Aus der Klinik für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und Klinische Immunologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. A. Borkhardt

Vergleich der Apheresesysteme „Cobe Spectra“ und „Spectra Optia“ zur Zytapherese bei Kindern und Jugendlichen

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Medizin

der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

vorgelegt von
Olga Kyrillopoulou

2019

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

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. R. Meisel

Zweitgutacher: Prof. Dr. M. Uhrberg

Zusammenfassung

Das Verfahren der Zytapherese wird bei Kindern und Jugendlichen mit hämatoonkologischen Erkrankungen in den letzten Jahren zunehmend häufig eingesetzt. Zytapheresen werden durchgeführt um periphere Blutstammzellen für eine autologe Stammzelltransplantation (SZT) zu gewinnen, aber auch bei pädiatrischen Patienten mit akuter oder chronischer GvHD (*engl. graft-versus-host-disease*) nach allogener SZT, bei denen eine extrakorporale Photopherese (ECP) zur Behandlung der GvHD indiziert ist. Allerdings stehen bisher nur limitierte Daten bezüglich der Effizienz und Sicherheit der Anwendung dieser Methode im Kindesalter zur Verfügung. Ziel der folgenden Dissertation ist die Untersuchung der Durchführbarkeit, der Effizienz sowie der Sicherheit der Zytapherese mit dem neuartigen Apheresesystem 'Spectra Optia' bei Kindern und Jugendlichen, nachdem das bezüglich seiner Technologie mehr als 20 Jahre alte System „Cobe Spectra“ im April 2015 vom Hersteller vom Markt genommen wurde. Mit dem primären Ziel der Qualitätssicherung wurden die Daten des 'Spectra Optia'-Verfahrens mit Daten von Patienten verglichen, die in der Vergangenheit eine Zytapherese mittels des alten Apheresesystems 'Cobe Spectra' erhalten hatten.

In zwei separaten Analysen wurden 26 Stammzellapheresen (Cobe Spectra n=13, Spectra Optia n=13) bei 22 pädiatrischen Patienten sowie 334 ECP-Apheresen (Cobe Spectra n=271, Spectra Optia n=63) bei insgesamt 15 Patienten miteinander verglichen. Im Bereich der ECP wurden zusätzlich zwei individuelle Patienten separat analysiert, bei denen ECPs mit beiden Apheresystemen durchgeführt worden waren. Als Zielparameter der Untersuchung wurden klinische Patientencharakteristika wie Grunderkrankung, Alter, Gewicht und Indikation zur Apherese, sowie Prozedurdaten wie Erythrozyten- und Thrombozytenverlust, die Effizienz der Stammzell- bzw. Leukozyten-Gewinnung, die Erythrozytenkontamination des Apheresates sowie das Apheresatvolumen und die Dauer der Zytapherese erfasst.

Sowohl für die Stammzellapheresen als auch für die extrakorporalen Photopheresen wurden Parametermittelwerte und -streubreiten berechnet und mittels eines zweiseitigen t-Tests auf signifikante Unterschiede untersucht. Bei der Analyse der 26 Stammzellapheresen zeigte sich in keinem Zielparameter eine signifikante Differenz der beiden Apheresesysteme. Der Vergleich der beiden Geräteplattformen bei den 334 ECP-Apheresen erbrachte signifikante Unterschiede für das Photopheresat-Volumen, die Dauer der Photopherese sowie den Thrombozyten-Verlust. Ebenfalls statistisch signifikante Unterschiede wurden beim Vergleich des ersten individuellen Patienten bezüglich des Erythrozyten-Gehaltes im Apheresat, der Dauer der Photopherese sowie des Thrombozyten-Verlustes beobachtet. Beim Vergleich der Zielparameter des zweiten individuellen Patienten bestätigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied beim Vergleich des Erythrozyten-Gehaltes im Apheresat.

