien ein frühes thrombozytäres Engraftment am Tag +15 (Diaz et al. 1998) bzw. am Tag +13 (Diaz et al. 2000) nachweisen. Des Weiteren wurde in beiden Studien ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Höhe der infundierten CD34-Zahl und dem thrombozytären Engraftment beschrieben. Je geringer die Zahl der infundierten CD34-Zellen, desto später lag der Zeitpunkt des thrombozytären Engraftments. Eine CD34-Zellzahl von 5×10^6 /kg KG ermöglicht ein schnelles neutrophiles und thrombozytäres Engraftment. Eine CD34-Zellzahl von 1×10^6 /kg KG scheint für ein zügiges neutrophiles Engraftment ausreichend, ist jedoch für ein thrombozytäres Engraftment insuffizient (Diaz et al. 1998, 2000). Auch Kiss et al. (1997) und Sheridan et al. (1992) beschrieben in ihren Studien, dass das schnelle thrombozytäre Engraftment bei Patienten, die $\geq 5 \times 10^6$ /kg KG CD34-Zellen erhielten, verglichen mit Patienten, deren Transplantat nur eine suboptimale CD34-Zellzahl enthielt, einen großen Vorteil bietet. In weiteren retrospektiven Studien konnte gezeigt werden, dass Transfusionen mit $> 5 \times 10^6$ /kg KG CD34-Zellen zu einem schnelleren neutrophilen und thrombozytären Engraftment führen, der Bedarf an TK reduziert wird und die Dauer des Krankenhausaufenthaltes verkürzt wird (Dercksen et al. 1995, Kiss et al. 1997, van der Wall et al. 1994, Weaver et al. 1995).

Die Ergebnisse unserer Studie bestätigen die oben genannten Aussagen, da der Bedarf an EK und TK nach *autologer* Transplantation sehr gering und signifikant niedriger ($p < 0.05$) als nach *allogener* Transplantation war. Das Transplantat der *autologen* Patienten enthielt mit 5×10^6 /kg KG CD34-Zellen die von Diaz et al. (1998,

2000) empfohlene Menge. Die zügige und stabile hämatopoetische Rekonstitution nach *autologer* PBST kann demnach auch anhand unserer Ergebnisse demonstriert werden. Die Verwendung von peripheren Stammzellen führt zu einer schnelleren hämatopoetischen Wiederherstellung als Knochenmark, vor allem aufgrund der höheren Zahl an infundierten Progenitorzellen die die Qualität des Transplantates festlegt (Diaz et al. 2000).

Die *Cord Blood* Patienten unserer Studie benötigten 0.81 Einheiten/kg KG EK und 83 Einheiten/m² KOF TK. Es konnte ein signifikanter Zusammenhang ($p < 0.005$) zwischen dem Bedarf an Thrombozytenkonzentraten und der Höhe der infundierten MNC-Zahlen festgestellt werden sowie ein nicht signifikanter Zusammenhang ($p < 0.05$) zwischen dem Bedarf an Thrombozytenkonzentraten und der Höhe der infundierten CD34-Zahlen. Je höher der Wert der transplantierten Zellzahl war, desto mehr TK wurden von den Patienten benötigt. Dieses Ergebnis sollte jedoch unter Berücksichtigung des geringen Datensatzes nach *Cord Blood* Transplantation in unserer Studie bewertet werden und lässt sich möglicherweise durch die lange Aplasiaphase nach *Cord Blood* Transplantation erklären. In anderen Studien lag das durchschnittliche thrombozytäre Engraftment nach *Cord Blood* Transplantation am Tag +75 (Thomson et al. 2000) bzw. am Tag +86 (Wagner et al. 2002). Weiterhin beschrieben Wagner et al. (2002) einen signifikanten Zusammenhang ($p < 0.01$) zwischen dem thrombozytären Engraftment nach 6 Monaten und einer höheren CD34-Zellzahl. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass das thrombozytäre Engraftment nach *Cord Blood* Transplantation deutlich später eintritt, als nach *allogener* und *autologer* Transplantation, wie bereits dargelegt wurde (vgl. S.66/67). Die Ergebnisse von Thomson et al. 2000 und Wagner et al. 2002 können mit unseren Ergebnissen bestätigt werden, da die Patienten nach *Cord Blood* Transplantation ein sehr hohes Maß an EK und TK benötigten und der Bedarf signifikant höher ($p < 0.05$) als nach *allogen related* [PBSZ] und *autologer* Transplantation war. Daraus könnte man ableiten, daß trotz des späten neutrophilen und thrombozytären Engraftments nach *Cord Blood* Transplantation die hämatopoetische Rekonstitution nicht negativ beeinflusst zu sein scheint.

T-Lymphozyten haben die Aufgabe der zellulären Immunabwehr und damit u.a. der Verhinderung des Auftretens von Infektionen. Weiterhin kommt den T-

Zellen eine zentrale Bedeutung bei der Entstehung einer GvHD zu, die eine immunologische Reaktion zwischen den Spenderzellen und parenchymatösen Organen darstellt und zu schwerwiegenden Komplikationen führen kann. In unserer Studie lag die Höhe der transplantierten T-Lymphozyten in der *allogen unrelated* Gruppe bei $2.04 \times 10^8/\text{kg KG}$, es erkrankten 6 Patienten an einer GvHD $\leq \text{II}^\circ$ und 2 Patienten an einer GvHD $> \text{II}^\circ$. In der *allogen related* Gruppe betrug die Höhe der transplantierten T-Lymphozyten $5.6 \times 10^8/\text{kg KG}$ [PBSZ] bzw. $0.2 \times 10^8/\text{kg KG}$ [KM], es erkrankten 10 Patienten [PBSZ] an einer GvHD $\leq \text{II}^\circ$ und 1 Patient [PBSZ] bzw. 3 Patienten [KM] an einer GvHD $> \text{II}^\circ$. Der HLA-Status in den Gruppen war in etwa vergleichbar (matched > mismatched). Diese Ergebnisse zeigen, dass die Patienten der *allogen unrelated* und *related* Gruppen trotz unterschiedlich hoher T-Zellzahlen in den Transplantaten etwa gleich häufig an einer GvHD erkrankten. Dabei fällt jedoch der deutliche Unterschied bezüglich des Ausprägungsgrades der GvHD auf. Trotz einer mehr als doppelt so hohen Zahl an transplantierten T-Zellen in der *allogen related* [PBSZ] Gruppe verglichen mit der *allogen unrelated* Gruppe kam es zu einer ähnlichen Inzidenz einer GvHD, aber zu einer deutlich niedrigeren Inzidenz einer GvHD $> \text{II}^\circ$. In der *allogen related* Gruppe bestand eine GvHD nach KMT zwar seltener als nach PBST, es lag jedoch bei allen Patienten eine GvHD $> \text{II}^\circ$ vor. Die Höhe der transplantierten T-Lymphozyten war nach KMT wesentlich geringer als nach PBST.

In der Studie von Nagatoshi et al. (2002) erkrankten 62.5% der Kinder und Jugendlichen nach PBST und 68% nach KMT an einer akuten GvHD. Dieser Unterschied war nicht signifikant (Nagatoshi et al. 2002). Miniero et al. (1999) beschrieben die Inzidenz einer akuten GvHD II° - IV° nach *allogener* PBST mit 50% in ihren Untersuchungen. Die Höhe der transplantierten CD3-Zellzahl betrug $3.7 \times 10^8/\text{kg KG}$ (Miniero et al. 1999). In einer Studie von Sobrevilla-Calvo et al. (2002) erkrankten 21% der Patienten nach *allogener* PBST an einer akuten GvHD. In der Studie von Bittencourt et al. (2002) trat bei 47.6% der Patienten nach *allogener* KMT eine GvHD $\geq \text{II}^\circ$ auf und bei 17% eine GvHD III° - IV° . Die Inzidenz einer akuten GvHD in unserer Studie befand sich in etwa in der gleichen Größenordnung wie in den oben beschriebenen Studien, trotz unterschiedlich hoher infundierter CD3-

Zellzahlen. Es scheint daher kein wesentlicher Unterschied in der Häufigkeit einer GvHD nach *allogene unrelated* und *related* sowie nach KMT und PBST zu bestehen.

Miniero et al. (1999) nehmen an, dass die akute GvHD nach PBST in erster Linie durch das HLA-mismatch zwischen Spender und Empfänger und weniger durch die Zahl der infundierten CD3-Zellzahlen hervorgerufen wird (Miniero et al. 1999). Auch Bensinger et al. (1996) und Majolino et al. (1996) stellten fest, dass eine hohe Zahl an transplantierten T-Lymphozyten in bisherigen Untersuchungen nicht mit einem vermehrten Auftreten einer akuten GvHD korrelierte (Bensinger et al. 1996, Majolino et al. 1996). Die theoretische Möglichkeit, dass eine akute GvHD nach *allogener* PBST häufiger auftritt und schwerer verläuft, als nach KMT, konnte in klinischen Studien allerdings bisher nicht bestätigt werden (Bensinger et al. 1995, Sobrevilla-Calvo et al. 2002). Auch Trenschele et al. (1998) schlossen aufgrund eines längeren rezidivfreien Überlebens durch die chronische GvHD und den damit zusammenhängenden GvL Effekt sowie eine bessere Verhütung opportunistischer Infektionen durch höhere Helferzellzahlen nach Transplantation, dass die PBST Vorteile gegenüber der KMT bietet.

Die *Cord Blood* Patienten dieser Studie erhielten durchschnittlich 1.0×10^7 /kg KG T-Zellen, die Transplantate waren mismatched. In unserer Studie erkrankten jeweils 2 von 6 Patienten an einer GvHD \leq II° und an einer GvHD $>$ II°. Aus diesen Ergebnissen könnte man schlußfolgern, dass es nach *Cord Blood* Transplantation trotz wesentlich geringerer T-Zellzahlen im Transplantat zu einer ähnlichen Inzidenz der Häufigkeit einer GvHD und einer höheren Inzidenz einer GvHD $>$ II° kommt, als nach *allogener* Transplantation. Jedoch sollte bei diesen Überlegungen der geringe Datensatz mit *Cord Blood* Transplantaten in dieser Studie berücksichtigt werden.

Nishihira et al. (2003) untersuchten 193 Patienten nach *Cord Blood* Transplantation. Es erkrankten 68.9% an einer akuten GvHD. Die geschätzte Inzidenz einer akuten GvHD war 47.1% bei Patienten mit HLA-identischem *Cord Blood* Transplantat, und 29.3% bei Patienten mit mismatched *Cord Blood* Transplantat. Die HLA-Differenzen zwischen Spender und Empfänger sowie der Status der Erkrankung ergab keinen signifikanten Zusammenhang mit der Entwicklung einer akuten GvHD (Nishihira et al. 2003). In der Studie von Thomson et al. (2000) trat eine GvHD $>$ II° bei 37.2% auf. Wagner et al. (2002) untersuchten 152 Patienten nach *Cord*

Blood Transplantation. Die durchschnittlich transplantierte CD3-Zellzahl lag bei $0.8 \times 10^7/\text{kg KG}$. 41.5% der Patienten erkrankten an einer akuten GvHD. Es wurde keine Assoziation mit der Höhe der transplantierten CD3-Zahl oder dem HLA-match festgestellt. Daraus wurde geschlossen, dass *Cord Blood* Transplantate trotz eines HLA-mismatch mit einem niedrigen GvHD-Risiko assoziiert sind (Wagner et al. 2002). O'Reilly et al. (1996) berichteten, dass unter Berücksichtigung der geringeren GvHD-Inzidenz bei *Cord Blood* Transplantationen mehr HLA-Differenzen akzeptiert werden können als bei KM- oder PB-Transplantationen.

Die Ergebnisse unserer Studie, obschon wegen des geringen Datensatzes nicht statistisch relevant, wiesen insgesamt auf eine höhere GvHD-Inzidenz bei mismatched Transplantaten hin als in den anderen beschriebenen Studien. Die GvHD-Inzidenz in der *Cord Blood* Gruppe lag höher als nach *allogene unrelated* und *related* Transplantation; dies schien jedoch keinen bedeutenden Einfluss auf die hämatopoetische Rekonstitution nach *Cord Blood* Transplantation zu haben. Nishihira et al. 2003 konnten demonstrieren, dass Patienten mit HLA-identischem CB-Transplantat eine höhere GvHD-Inzidenz hatten als Patienten mit einem HLA-mismatched Transplantat. Dieses Ergebnis bestätigt die Aussage von O'Reilly et al. (1996), dass das HLA-match bzw. mismatch keine wesentliche Rolle für die Entstehung einer GvHD spielt.

Bakterielle und mykotische Infektionen nach Knochenmarktransplantation bei Kindern stellen eine bedeutende Ursache für Morbidität und Mortalität dar (Engelhard et al. 1986). In unserer Studie wurden nach *allogener*, *autologer* und *Cord Blood* Transplantation bakterielle Infektionen am häufigsten beobachtet, wohingegen virale und mykotische Infektionen bei allen Patienten etwa gleich selten auftraten.

In den beiden *allogenen* Gruppen erkrankten 7 (*unrelated*) und 8 (*related* [PBSZ]) bzw. 3 Patienten (*related* [KM]) an einer bakteriellen Infektion. Eine Cytomegalievirus-Infektion (CMV) trat bei 2 (*unrelated*) und 5 Patienten (*related* [PBSZ]) auf und an einer mykotischen Infektion (*Candida albicans*) erkrankten 2 (*unrelated*) und 3 (*related* [PBSZ]) bzw. 2 Patienten (*related* [KM]). Nach *related* KMT trat bei keinem Patienten eine CMV-Infektion auf. An einer Sepsis erkrankten nach *allogener* Transplantation 4 (*unrelated*) und 3 (*related* [PBSZ]) bzw. 2 Patienten (*related* [KMT]). Diese Zahlen zeigen, dass bakterielle Infektionen in den *allogenen* Gruppen

nahezu gleich häufig auftraten, wohingegen eine CMV-Infektion nach *allogen unrelated* Transplantation nur halb so häufig wie nach *allogen related* PBSZ auftrat. Eine Candidose trat nach *unrelated* und *related* PBSZ etwa gleich häufig auf, nach *related* KMT jedoch fast doppelt so häufig. Daraus könnte gefolgert werden, dass die schnellere hämatopoetische Rekonstitution nach *allogen related* PBST nicht zu einer Reduktion der Häufigkeit einer akuten Infektion führt. Demgegenüber erkrankten jedoch nur etwa halb so viele Patienten nach *related* PBST an einer Sepsis als nach *unrelated* und *related* KMT. Aus diesem Ergebnis könnte man wiederum schließen, dass die Schwere einer akuten Infektion durch die schnellere hämatopoetische Rekonstitution nach *allogen related* PBST reduziert wird. Diese Schlussfolgerung stimmt im übrigen auch mit der Aussage von Trenchel et al. (1998) überein, daß nach PBST eine Reduktion der Auftretenshäufigkeit bzw. der Schwere einer opportunistischen Infektion zu erwarten ist, da nach PBST signifikant höhere Zahlen der T-Helferzellen als nach KMT nachgewiesen werden. Bittencourt et al. (2002) untersuchten in ihrer Studie 214 Patienten mit *allogener* KMT. Bei 28,3% der Patienten trat nach der Transplantation eine bakterielle Infektion auf, insgesamt erkrankten 62,7% der Patienten an einer bakteriellen, viralen oder mykotischen Infektion (Bittencourt et al. 2002).

Nach *autologer* Transplantation erkrankten 8 Patienten an einer bakteriellen Infektion und 5 Patienten an einer Infektion mit *Candida albicans*. Eine CMV-Infektion trat bei keinem Patienten auf. An einer Sepsis erkrankten 3 Patienten. Diese Daten zeigen, dass wesentlich weniger Patienten an einer bakteriellen Infektion, einer CMV-Infektion und an einer Sepsis nach *autologer* als nach *allogener* Transplantation erkrankten. Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass die zügige und stabile hämatopoetische Rekonstitution nach *autologer* Transplantation einen wesentlichen Einfluss auf die Inzidenz von akuten Infektionen hat.

In der *Cord Blood* Gruppe erkrankten 3 Patienten an einer bakteriellen Infektion, 1 an einer CMV-Infektion und 2 Patienten an einer Candidose. Eine Sepsis trat bei 2 von 6 der Patienten auf. Thomson et al. (2000) untersuchten 27 Patienten nach *Cord Blood* Transplantation. Es erkrankten 53% der Patienten an einer Infektion III°-IV° (Einteilung nach „National Institutes of Health toxicity scale“). Dieses Ergebnis stimmt mit unseren Daten in etwa überein. Nach *Cord Blood*

Transplantation zeigte sich in unserer Studie kein wesentlicher Unterschied bezüglich der Häufigkeit einer akuten Infektion als nach *allogener* Transplantation. Trotz des protrahierten Engraftments und der damit verzögerten hämatopoetischen Rekonstitution nach *Cord Blood* Transplantation, scheint jedoch keine erhöhte Inzidenz von akuten Infektionen zu bestehen.

Ein weiterer wichtiger Aspekt der hämatopoetischen Rekonstitution ist die Entwicklung der Zellpopulationen im Anschluss an die Transplantation. Dazu wurden die prozentualen Werte der Progenitorzellen, der T- und B-Lymphozyten, der Monozyten, Granulozyten und NK-Zellen mittels Facs-Analysen am Tag 20-60, am Tag >100 und am Tag >180 nach der Transplantation in den Gruppen miteinander verglichen. In den *allogen* transplantierten Gruppen zeigten sich in den ersten vier Monaten nach Transplantation steigende Werte der Stammzellen im KM, die sich im weiteren Verlauf bei den *related* [KM] und *unrelated* transplantierten Patienten wieder reduzierten. Bei den *autolog* transplantierten Patienten kam es zu einem deutlichen Anstieg der Stammzellen im KM innerhalb der ersten sechs Monate, bei den *Cord Blood* Patienten innerhalb der ersten vier Monate nach Transplantation, der im weiteren Verlauf nicht stabilisiert werden konnte. Es wird deutlich, dass innerhalb der ersten drei Monate nach Transplantation die Stammzellen in allen Gruppen relativ deutlich anstiegen.