Insgesamt zeigen sich im Wesentlichen vergleichbare Ergebnisse zwischen den beiden untersuchten technischen Aphereseplattformen. Das Apheresesystem 'Spectra Optia' ist für das Verfahren der Zytapherese im Bereich der Gewinnung von Stammzellen bzw. der ECP für Kindern geeignet und es erzielt vergleichbare Ergebnisse bezüglich wesentlicher Effizienzparameter, sogar mit geringerem Produktvolumen, allerdings meistens mit einem höheren Thrombozyten-Verlust. Von klinischer Bedeutung ist die geringere Erythrozyten-Kontamination des Apheresates mit dem ‚Spectra Optia‘ System, diese ist zur Sicherstellung einer effizienten UV-Bestrahlung der Leukozyten beim ECP-Verfahren von potentiellem Vorteil. Eine Zytapherese mit dem ‚Spectra Optia‘-Verfahren zeigte sich insgesamt als sichere und effiziente Behandlungsmethode, die auch durch die geringere Gesamtdauer des Verfahrens Vorteile bieten kann, wenn aufgrund eines niedrigen Patientengewichtes eine Erythrozytenkonzentrat-Vorfüllung der Apheresemaschine erforderlich ist. Limitationen dieser Arbeit liegen in der geringen Anzahl analysierter Stammzellapheresen sowie der substanziellen Heterogenität der Patientenkohorte beim Vergleich der ECP-Verfahren, so dass weitere Untersuchungen notwendig sind um die Ergebnisse dieser Arbeit zu bestätigen.

Summary

The procedure of leukapheresis is increasingly being used in children and adolescents with hemato-oncologic diseases. Stem cell apheresis in order to perform autologous stem cell transplantation (SCT) as well as extracorporeal photopheresis (ECP) in patients with acute or chronic graft-versus-host-disease (GvHD) after allogeneic hematopoietic SCT represent major indications for leukapheresis in the pediatric setting. Unfortunately, only limited data are available on safety and efficiency of this method in children. This dissertation aims at examining feasibility, efficiency as well as safety of leukapheresis in children and adolescents utilizing the novel technical apheresis platform 'Spectra Optia', after the - based on its technology - 20-year-old apheresis platform 'Cobe Spectra' was withdrawn from the market by the manufacturer in April 2015. Aiming primarily at quality assurance, data of procedures performed with the 'Spectra Optia'-platform were compared to data of procedures performed with the 'Cobe Spectra'-platform during the preceding years.

26 stem cell aphereses performed on 22 pediatric patients (Cobe Spectra n=13, Spectra Optia n=13), as well as 334 ECP aphereses performed on 15 pediatric patients (Cobe Spectra n=271, Spectra Optia n=63) were compared in two separate analyses. Regarding ECPs, data of two individual patients were analyzed in addition, since these patients had sequentially received extracorporeal photophereses with both apheresis platforms. Analyzed parameters included patient characteristics such as primary disease, age, weight and apheresis indication, as well as procedural parameters including loss of erythrocytes and thrombocytes, cell harvest efficiency, erythrocyte-contamination and volume of the final apheresis product and duration of the procedure.

For both stem cell apheresis and extracorporeal photopheresis procedures, mean and standard deviation were calculated for all analyzed metric parameters and statistical differences were examined with the help of two-tailed t-tests. In the 26 stem cell aphereses there was no statistically significant difference in any of the analyzed parameters. On the other hand, the comparison of the two apheresis-platforms in 334 ECP procedures yielded a significant difference regarding the volume of the final photopheresis product, the duration of the photopheresis as well as the loss of thrombocytes after the procedure. A statistically significant difference was also observed at the comparison of the data of the first individual patient regarding the amount of erythrocytes measured in the final photopheresis product, the photopheresis duration and the loss of thrombocytes after the procedure. The comparison of the data of the second individual patient confirmed a statistically significant difference for the amount of erythrocytes in the final photopheresis product.

In general, the two apheresis-platforms exhibited comparable results. The 'Spectra Optia' apheresis system is thus suitable for the procedure of stem cell apheresis and extracorporeal photopheresis in children and adolescents, leading to similar results with regard to cell harvest efficiency with a lower final product volume, in most cases though with higher loss of thrombocytes. Particularly important because of its potential benefit and influence on efficient UV-radiation is the lower erythrocyte-contamination of the final photopheresis product in procedures performed with the 'Spectra Optia' platform. Aphereses performed with the 'Spectra Optia' platform appear to be a safe and efficient method, which can also be of advantage regarding the duration of photopheresis in low-weight patients, as this seems to be shorter in the cases where an erythrocyte-transfusion product is required for priming the extracorporeal system. Limitations of this study include the low number of analysed stem cell apheresis procedures and the considerable heterogeneity of the patient sample at the comparison of ECP procedures, both implying the need for further research in order to verify the results of this analysis.

Abkürzungsverzeichnis

ACD	acid citrate dextrose
ACD-A	acid citrate dextrose-A
ATRT	atypischer teratoider rhabdoider Tumor
BO	Bronchiolitis obliterans
CSA	Cyclosporin A
DLI	donor lymphocyte infusion
DMSO	Dimethylsulfoxid
ECP	extrakorporale Photopherese
EK	Erythrozytenkonzentrat
EKG	Elektrokardiogramm
FK506	Tacrolimus
G-CSF	Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor
GvHD	graft-versus-host disease
Hb	Hämoglobin
HIV	humane Immundefizienz-Virus
Hkt	Hämatokrit
JMML	juvenile myelomonozytäre Leukämie
KG	Körpergewicht
KMT	Knochenmarktransplantation
MDS	myelodysplastisches Syndrom
MMF	Mycophenolat mofetil
MNC	mononukleäre Zellen
NBL IV	Neuroblastom IV
PB	peripheres Blut
PBSZ	periphere Blutstammzellen
PLT	Thrombozyt (*engl. Plat*elet)
RBC	red blood cell
SAA	schwere aplastische Anämie
SPSS	superior performing software system
SZ	Stammzell-
SZT	Stamzelltransplantation
TK	Thrombozytenkonzentrat
UV-A	Ultraviolettstrahlung-A
WBC	white blood cell
8-MOP	8-Methoxypsoralen

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1
1.1 Definition der Zytapherese 1
1.2 Anwendungsgebiete der präparativen Zytapherese bei Kindern und Jugendlichen 1
1.3 Nebenwirkungen der Zytapherese 4
1.4 Verfahren der Zytapherese 5
1.5 Vorbereitung zur Zytapherese 7
1.6 Zellprozessierung nach Zytapherese 7
1.7 Apheresesysteme 'Cobe Spectra' und 'Spectra Optia' 9

2 Ziele der Arbeit 11

3 Patienten und Methoden 12
3.1 Indikationsgruppe I: Stammzellapheresen 13
3.1.1 Klinische Patientencharakteristika 14
3.1.2 Aphereseprozedurdaten 16
3.2 Indikationsgruppe II: Extrakorporale Photopheresen (ECP) 18
3.2.1 Klinische Patientencharakteristika 19
3.2.2 Aphereseprozedurdaten 22
3.3 Methodik der statistischen Analyse 24

4 Ergebnisse 26
4.1 Stammzellapheresen 26
4.2 Extrakorporale Photopheresen 31
4.2.1 Vergleich der Apherese-Plattformen in der Gesamtgruppe aller Patienten 31
4.2.2 Vergleich der Aphereseplattformen bei zwei individuellen Patienten 36
4.2.2.1 Patient 1 36
4.2.2.2 Patient 2 41

5 Diskussion 46
5.1 Stammzellapheresen 46
5.2 Extrakorporale Photopheresen 53
5.3 Limitationen der vorliegenden Arbeit 60

6 Literatur- und Quellenverzeichnis 61

7 Abbildungsverzeichnis 64

8 Tabellenverzeichnis 65

1 Einleitung

In den vergangenen Jahren hat der Einsatz des Verfahrens der Zytapherese bei Kindern und Jugendlichen mit onkologischen und hämatologischen Grunderkrankungen erheblich zugenommen.

Die folgende Dissertation verfolgt das Ziel, die Effizienz und Sicherheit dieses Verfahrens im Rahmen der Anwendung bei Kindern und Jugendlichen zu untersuchen und dessen Durchführung mittels zweier technisch verschiedener Zytapherese-Plattformen miteinander zu vergleichen.

1.1 Definition der Zytapherese

Bei dem Verfahren der Zytapherese handelt es sich um die extrakorporale Auftrennung von Blutbestandteilen, die je nach spezifischem Gewicht in mehrere Schichten separiert werden.

Ziel einer therapeutischen Zytapherese ist es zelluläre Bestandteile aus dem Blut zu entfernen, während das Plasma dem Patienten zurückgeführt wird. Bei onkologischen Patienten kann eine therapeutische Zytapherese zum Einsatz kommen, um eine massive Erhöhung der Blutleukozytenzahl (sogenannte Hyperleukozytose) und das hiermit verbundene Hypersikositäts-Syndrom im Rahmen der Erstdiagnose einer akuten Leukämie zu behandeln. Darüber hinaus werden therapeutische Zytapheresen mit Austausch der entfernten Patienten-Erythrozyten durch „gesunde“ Spender-Erythrozyten im Rahmen der maschinellen Austauschtransfusion bei Kindern und Jugendlichen mit Sichelzellerkrankung durchgeführt, um die pathologisch erhöhte Blutviskosität zu reduzieren.