Ashihara et al. (1994), Charbonnier et al. (1997) und Roberts et al. (1993) beschreiben, dass die *autologe* Transplantation mit peripheren Stammzellen zu einer schnelleren Wiederherstellung der Lymphozytenzahlen und der T-Zellsubpopulationen führt als die *allogene* und die *autologe* KMT. Die von Trenschele et al. (1998) durchgeführte Studie zeigt, dass die Rekonstitution der CD3-Zellen nach *related* KMT und PBST in den ersten vier Monaten vermindert ist. Bemerkenswert ist jedoch ein initialer CD3-Überschuss nach PBST. Dies wird auf die erhöhte Zahl der infundierten T-Zellen durch die mit G-CSF mobilisierten Stammzellen und die Anwesenheit einer relativ hohen Zahl an NK-Zellen zurückgeführt. Eine deutliche Zunahme der T-Zellen zeigte sich bei der KMT nach vier Monaten und bei der PBST nach sechs Monaten. Nach neun Monaten waren die CD3-Level bei allen Patienten wieder im Normbereich (Trenschele et al. 1998). Ottinger et al. (1996) zeigte anhand einer Gruppe von 20 *allogen* PBSZ transplantierten Patienten, dass es zu einer

schnelleren Erholung der T-Lymphozyten, insbesondere der CD4-Lymphozyten, nach *allogener* Transplantation mit peripheren Stammzellen als nach Knochenmarktransplantation kommt (Ottinger et al. 1996).

Unsere eigenen Patienten zeigten nach *allogen unrelated* und *related* [KM] Transplantation initial einen protrahierteren Anstieg der T-Zellen insbesondere im KM. Sie erreichten erst nach etwa vier Monaten den Referenzbereich verglichen mit den Patienten der *allogen related* [PBSZ] Gruppe, bei denen die T-Zellen im KM bereits etwa einen Monat nach Transplantation im Referenzbereich lagen. Die T-Lymphozyten konnten sich im Verlauf weiter stabilisieren, wobei die *related* transplantierten Patienten sechs Monate nach Transplantation sogar deutlich erhöhte Werte im KM aufwiesen. Dieses Ergebnis bestätigt die Aussage von Trenschele et al. (1998), dass die Rekonstitution der T-Lymphozyten nach *allogen related* KMT in den ersten vier Monaten im KM und PB und nach *allogen related* PBST im PB vermindert ist. Der von ihm beschriebene initiale CD3- Überschuss nach *related* PBST konnte bei unseren Untersuchungen ebenso wie die von Charbonnier et al. (1997) beschriebene zügigere Rekonstitution der T-Helferlymphozyten nach *related* PBST nachgewiesen werden.

Der von Ashihara et al. (1994), Charbonnier et al. (1997) und Roberts et al. (1993) beschriebene initiale Anstieg der T-Zellen im KM und PB nach *autologer* Transplantation war bei unseren Patienten wesentlich stärker ausgeprägt. Im weiteren Verlauf reduzierten sich die T-Zellen allerdings wieder deutlich. Locatelli et al. (1996) berichteten, dass in Anbetracht der deutlich geringeren Zahl an infundierten nukleären Zellen bei *Cord Blood* Transplantationen im Vergleich zur KMT die Rekonstitution der T-Lymphozytenzahlen und -funktion auf Normalwerte sehr schnell verlief, sofern keine viralen und opportunistischen Infektionen vorlagen. Atkinson (1990) und Lum (1987) vermuteten, dass diese zügige Wiederherstellung der T-Zellimmunität sowohl durch das Ausbleiben einer akuten oder chronischen GvHD beeinflusst worden sein kann, als auch durch die Maßnahme, die GvHD Prophylaxe innerhalb von 2 Monaten nach *Cord Blood* Transplantation zu unterbrechen. In unserer Studie verlief die Rekonstitution der T-Zellen bei den *Cord Blood* Patienten im KM sehr protrahiert im Gegensatz zu den *allogenen* und *autologen* Gruppen. Sechs Monate nach Transplantation wurden deutlich erhöhte Werte

erreicht. Im peripheren Blut dagegen stiegen die Werte schon nach gut drei Monaten an und nach sechs Monaten ließen sich deutlich erhöhte T-Zellzahlen nachweisen. Giraud et al. (2000) demonstrierten demgegenüber in ihrer Studie, dass die T-Zellen in den ersten 12 Monaten nach *Cord Blood* Transplantation vermindert waren. Diese Aussage läßt sich anhand unserer Daten nur in den ersten Monaten nach Transplantation bestätigen. Trotz eines deutlich länger bestehenden T-Zelldefektes nach *Cord Blood* Transplantation bestand bei unseren Patienten keine wesentlich erhöhte Inzidenz von Infektionen und GvHD, wie bereits oben diskutiert wurde.

Immundefekte nach *allogenen* Knochenmarktransplantationen zeigen sich in einer langsamen Wiederherstellung der T-Helferzellen, wohingegen die T-Suppressorzellen ihre Funktion schneller wiedererlangen. Daraus resultiert ein subnormaler CD4/CD8-Quotient, der etwa zwei Jahre lang andauert (Atkinson et al. 1982, Keever et al. 1989, Linch et al. 1983, Lum et al. 1987, Soiffer et al. 1990). Auch Ashihara et al. (1994) und Ho et al. (1992) fanden eine verminderte Zahl der CD4-Lymphozyten und eine schnelle Erholung der CD8-Zahlen heraus. In unserer Studie reduzierte sich der Quotient der T-Helfer- und T-Suppressorzellen nach *allogen unrelated* und *related* Transplantation bis zum Tag >180 im KM und PB um die Hälfte und lag damit deutlich unter dem Referenzwert von >2. Charbonnier et al. (1997) berichteten, dass der relative und absolute Anteil der T-Lymphozyten nach *allogener* PBST signifikant höher war als nach *allogener* KMT. Der CD4/CD8-Quotient ist somit innerhalb der ersten 6 Monate nach Transplantation signifikant unterschiedlich und die typische Reduktion der T-Lymphozyten ist nach PBST weniger stark ausgeprägt als nach KMT (Charbonnier et al. 1997). Diese Aussage kann mit unseren Ergebnissen nicht bestätigt werden, da es sowohl nach *related* PBST, als auch nach KMT zu einer deutlichen Reduktion des CD4/CD8-Quotienten kam.

Auch bei den *autologen* Patienten unserer Studie lag der Quotient aus T-Helfer- und T-Suppressorzellen deutlich unter dem Referenzwert von >2. Kalwak et al. (2002) berichteten über einen inversen CD4/CD8-Quotient nach *autologer* Transplantation ab dem Tag +30 während 18 Monaten nach der Transplantation. Charbonnier et al (1997) beschrieben einen niedrigeren CD4/CD8-Quotient nach *autologer* PBST als nach *allogener* PBST aufgrund einer höheren CD8-Lymphozytenzahl. Diese Aussage stimmt mit unseren Daten innerhalb der ersten 2

Monate nach Transplantation überein; danach lag der Quotient im PB nach *autologer* Transplantation höher als nach *related* PBST. Mackall et al. (2000) berichteten über eine protrahierte Reduktion der CD4-Zellen nach *autologer* Transplantation, die mit einer erhöhten Rezidivrate und einer relativ erhöhten Inzidenz von opportunistischen und viralen Infektionen korrelierte. Diese Aussage kann anhand unserer Daten nicht bestätigt werden, da die *autologen* Patienten trotz einer verminderten Zahl der CD4-Zellen keine erhöhte Inzidenz an akuten Infektionen aufwiesen, wie bereits weiter oben diskutiert wurde.

Nach *Cord Blood* Transplantation erholten sich die CD8-Zellen nach durchschnittlich 9 Monaten und die CD4-Zellen nach 12 Monaten (Thomson et al. 2000), so dass sich eine charakteristische Inversion des CD4/CD8-Quotienten in den ersten 6 Monaten nach Transplantation zeigt (Locatelli et al. 1996). Auch in unseren Daten wurde ein deutlich erniedrigter CD4/CD8-Quotienten bei den *Cord Blood* Patienten im Anschluß an die Transplantation festgestellt. Demgegenüber beschrieben Giraud et. al (2000), dass insbesondere die T-Suppressorzellen innerhalb der ersten 12 Monate nach Transplantation vermindert waren, wohingegen die T-Helferzellen weniger stark beeinträchtigt waren.

Charbonnier et al. (1997) fanden einen stark verminderten relativen und absoluten Anteil der B-Lymphozyten innerhalb der ersten sechs Monate nach *allogener* Transplantation heraus. Nach PBST erholten sich die B-Lymphozyten nicht schneller als nach KMT (Charbonnier et al. 1997). In unseren Untersuchungen wurden bereits nach einem Monat deutlich erhöhte B-Lymphozytenzahlen nach *allogen unrelated und related* Transplantation im KM erreicht. Im PB war der Verlauf insgesamt etwas protrahierter. Nach sechs Monaten wiesen die *allogenen* Gruppen, insbesondere im KM, Werte deutlich oberhalb des Referenzbereiches auf. Damit kann die Aussage von Charbonnier et al. (1997), dass sich die B-Lymphozyten nach PBST nicht zügiger als nach KMT erholen, durch unsere Daten bestätigt werden.

Kalwak et al. (2002) berichtete, dass die B-Lymphozyten nach *autologer* Transplantation den Referenzbereich zwei Monate nach Transplantation erreichten. Bei den *autologen* Patienten unserer Studie setzte die Rekonstitution der B-Lymphozyten im KM und PB insgesamt früher und schneller ein als bei den *allogenen* Patienten. Die Aussage von Kalwak et al. kann somit bestätigt werden.

Nach *Cord Blood* Transplantation wurde schon in anderen Untersuchungen ein eindrucksvoller und zügiger Anstieg der relativen und absoluten B-Lymphozytenzahlen beobachtet (Giraud et al. 2000, Locatelli et al. 1996), u.a. mit einer Rekonstitution der B-Zellen nach durchschnittlich 6 Monaten (Thomson et al. 2000). Dieses Phänomen wurde nicht nach KMT beobachtet und scheint ein charakteristisches Merkmal der *Cord Blood* Transplantation zu sein (Locatelli et al. 1996). Auch diese Ergebnisse werden durch unsere Daten bestätigt, da die B-Zellzahlen nach *Cord Blood* Transplantation im KM und im PB im Verlauf von sechs Monaten nach Transplantation insgesamt deutlich erhöht waren. Giraud et al. (2000) fanden heraus, dass sechs und neun Monate nach Transplantation die B-Lymphozyten die vorherrschende Lymphozytenuntergruppe mit normalen oder erhöhten B-Zellzahlen darstellen.

Ottinger et al. (1996) fanden heraus, dass die mittleren Monozytenzahlen sehr schnell den Referenzwert nach PBST und KMT erreichten und das obere Limit der Normalwerte nach PBST erreichten. Der Monozytenpeak, der schnell nach PBST beobachtet wurde, kann auf die Kombination einer hohen Zahl an transplantierten Monozyten und der Stimulation der Myelopoese durch G-CSF zurückgeführt werden (Ottinger et al. 1996). Dies kann durch unsere Daten bestätigt werden, da innerhalb des ersten halben Jahres nach Transplantation die Monozyten im KM in der *allogene related* und *unrelated* Gruppe deutlich erhöhte Werte aufwiesen, wobei dieser Überschuss in der *related* Gruppe nach PBST bereits nach einem Monat zu messen war. Hierbei handelt es sich aller Wahrscheinlichkeit nach um den von Ottinger et al. (1996) beschriebenen Monozytenpeak nach PBST. Auch im PB kam es mit Ausnahme der *related* KMT Patienten nach *allogener* Transplantation bereits nach ca. vier Wochen zu einem zügigen Anstieg der Monozyten, der im weiteren Verlauf stabil blieb.

Nach *autologer* Transplantation zeigten unsere Patienten ebenso wie bei den *allogenen* Patienten bereits nach vier Wochen erhöhte Werte im KM, die in den folgenden drei Monaten noch weiter anstiegen. Im PB war der Anstieg nicht so ausgeprägt, wie bei den *allogenen* Patienten; dort wurden erst nach sechs Monaten stabile Werte erreicht.

Bei den *Cord Blood* Patienten unserer Studie wiesen die Monozyten bereits vier Wochen nach Transplantation ebenfalls erhöhte Zahlen im KM und PB auf, die auch im weiteren Verlauf nach sechs Monaten bestehen blieben. Diese Ergebnisse zeigen eine ähnlich schnelle Rekonstitution der Monozyten in allen Gruppen unserer Studie.

Untersuchungen zeigen, dass die neutrophilen Granulozyten eine signifikant schnellere Rekonstitution nach PBST als nach KMT erreichten (Bensinger et al. 1995, Körbling et al. 1995a&b, Pavletic et al. 1997, Przepiorka et al. 1995, Schmitz et al. 1995, Trenscherl et al. 1998). Diese Aussage konnte anhand unserer Ergebnisse bestätigt werden, da in der *related* Gruppe nach peripherer Stammzelltransplantation im Vergleich zur Knochenmarktransplantation bereits nach einem Monat im KM und PB steigende Werte nachgewiesen wurden, die sich innerhalb von sechs Monaten weiter stabilisieren konnten. Einen ähnlich zügigen und stabilen Verlauf mit Granulozytenzahlen z.T. deutlich oberhalb des Referenzbereiches zeigten auch die Patienten nach *allogen unrelated*, *autologer* und *Cord Blood* Transplantation. Die Ergebnisse unserer Studie lassen schlußfolgern, dass zwischen *allogenen*, *autologen* und *Cord Blood* Transplantationen bezüglich der Rekonstitution der Granulozyten kein nennenswerter Unterschied besteht.

Charbonnier et al. (1997) berichtete, daß die natürlichen Killerzellen nach *allogener* Transplantation mit peripheren Stammzellen signifikant höhere Werte aufwiesen als nach *allogener* Knochenmarktransplantation (Charbonnier et al. 1997), und daß nach KMT die NK-Zellen im PB schnell auf die Referenzwerte anstiegen (Atkinson 1990, Ottinger et al. 1996). Unsere eigenen Daten bestätigen diese Annahmen, da die NK-Zellen nach *allogen related* Transplantation mit peripheren Stammzellen im KM und PB insgesamt früher und schneller anstiegen als nach Knochenmarktransplantation. Nach *allogen related* KMT stiegen die NK-Zellen im PB bereits nach einem Monat an und konnten sich im weiteren Verlauf noch stabilisieren.

Aotsuka et al. (1991), Smith et al. (1988) und Trenscherl et al. (1998) beschrieben, dass die natürlichen Killerzellen zunächst normale Werte nach KMT und PBST erreichten. Merkwürdigerweise kam es nach einem Jahr zu einer Reduktion auf subnormale Werte nach KMT, während die Zahlen nach PBST weiterhin stabil blieben (Aotsuka et al. 1991, Smith et al. 1988, Trenscherl et al. 1998)

In unseren Untersuchungen wurde nach *related* KMT auch eine deutliche Reduktion der NK-Zellen im PB nach sechs Monaten gemessen. Die *allogen unrelated* transplantierten Patienten in unserer Studie erreichten einen zügigen Anstieg der NK-Zellen im KM und PB bereits einen Monat nach Transplantation, die sich im weiteren Verlauf noch erhöhten.

Kalwak et al. (2002) fand nach *autologer* Transplantation heraus, dass ab dem Tag +30 nach der Transplantation die NK-Zellen Normalwerte erreichten. Bei den *autologen* Patienten unserer Studie zeigte sich im PB bereits nach einem Monat ein Anstieg der Werte. Die NK-Zellen stiegen vor allem im KM, aber auch im PB innerhalb der ersten vier Monate nach Transplantation wesentlich stärker an als bei den *allogenen* Patienten.

In der Untersuchung von Locatelli et al. (1996) mit *Cord Blood* transplantierten Patienten konnte demonstriert werden, dass die NK-Aktivität insbesondere in der ersten Zeit bei einigen Patienten erhöht war, bei anderen Patienten wiederum normal war (Locatelli et al. 1996). Thomson et al. (2000) fand in seiner Studie heraus, dass es bereits nach 2 Monaten zu einer Rekonstitution der NK-Zellen kam. Giraud et al. (2000) schrieben über die Ergebnisse ihrer Untersuchungen, dass die relative Zahl der NK-Zellen innerhalb der ersten 6 Monate nach *Cord Blood* Transplantation erhöht war, aber die absolute Zahl im Referenzbereich lag. Diese Daten sind mit unseren Ergebnissen vergleichbar, da unsere Patienten im Verlauf der ersten sechs Monate nach *Cord Blood* Transplantation sehr hohe NK-Zellzahlen erreichten. Trenchel et al. (1998) und Dokhelar et al. (1981) konnten demonstrieren, dass die Anzahl der natürlichen Killerzellen zu Beginn der Rekonstitution normal war, was auf einen proportionalen Überschuss im Rahmen der absoluten Lymphopenie (Trenchel et al. 1998, Dokhelar et al. 1981) und auf die GvHD zurückzuführen sein könnte (Nemunaitis et al. 1992).

Zytokine und hämatopoetische Wachstumsfaktoren haben als interzelluläre Botenstoffe eine zentrale Rolle in der Interaktion zwischen Stammzelle und Knochenmarkmatrix sowie der immunologischen Rekonstitution nach HST. In unserer Studie zeigten die *unrelated* transplantierten Patienten eine schnellere Rekonstitution des INF γ als die *related* transplantierten Patienten; die Werte waren jedoch in den folgenden Monaten nach *related* Transplantation insgesamt stabiler. In

der *allogen related* Gruppe zeigten sich ein zügigerer Anstieg und insgesamt höhere Interferonwerte nach PBST als nach KMT. Nach *related* PBST und *unrelated* Transplantation kam es nach sechs Monaten zu einem steilen Anstieg des Interferons im PB. Bei den *autologen* Patienten stieg das INF γ innerhalb der ersten vier Monate konstant an. Nach *Cord Blood* Transplantation blieben die Werte in etwa konstant.

Abschließend läßt sich sagen, dass die Ergebnisse dieser Studie mit den bisher gewonnen Erkenntnissen über Knochenmark- und Stammzelltransplantation größtenteils übereinstimmen. So zeigten unsere Ergebnisse eine ähnlich gute Immunrekonstitution, ein frühes Engraftment sowie eine verminderte Inzidenz akuter Infektionen nach *autologer* Transplantation. Im Rahmen einer *allogen related* Transplantation konnten anhand unserer Ergebnisse die Vorteile einer Transplantation mit peripheren Stammzellen gegenüber Knochenmark bestätigt werden. Zwischen *allogen unrelated* und *related* Transplantationen konnten in unserer Studie keine wesentlichen Unterschiede festgestellt werden. Erwähnenswert sind sicherlich die Ergebnisse der *Cord Blood* Gruppe. Trotz eines deutlich später eintretenden Engraftments und wesentlich geringeren transplantierten Zellzahlen war die hämatopoetische Rekonstitution und die Inzidenz und Schwere akuter Infektionen und einer akuten GvHD nicht wesentlich schlechter als nach *allogener* und *autologer* Transplantation. Es wäre wünschenswert, wenn diese - aufgrund der geringen Patientenzahl - nur eingeschränkt verwertbaren Ergebnisse in zukünftigen Studien durch einen größeren Datensatz untermauert werden könnten. Solche Ergebnisse könnten dann zur Folge haben, dass die Transplantation mit *Cord Blood* in Zukunft neben *autologen* und *allogenen* Transplantationen einen hohen Stellenwert einnehmen könnte.

Auch die Entwicklung der Zellpopulationen, die mittels in vitro Untersuchungen nach der Transplantation festgestellt wurden, ergaben ähnlich gute Ergebnisse in den verschiedenen Gruppen unserer Studie. Des Weiteren konnten viele Übereinstimmungen mit den bisher gewonnenen Erkenntnissen gefunden und dargestellt werden.

5. Literaturverzeichnis

- Andersson U; Bird AG; Britton BS; Palacios R (1981) Humoral and cellular immunity in humans studied at the cell level from birth to two years of age. *Immunol Rev*; 57:1-38
- Antin JH; Ferrara JLM (1992) Cytokine dysregulation and graft-versus-host disease. *Blood*; 80(12):2964-2968
- Aotsuka N; Asai T; Oh H; Yoshida S; Itoh K; Sato T (1991) Lymphocyte subset reconstitution following human allogeneic bone marrow transplantation: differences between engrafted patients and failure patients. *Bone Marrow Transplant*; 8(5):345-349
- Ashihara E; Shimazaki C; Yamagata N; Hirata T; Okawa K; Oku N; Goto H; Inaba T; Fujita N; Nakagawa M (1994) Reconstitution of lymphocyte subsets after peripheral blood stem cell transplantation: two-color flow cytometric analysis. *Bone Marrow Transplant*; 13(4):377-381
- Atkinson K; Hansen JA; Storb R; Goehle S; Goldstein G; Thomas ED (1982) T-cell subpopulations identified by monoclonal antibodies after human marrow transplantation. *Blood*; 59(6):1292-1298
- Atkinson K (1990) Reconstitution of the hemopoietic and immune system after marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*; 5(4):209-226
- Bacigalupo; Gualandi F; Van Lint MT; Sessarego M; Frassoni F; Occhini D; Lamparelli T; Oneto R; Vitale V; Corvo R (1993) Multivariate analysis of risk factors for survival and relapse in chronic granulocytic leukemia following allogeneic marrow transplantation: impact of disease related variables (Sokal score). *Bone Marrow Transplant*; 12(5):443-448
- Bengtsson M; Töttermann TH; Smedmyr B; Festin R; Öberg G; Simonsson B (1989) Regeneration of functional and activated NK- and T-subsubset cells in the marrow and blood after autologous bone marrow transplantation: a prospective phenotypic study with 2/3-color FACS analysis. *Leukemia*; 3(1):68-75
- Bensinger WI; Weaver CH; Appelbaum FR; Rowley S; Demirer T; Sanders S; Storb R; Buckner CD (1995) Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells mobilized by recombinant human granulocyte colony stimulating factor. *Blood*; 85(6):1655-1658
- Bensinger WI; Clift R; Martin P; Appelbaum FR; Demirer T; Gooley T; Lilleby K; Rowley S; Sanders J; Storb R; Buckner DC (1996) Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in patients with advanced hematologic malignancies: a retrospective comparison with marrow transplantation. *Blood*; 88(7):2794-2800
- Beyer J; Schwella N; Zigsom J; Strohscheer I; Schwaner I; Oettle H; Serke S; Huhn D; Stieger W (1995) Hematopoietic rescue after high-dose chemotherapy using autologous peripheral blood progenitor cells or bone marrow: A randomised comparison. *J Clin Oncol*; 13:1328-1335
- Bittencourt H; Rocha V; Chevret S; Socie G; Esperou H; Devergie A; Dal Cortivo L; Marolleau JP; Garnier F; Ribaud P; Gluckman E (2002) Association of CD34 cell dose with hematopoietic recovery; infections and other outcomes after HLA-identical sibling bone marrow transplantation. *Blood*; 99(8):2726-2733
- 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 (2000) Randomized trial of bone marrow versus lenograstim-primed blood cell allogeneic transplantation in patients with early-stage leukemia. A report from the Société Française de Greffe de Molle. *J Clin Oncol*; 18:537-546

- Brandt SJ; Peters WP; Atwater SK; Kurzberg J; Borowitz MJ; Jones RB; Shpall EJ; Bast RC jr; Gilbert CJ; Oette DH (1988) Effect of recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on hematopoietic reconstitution after high-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation. *N Engl J Med*; 318(14):869-876
- Broxmeyer HE; Douglas GW; Hangoc G; Cooper S; Bard J; English D; Arny M; Thomas L; Boyse EA (1989) Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA*; 86(10):3828-3832
- Broxmeyer HE; Kurtzberg J; Gluckman E; Auerbach AD; Douglas G; Cooper S; Falkenburg JH; Bard J; Boyse EA (1991) Umbilical cord blood hematopoietic stem and repopulation cells in human clinical transplantation. *Blood Cells*; 17(2):313-329
- Burdach S; Laws HJ; Engel BC; Nürnberger W; Göbel U (1997) Hämatopoetische Stammzelltransplantation bei Hämoblastosen. *Klinische Onkologie*; 31-35
- Casper J; Camitta B; Truitt R; Baxter-Lowe LA; Bunin N; Cawton; Murray K; Hunter J; Pietryga D; Garbrecht F; Taylor CK; Drobyski W; Horowitz M; Flomenberg N; Ash R (1995) Unrelated bone marrow donor transplants for children with leukemia or myelodysplasia. *Blood*; 85(9):2354-2363
- Charbonnier A; Sainty D; Faucher C; Arnoulet C; Chabannon C; Blaise D (1997) Immune reconstitution after blood cell transplantation. *Hematol Cell Ther*; 39(5):261-264
- Cunningham ET; De Souza EB (1993) Interleukin 1 receptors in the brain and endocrine tissues. *Immunol Today*; 14(4):171-176
- De Lima M; Champlin R (2001) Unrelated donor hematopoietic transplantation. *Rev Clin Exp Hematol*; 58(2):100-134
- Dercksen MW; Rodenhuis S; Dirkson MK; Schaasberg WP; Baars JW; van der Wall E; Slaper-Cortenbach IC; Pinedo HM; Von dem Borne AE; van der Schoot CE (1995) Subsets of CD34+ cells and rapid hematopoietic recovery after peripheral blood stem cell transplantation. *J Clin Oncol*; 13(8):1922-1932
- Diaz MA; Villa M; Madero L; Benito A; Alegre A; Fernandez-Ranada JM (1998) Analysis of engraftment kinetics in pediatric patients undergoing autologous PBPC transplantation. *J Hematother*; 7(4):367-373
- Diaz MA; Vicent MG; Garcia-Sanchez F; Vicario JL; Madero L (2000) Long-term hematopoietic engraftment after autologous peripheral blood progenitor cell transplantation in pediatric patients: Effect of the CD34+ cell dose. *Vox Sang*; 79(3):145-150
- Dinarello CA; Mier JW (1987) Medical intelligence-current concepts-lymphokines. *N Engl J Med*; 317(15):940-945
- Dokhelar MC; Wiels J; Lipinski M; Tetaud C; Devergie A; Gluckman E; Tursz T (1981) Natural killer cell activity in human bone marrow recipients. Early reappearance of natural killer activity in graft versus host disease. *Transplantation*; 31(1):61-65
- Elishoov H; Or R; Strauss N; Engelhard D (1998) Nosocomial colonization; septicemia and Hickman/Broviac catheter-related infections in bone marrow transplantation recipients - a 5-year prospective study. *Medicine*; 77(2):83-101
- Engelhard D; Marks MI; Good RA (1986) Infections in bone marrow transplantation recipients. *J Pediatr*; 108(3):335-346

- Engelhard D (1998) Bacterial and fungal infections in children undergoing bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*; 21:78-80 (Suppl. 2)
- Engelhard D; Polacheck P; Naparstek E (1997) Candidemia in bone marrow transplantation recipients - A 14-year prospective study. Trends in invasive fungal infections. Barcelona; Spain (abstract P-46)
- Ferrara JL; Deeg HJ (1991) Graft-versus-host disease. *N Engl J Med*; 324(10):667-674
- Foot ABM; Potter MN; Donaldson C; Cornish JM; Wallington TB; Oakhill A; Pamphilon DH (1993) Immune reconstitution after BMT in children. *Bone Marrow Transplant*; 11(1):7-13
- Gale RP; Bortin MM; van Bekkum DW; Biggs JC; Dicke KA; Gluckman E; Good RA; Hoffmann RG; Kay HE; Kersey JH (1987) Risk factors for acute graft-versus-host-disease. *Br J Hematol*; 67(4):397-406
- Giraud P; Thuret I; Reviron D; Chambost H; Brunet C; Novakovitch G; Farnarier C; Michel G (2000) Immune reconstitution and outcome after unrelated cord blood transplantation: a single pediatric institution experience. *Bone Marrow Transplant*; 25(1):53-57
- Gluckman E; Broxmeyer HE; Auerbach AD; Friedman HS; Douglas GW; Devergie A; Esperou H; Thierry D; Socie G; Lehn P (1989) Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi anemia by means of umbilical cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med*; 321(17):1174-1178
- Gluckman E; Rocha V; Boyer-Chammard A; Locatelli F; Arcese W; Pasquini R; Ortega J; Souillet G; Ferreira E; Laporte JP; Fernandez M; Chastang C (1997) Outcome of cord blood transplantation from related and unrelated donors. Eurocord Transplant Group and the European Blood and Marrow Transplantation Group. *N Engl J Med*; 337(6):373-381
- Goldman JM; Schmitz N; Niethammer D; Gratwohl A (1998) Allogeneic and autologous transplantation for hematological diseases, solid tumors and immune disorders: Current practice in Europe in 1998. *Bone Marrow Transplant*; 21(1):1-7
- Gordon MY; Greaves MF (1989) Physiological mechanisms of stem cell regulation in bone marrow transplantation und hemopoiesis. *Bone Marrow Transplant*; 4(4):335-338
- Grabstein K; Dower S; Gillis S; Urdal D; Larsen A (1986) Expression of Interleukin 2, Interferon- γ and the IL2 receptor by human peripheral blood lymphocytes. *J Immunol*; 136(12):4503-4508
- Gratama JW; Fibbe WE; Visser JWM; Kluin-Nelemans HC; Ginsel LA; Bolhuis RLH (1989) CD3+, CD4+ and/or CD8+ T cells and CD3+, CD4+, CD8+ T cells repopulate at different rates after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*; 4(3):291-296
- Hanenberg H; Dilloo D; Laws HJ; Zessack N; Heyll A; Burdach S (1995) Time course of interferon- γ production deficiency after autologous and allogeneic stem cell transplantation for malignancies. *Experimental Hematology*; 23(14):1543-1552
- Harris DT; Locascio J; Besencon FJ (1994) Analysis of the alloreactive capacity of human umbilical cord blood: implications for graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant*; 14(4):545-553
- Ho AD; Maghazachi AA; Sinof C (1992) Reconstitution of T lymphocytes after superdose chemotherapy and GM-CSF mobilized peripheral stem cells. *Proc Ann Am Assoc Cancer Res*; 33:243-249
- Höglund M; Smedmyr B; Simonsson B; Töttermann T; Bengtsson M (1996) Dose-dependent mobilisation of hematopoietic progenitor cells in healthy volunteers receiving glycosylated rHuG-CSF. *Bone Marrow Transplant*; 18(1):19-27

- Holler E; Kolb HJ; Möller A; Kempeni J; Liesenfeld S; Pechumer H; Lehmacher W; Ruckdeschel G; Gleixner B; Riedner; Ledderose G; Brehm G; Mittermüller J; Wilmanns W (1990) Increased serum levels of tumor necrosis factor α precede major complications of bone marrow transplantation. *Blood*; 75(4):1011-1016
- Jacoby DR; Olding LB; Oldstone MBA (1984) Immunological regulation of fetal-maternal balance. *Adv. Immunol*; 35:157-208
- Jacobs R; Stoll M; Stratmann G; Leo R; Link H; Schmidt RE (1992) CD16+ CD56+ Natural killer cells after bone marrow transplantation. *Blood*; 79(12):3239-3244
- Jadus MR; Wepsic HT (1992) The role of cytokines in graft-versus-host reactions and disease. *Bone Marrow Transplant*; 10(1):1-14
- Kalwak K; Gorczynska E; Toporski J; Turkiewicz D; Slociak M; Ussowicz M; Latos-Grazynska E; Krol M; Boguslawska-Jaworska J; Chybicka A (2002) Immune reconstitution after haematopoietic cell transplantation in children: immunophenotype analysis with regard to factors affecting the speed of recovery. *Br J Hematol*; 118(1):74-89
- Karrer S (2003) Graft-versus-Host-Disease der Haut. *Hautarzt*; 54(5):465-480
- Keever CA; Small TN; Flomenberg N; Heller G; Pekle K; Black P; Pecora A; Gillio A; Kernan NA; O'Reilly RJ (1989) Immune reconstitution following bone marrow transplantation: Comparison of recipients of T-cell depleted marrow with recipients of conventional marrow grafts. *Blood*; 73(5):1340-1350
- Keever CA; Abu-Hajir M; Graf W; McFadden P; Prichard P; O'Brien J; Flomenberg N (1995) Characterization of the alloreactivity and anti-leukemia reactivity of cord blood mononuclear cells. *Bone Marrow Transplant*; 15(3):407-419
- Kessinger A; Smith DM; Strandjord SE; Landmark JD; Dooley DC; Law P; Coccia PF; Warkentin PI; Weisenburger DD; Armitage JO (1989) Allogeneic transplantation of blood-derived, T-cell-depleted hemopoietic stem cells after myeloablative treatment in a patient with acute lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplant*; 4(6):643-646
- Kinderkrebsregister (1997) Jahresbericht. Kapitel 1; 9-10
- Kiss JE; Rybka WB; Winkelstein A; de Magalhaes-Silverman M; Lister J; D'Andrea P; Ball ED (1997) Relationship of CD34+ cell dose to early and late hematopoiesis recovery following autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*; 19(4):303-310
- Kögler G; Callejas J; Hakenberg P; Enezmann J; Adams O; Däubener W; Krempe C; Göbel U; Somville T; Wernet P (1996) Hematopoietic transplant potential of unrelated cord blood: Critical issues. *J Hematother*; 5(2):105-116
- Körbling M; Przepiora D; Huh YO; Engel H; van Besien K; Giralt S; Andersson B; Kleine HD; Seong D; Deisseroth AB; Andreeff M; Champlin R (1995a) Allogeneic blood stem cell transplantation for refractory leukemia and lymphoma: potential advantage of blood over marrow allografts. *Blood*; 85(6):1659-1665
- Körbling M; Huh YO; Durett A et al. (1995b) 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*; 86(7):2842-2848
- Körbling M; Flidner TM (1996) The evolution of clinical peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*; 17(5):675-678

- Kurtzberg J; Laughlin M; Graham ML; Smith C; Olson JF; Halperin EC; Ciocchi G; Carrier C; Stevens CE; Rubinstein P (1996) Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients. *N Engl J Med*; 335(3):157-166
- Lenarsky C (1995) Immune recovery after bone marrow transplantation. *Curr Opin Hematol*; 2(6):409-412
- Lim F; Beckhoven J; Brand A; Kluin-Nelemans J; Hermans J; Willemze R; Kanhai H; Falkenburg J (1999) The number of nucleated cells reflects the hematopoietic content of umbilical cord blood for transplantation. *Bone Marrow Transplant*; 24(9):965-970
- Linch DC; Knott LJ; Thomas RM; Harper P; Goldstone AH; Davis EG; Levinski RJ (1983) T-cell regeneration after allogeneic and autologous bone marrow transplantation. *Br J Haematol*; 53(3):451-458
- Locatelli F; Pession A; Zecca M; Bonetti F; Prete L; Carra AM; Prete A; Montagna D; Comoli P; Taibi RM; Paolucci G (1996) Use of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in children given allogeneic bone marrow transplantation for acute or chronic leukemia. *Bone Marrow Transplant*; 17(1):31-37
- Lum LG (1987) The kinetics of immune reconstitution after human marrow transplantation. *Blood*; 69(2):369-380
- Maccario R; Burgio GR (1987) T and NK lymphocyte subpopulations in the neonate. In: Burgio GR; Hanson L; Ugazio AG (eds.). *Immunology of the neonate*. Springer Verlag; Berlin-Heidelberg; pp120-129
- Mackall CL; Stein D; Fleisher TA; Brown MR; Hakim FT; Bare CV; Leitman SF; Read EJ; Carter CS; Wexler LH; Gress RE (2000) Prolonged CD4 depletion after sequential autologous peripheral blood progenitor cell infusions in children and young adults. *Blood*; 96(2):754-762
- Majolino I; Saglio G; Scime R; Serra A; Cavallaro AM; Fiandaca T; Vasta S; Pampinella M; Catania P; Indovina A; Marceno R; Santoro A (1996) High incidence of chronic GvHD after primary allogeneic peripheral blood stem cell (PBSC) transplantation in patients with hematologic malignancies. *Bone Marrow Transplant*; 17(4):555-560
- Mehta J; Powles R; Singhal S; Horton C; Middleton G; Eisen T; Meller S; Pinkerton CR; Treleaven J (1997) Early identification of patients at risk of death due to infections; hemorrhage or graft failure after allogeneic bone marrow transplantation on the basis of the leukocyte counts. *Bone Marrow Transplant*; 19(4):349-355
- Metcalf D (1986) The molecular biology and function of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factors. *Blood*; 67(2):257-267
- Miniero R; Busca A; Pession A; Rondelli R; Uderzo C; Ripaldi M; Locatelli F (1999) Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in children with hematologic malignancies. AIEOP-BMT Group (Italian Association for Pediatric Hematology and Oncology Bone Marrow Transplant Group). *Haematologica*; 84(7):657-660
- Moore MA (1991) Clinical implications of positive and negative hematopoietic stem cell regulators. *Blood*; 78(1):1-19
- Nagatoshi Y; Kawano Y; Watanabe T; Abe T; Okamoto Y; Kuroda Y; Takaue Y; Okamura J (2002) Hematopoietic and immune recovery after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation and bone marrow transplantation in a pediatric population. *Pediatr Transplant*; 6(4):319-326

- Nemunaitis J; Singer JW; Buckner CD; Hill R; Storb R; Thomas ED; Appelbaum FR (1988) Use of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in autologous marrow transplantation for lymphoid malignancies. *Blood*; 72(2):834-836
- Nemunaitis J; Anasette C; Storb B; Bianco J; Buckner D; Singer JW; Sullivan K; Mori M (1992) Phase II Trial of recombinant granulocyte macrophage colony-stimulating factor in patients undergoing allogeneic bone marrow transplantation from unrelated donors. *Blood*; 79(10):2572-2577
- Niederwieser D; Pepe M; Storb R; Loughran TP Jr; Longton G (1988) Improvement in rejection; engraftment rate and survival without increase in graft-versus-host disease by high marrow cell dose in patients transplanted for aplastic anaemia. *Br J Haematol*; 69(1):23-28
- Niederwieser D; Herold M; Woloszczuk W; Aulitz W; Meister B; Tilg H; Gastl G; Bowden R; Huber C (1990) Endogenous IFN- γ during human bone marrow transplantation. Analysis of serum levels of interferon and interferon-dependent secondary messages. *Transplantation*; 50(4):620-625
- Niehues T; Rocha V; Filipovich AH; Chan KW; Porcher R; Michel G; Ortega JJ; Wernet P; Goebel U; Gluckman E; Locatelli F (2001) Factors affecting lymphocyte subset reconstitution after either related or unrelated cord blood transplantation in children - Eurocord analysis. *Br J Haematol*; 114(1):42-48
- Nishihira H; Kato K; Isoyama K; Takahashi TA; Kai S; Kato S; Takanashi M; Sato N; Sato H; Kitajima K; Naoe T; Saito H (2003) The Japanese cord blood bank network experience with cord blood transplantation from unrelated donors for hematological malignancies: an evaluation of graft-versus-host disease prophylaxis. *Br J Haematol*; 120(3):516-522
- O'Reilly R; Hansen JA; Kurtzberg J; Henslee-Downey J; Martelli M; Aversa F (1996) Allogeneic marrow transplants: Approaches for the patient lacking a donor. *American Society of Hematology; Education Program. Proc*; 132:146
- Ottinger HD; Beelen DW; Scheulen B; Schaefer UW; Grosse-Wilde H (1996) Improved immune reconstitution after allotransplantation of peripheral blood stem cells instead of bone marrow. *Blood*; 88(7):2775-2779
- Pavletic S; Bishop MR; Tarantolo SR; Martin-Algarra S; Bierman PJ; Vose JM; Reed EC; Gross TG; Kollath J; Nasrati K; Jackson JD; Armitage JO; Kessinger A (1997) Hematopoietic recovery after allogeneic blood stem cell transplantation compared with bone marrow transplantation in patients with hematologic malignancies. *J Clin Oncol*; 15(4):1608-1616
- 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 (2000) Allogeneic blood and bone marrow stem cell transplantation in hematological malignant diseases: A randomized trial. *Lancet*; 355(9211):1231-1237
- Przepiorcka D; Anderlini P; Ippoliti C; Khouri I; Fietz T; Van Besien K; Mehra R; Giralt S; Gajewski J; Deisseroth AB; Cleary K; Champlin R; Anderson B; Körbling M (1995) MD Anderson Cancer Center; Houston; TX USA; Abstract EBMT Geneva
- Raffael A; Nebe C TH; Valet G (1994) Grundlagen der Durchflußzytometrie; in: Durchflußzytometrie in der klinischen Zelldiagnostik, Schmitz G, Rothe G (Hrsg.) Schattauer-Verlag
- Ramsay NKC; Kersey JH (1990) Indication for marrow transplantation in acute lymphoblastic leukemia. *Blood*; 75(4):815-818
- Ramsay AJ; Ruby J; Ramshaw IA (1993) A case for cytokines as effector molecules in the resolution of virus infection. *Immunol Today*; 14(4):155-157

- Roberts M; To LB; Gillis D; Mundy J; Rawling C; Ng K; Juttner CA (1993) Immune reconstitution following peripheral blood stem cell transplantation, autologous bone marrow transplantation and allogeneic marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*; 12(5):469-475
- Rubinstein P; Carrier C; Scaradavou A; Kurtzberg J; Adamson J; Migliaccio AR; Berkowitz RL; Cabbad M; Dobrila NL; Taylor PE; Rosenfield RE; Stevens CE (1998) Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *N Engl J Med*; 339(22):1565-1577
- 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 (1999) Allogeneic blood stem cell and bone marrow transplantation for acute myelogenous leukemia and myelodysplasia: influence of stem cell source on outcome. *Bone Marrow Transplant*; 24(11):1177-1183
- Schmitz N; Dreger P; Suttorp M; Rohwedder EB; Haferlach T; Löffler H; Hunter A; Russel NH (1995) Primary transplantation of allogeneic peripheral blood progenitor cells mobilized by filgrastim (granulocyte colony stimulating factor). *Blood*; 85(6):1666-1672
- Schmitz N; Bacigalupo A; Labopin M; Majolino I; Laporte JP; Brinch L; Cook G; Lambertenghi-Delilieri G; Lange A; Rozman C; Garcia-Conde J; Finke J; Domingo-Albos A; Gratwohl A (1996a) Transplantation of allogeneic peripheral blood progenitor cells - The EBMT experience. *Bone Marrow Transplant*; 17:40-46 (Suppl 2)
- Schmitz N; Linch DC; Dreger P; Goldstone AH; Boogaerts MA; Ferrant A; Demuyneck HM; Link H; Zander A; Barge A (1996b) Randomized trial of filgrastim-mobilised peripheral blood progenitor cell transplantation versus autologous bone marrow transplantation in lymphoma patients. *Lancet*; 347(8998):353-357
- Schriber JR; Chao NJ; Long GD; Negrin RS; Tierney DK; Kusnierz-Glaz C; Lucas KS; Blume KG (1994) Granulocyte colony-stimulating factor after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*; 84(5):1680-1684
- Sheridan WP; Begley CG; Juttner CA; Szer J; To LB; Maher D; McGrath KM; Morstyn G; Fox RM (1992) Effect of peripheral blood progenitor cells mobilised by filgrastim (G-CSF) on platelet recovery after high-dose chemotherapy. *Lancet*; 339(8794):640-644
- Siegert W; Josimovic-Alasevic O; Schwerdtfeger R; Schmidt C; Neubauer A; Henze G; Huhn D; Diamantstein T (1990) Determination of soluble interleukin-2 receptors after bone marrow transplantation. *Hematol Blood Transfus*; 33:76-77
- Sierra J; Storer B; Hansen JA; Bjerke JW; Martin PJ; Petersdorf EW; Appelbaum FR; Bryant E; Chauncey TR; Sale G; Sanders JE; Storb R; Sullivan KM; Anasetti C (1997) Transplantation of marrow cells from unrelated donors for treatment of high-risk acute leukemia: the effect of leukemic burden, donor HLA-matching and marrow cell dose. *Blood*; 89(11):4226-4235
- Sierra J; Storer B; Hansen JA; Martin PJ; Petersdorf EW; Woolfrey A; Matthews D; Sanders JE; Storb R; Appelbaum FR; Anasetti C (2000) Unrelated donor marrow transplantation for acute myeloid leukemia: an update of the Seattle experience. *Bone Marrow Transplant*; 26(4):397-404
- Slavin S; Ackerstein A; Naparstek E; Or R; Weiss L (1990) The graft-versus-leukemia (GvL) phenomenon: Is GvL separable from GvHD? *Bone Marrow Transplant*; 6(3):155-161
- Smith BR (1988) Flow cytometric analysis of circulation lymphocytes following human marrow transplantation. *Cytometry*; 3:48-51 (Suppl.)
- Smith KA (1993) Lowest dose Interleukin-2 immunotherapy. *Blood*; 81(6):1414-1423

- Sobrevilla-Calvo P; Rivas-Vera S; Cervera-Ubierna A; Lopez-P MP; Acosta-Barreda A; Salles MT; Marche-Cova A (2002) Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. Safety, hematologic recovery, kinetics and complications. *Arch Med Res*; 33(2):136-143
- Soiffer R.J; Bosserman L; Murray C; Cochran K; Daey J and Ritz J (1990) Reconstitution of T-cell function after CD6-depleted allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*; 75(10):2076-2084
- Sosa R; Weiden PL; Storb R; Syrotuck J; Thomas ED (1980) Granulocyte function in human allogeneic marrow graft recipients. *Exp Hematol*; 8(10):1183-1189
- Sosman JA; Sondel PM (1993) The graft-vs.-leukemia effect. Implications for post-marrow transplant antileukemic treatment. *Am J Pediatr Hematol Oncol*; 15(2):185-195
- Stachel D (1999a) Stammzelltransplantation (Teil 1). *Monatsschr Kinderheilkd*; 147:707-715
- Stachel D (1999b) Stammzelltransplantation (Teil 2). *Monatsschr Kinderheilkd*; 147:775-782
- Storek J; Witherspoon RP; Storb R (1995) T-cell reconstitution after bone marrow transplantation into adult patients does not resemble T-cell development in early life. *Bone Marrow Transplant*; 16(3):413-425
- Thomas E; Storb R; Clift RA; Fefer A; Johnson FL; Neiman PE; Lerner KG; Glucksberg H; Buckner CD (1975a) Bone marrow transplantation (first of two parts). *N Eng J Med*; 292(16):832-843
- Thomas ED; Storb R; Clift RA; Fefer A; Johnson FL; Neiman PE; Lerner KG; Glucksberg H; Buckner CD (1975b) Bone marrow transplantation (second of two parts). *N Eng J Med*; 292(17):895-902
- Thomas S; Clark SC; Rapoport JM; Nathan DG; Emerson SG (1990) Deficient T cell granulocyte-makrophage colony stimulating factor production in allogeneic bone marrow transplant recipients. *Transplantation*; 49(4):703-708
- Thomson BG; Robertson KA; Gowan D; Heilman D; Broxmeyer HE; Emanuel D; Kotylo P; Brahmi Z; Smith FO (2000) Analysis of engraftment, graft-versus-host disease and immune recovery following unrelated donor cord blood transplantation. *Blood*; 96(8):2703-2711
- To LB; Haylock DN; Simmons PJ; Juttner CA (1997) The biology and clinical use of blood stem cells. *Blood*; 89(7):2233-2258
- Trenschel R; Bernier M; Delforge A; Massy M; Lebeau De Hemricourt E; Maerevoet M; Badjou R; Stryckmans P; Bron D (1998) Myeloid and lymphoid recovery following allogeneic bone marrow transplantation: a comparative study between related, unrelated bone marrow and allogeneic peripheral stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma*; 30(3-4):325-352
- Tsoi MS; Dobbs S; Brkic S; Ramberg R; Thomas ED; Storb R (1984) Cellular interactions in marrow-grafted patients. II. Normal monocyte antigen-presenting and defective T-cell-proliferative functions early after grafting and during chronic graft-versus-host disease. *Transplantation*; 37(6):556-561
- Van der Wall E; Richel DJ; Holtkamp MJ; Slaper-Cortenbach IC; van der Schoot CE; Dalesio O; Nooijen WJ; Schornagel JH; Rodenhuis S (1994) Bone marrow reconstitution after high-dose chemotherapy and autologous peripheral blood progenitor cell transplantation: Effect of graft size. *Ann Oncol*; 5(9):795-802
- Velardi A; Terenzi A; Cucciaioni S; Millo R; Grossi CE; Grignani F; Martelli MF (1988) Imbalances within the peripheral blood T-helper (CD4+) and T-suppressor (CD8+) cell populations in the reconstitution phase after human bone marrow transplantation. *Blood*; 71(5):1196-1200

-
- Wagner JE; Kernan NA; Steinbruch M; Broxmeyer HE; Gluckman E (1995) Allogeneic sibling umbilical cord blood transplantation in forty-four children with malignant and non-malignant disease. *Lancet*; 346(8969):214-219
- Wagner JE; Rosenthal J; Sweetman R; Shu XO; Davies SM; Ramsay NKC; McGlave PB; Sender L; Cairo MS (1996) Successful transplantation of HLA-matched and HLA-mismatched umbilical cord blood from unrelated donors: Analysis of engraftment and acute graft-versus-host disease. *Blood*; 88(3):795-802
- Wagner JE; Barker JN; De For TE; Baker KS; Blazar BR; Eide C; Goldman A; Kersey J; Krivit W; MacMillan ML; Orchard PJ; Peters C; Weisdorf DJ; Ramsay NK; Davies SM (2002) Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood*; 100(5):1611-1618
- Waldmann TA (1986) The structure, function and expression of interleukin-2 receptors on normal and malignant lymphocytes. *Science*; 232(4751):727-732
- Weaver CH; Hazelton B; Birch R; Palmer P; Allen C; Schwartzberg L; West W (1995) An analysis of engraftment kinetics as a function of the CD34 content of peripheral blood progenitor cell collections in 692 patients after the administration of myeloablative chemotherapy. *Blood*; 86(10):3961-3969
- Weinberger M; Sacks T; Sulkes J; Shapiro M; Polacheck I (1997) Increasing fungal isolation from clinical specimens: experience in a university hospital over a decade. *J Hosp Infect*; 35(3):185-195
- Witherspoon RP; Lum LG; Storb R (1984) Immunologic reconstitution after human marrow grafting. *Sem Hematol*; 21(1):2-10

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Katrin Lauer
Geboren	04.06.1975 (Duisburg)
Familienstand	ledig
Konfession	evangelisch
Eltern	Reiner Lauer, Studiendirektor Englisch / Sport i.R. Britta Lauer-Aletter, geb. Aletter, Oberstudienrätin Französisch / Erdkunde i.R.

Schul- und Berufsbildung

1981-1985	Wilhelm-Busch-Grundschule in Ratingen
1985-1994	Kopernikus-Gymnasium in Ratingen Abitur
1994-2002	Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf: Studium der Humanmedizin
Mai 2002	3. Staatsexamen
Praktisches Jahr	1. Terial: Wahlfach Dermatologie (Klinikum Krefeld) 2. Terial: Chirurgie (Spital Frutigen, Schweiz) 3. Terial: Innere Medizin (Klinikum Krefeld)

Famulaturen

1998	Praxis für Pädiatrie, Dr. Hartmuth, Roßdorf
1998	Orthopädie, Evangelisches Krankenhaus, Ratingen
1999	Klinik für Pädiatrie (KMT-Ambulanz), Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
1999	Praxis für Dermatologie, Dr. Kalman, Düsseldorf
2000	Chirurgie / Anästhesie / Allgemeinmedizin, Medical Care Group Leongatha, Melbourne, Australien
2000	Gynäkologische Abteilung, Krankenhaus Benrath
2000	Klinik für Dermatologie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Weitere Tätigkeiten

1994	Endoskopische Abteilung, Katholisches Krankenhaus, Ratingen (2 Monate im Rahmen eines freiwilligen sozialen Jahres)
1994-1996	studentische Aushilfe (Pneumologie), Florence-Nightingale-Krankenhaus, Kaiserswerth
1996-2000	studentische Aushilfe (Kundenbetreuung im Bereich EDV), Hewlett Packard, Ratingen

Ärztliche Tätigkeit

Juli 2002-Dez.2003	Ärztin im Praktikum Dermatologische Klinik, Klinikum Krefeld
Seit Januar 2004	Assistenzärztin Dermatologische Klinik, Klinikum Krefeld

Danksagung

Ich danke Herrn Professor Dr. Göbel für die Vergabe des Themas und die Möglichkeit, meine Dissertation im Rahmen dieses Forschungsprojekts schreiben zu können, Herrn Dr. Laws für die fachliche Betreuung und seine wertvolle Hilfestellung bei der Bearbeitung des Themas, sowie dem Team des Labors für Experimentelle Hämatologie für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und -Immunologie, das mich stets freundlich und hilfsbereit unterstützt hat.

Zusammenfassung

In dieser Arbeit werden der klinische Verlauf und in vitro Untersuchungen nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation bei pädiatrischen Patienten mit benigner oder maligner hämatopoetischer Grunderkrankung untersucht. Zwischen Jan. 1995 und Dez. 1998 wurden 13 Patienten *allogen unrelated* (Knochenmark [KM]), 24 Patienten *allogen related* (7x KM und 17x periphere Stammzellen [PBSZ]), 23 Patienten *autolog* (PBSZ) und 6 Patienten mit *Cord Blood* transplantiert. Der Altersdurchschnitt lag bei 9,1 Jahre (4 Monate - 23 Jahre). Die *allogen* transplantierten Patienten erhielten durchschnittlich 10.7 [*unrelated*], 13.1 [*related* PBSZ] bzw. $4.8 \times 10^8/\text{kg KG}$ [*related* KM] mononukleäre Zellen (MNC) und 3 [*unrelated*], 7.7 [*related* PBSZ] bzw. $5.6 \times 10^6/\text{kg KG}$ [*related* KM] CD34-Zellen. Das Engraftment trat durchschnittlich zwischen Tag +13.3-19.8 nach Transplantation ein. Die Inzidenz einer akuten GvHD war in allen drei *allogenen* Patientengruppen bei vergleichbarem HLA-Status (matched > mismatched) etwa gleich hoch. Die *autologen* Patienten erhielten im Durchschnitt $5.6 \times 10^8/\text{kg KG}$ MNC und $5 \times 10^6/\text{kg KG}$ CD34-Zellen. Der Engraftmentzeitpunkt (Tag +9.7) lag signifikant früher als nach *allogen unrelated* und *Cord Blood* Transplantation ($p < 0.005$). Die *Cord Blood* Patienten erhielten durchschnittlich $10.5 \times 10^7/\text{kg KG}$ MNC und $6.1 \times 10^5/\text{kg KG}$ CD34-Zellen. Der Engraftmentzeitpunkt (Tag +27.2) trat signifikant später als nach *allogen related* [PBSZ] und *autologer* Transplantation ein ($p < 0.005$). Bakterielle Infektionen wurden in allen Gruppen häufiger als virale und mykotische Infektionen beobachtet - die letzteren beiden traten bei allen Patienten etwa gleich selten auf. Insgesamt wiesen die Ergebnisse dieser Studie viele Übereinstimmungen mit den bisher gewonnen Erkenntnissen über Knochenmark- und Stammzelltransplantation auf. So zeigten unsere Ergebnisse eine ähnlich gute Immunrekonstitution, ein frühes Engraftment sowie eine verminderte Inzidenz akuter Infektionen nach *autologer* Transplantation. Im Rahmen einer *allogen related* Transplantation bestätigten unsere Ergebnisse die Vorteile einer Transplantation mit PBSZ gegenüber KM. Nach *Cord Blood* Transplantation waren die hämatopoetische Rekonstitution und die Inzidenz und Schwere akuter Infektionen und einer akuten GvHD trotz eines deutlich späteren Engraftments und geringeren transplantierten Zellzahlen nicht signifikant schlechter als nach *allogener* und *autologer* Transplantation.