Demgegenüber wird die präparative Zytapherese zur gezielten Entnahme und damit Gewinnung von gewünschten Zellfraktionen bzw. Blutkomponenten eingesetzt. In diesem Fall werden die entnommenen Zellen in vitro verarbeitet und zu einem späteren Zeitpunkt einem Patienten zurücktransfundiert (1). Die vorliegende Dissertation beschäftigt sich ausschließlich mit dem Einsatz dieser präparativen Zytapherese bei Kindern und Jugendlichen.

1.2 Anwendungsgebiete der präparativen Zytapherese bei Kindern und Jugendlichen

Die Anwendung des Verfahrens der Zytapherese hat in den letzten Jahren in der Pädiatrie insbesondere bei Kindern und Jugendlichen mit onkologischen Erkrankungen deutlich zugenommen. In der Kinder-Hämatologie und -Onkologie erfolgt die Anwendung der Zytapherese überwiegend bei folgenden drei Patientengruppen:

1. Onkologische Hochrisiko-Patienten mit Indikation zur Hochdosischemotherapie und anschließender autologer Stammzelltransplantation

Dieses Therapiekonzept betrifft überwiegend Patienten mit Hochrisiko-Neuroblastom, intrakraniellen Tumoren sowie anderen malignen Erkrankungen und soliden Tumoren, die mit einer ungünstigen Prognose assoziiert sind (z.B. Ewing-Sarkome, atypische teratoide rhabdoide Tumore). Die besonderen Vorteile einer autologen Stammzelltransplantation nach einer Dosis-eskalierten Chemotherapie - auch Hochdosischemotherapie oder Megatherapie genannt - sind für diese Patienten klinisch von großer Bedeutung, sowohl bei myeloablativer, als auch bei einer nicht-myeloablativen Vortherapie.

Die Mehrzahl der Patienten erhalten eine myeloablative Hochdosis-Chemotherapie; in diesen Fällen ist die Verfügbarkeit einer ausreichenden Zahl an autologen Stammzellen aufgrund der darauffolgenden irreversiblen Knochenmark-Aplasie von essentieller Bedeutung. Retrospektive, sowie prospektive Analysen bei Neuroblastom-Patienten mit Hochrisikoprofil zeigen einen signifikanten Vorteil für die autologe Stammzelltransplantation im Vergleich zur konventionellen Chemotherapie (2).

Patienten, die eine nicht-myeloablative Hochdosis-Chemotherapie erhalten, können ebenfalls von einem autologen Stammzellrescue durch die Optimierung der Chemotherapiedosis profitieren. Es folgt eine schnellere hämatologische Rekonstitution, die eine höhere Therapiedichte sicherstellt, es besteht ein niedrigeres Infektionsrisiko, eine minimierte infektionsassoziierte Morbidität, als auch signifikant geringere Dauer eines stationären Aufenthaltes aufgrund einer Aplasie-bedingten Infektion. In dieser Indikationsgruppe sind besonders vielversprechende Daten aus der St.Jude-Gruppe für Kinder mit Hochrisiko-Medulloblastom, einem häufigen malignen Hirntumor im Kindesalter, publiziert worden, die eine Serie von vier nicht-myeloablativen Hochdosistherapien mit autologen Stammzellrescues erhalten (3), (4).

2. Die zweite Gruppe umfasst Patienten mit benignen hämatologischen Erkrankungen, zur Erstellung eines autologen Stammzellpräparats als Sicherheits-Backup vor geplanter allogener Stammzelltransplantation.

Bei dieser Patientengruppe handelt es sich um Patienten mit Thalassämia major, seltener auch Patienten mit Thalassämia intermedia.

Thalassämia major, sowie die Sichelzellerkrankung zählen zu den zwei häufigsten hereditären Hämoglobinopathien, welche im Kindesalter diagnostiziert werden. Die Durchführung allogener Stammzelltransplantationen bei diesen Patienten hat in den letzten Jahren deutlich zugenommen. Die klinischen Erfolgsraten haben sich in den letzten 30 Jahren erheblich verbessert, so dass eine allogene Stammzelltransplantation bei einem geeigneten Spender heutzutage in vielen Fällen indiziert ist (5).

Allerdings ist die Stammzelltransplantation bei dieser Patientengruppe mit einem erhöhten Abstoßungs- oder Graft-Failure-Risiko verbunden, vor allem aufgrund der vorbestehenden ausgeprägten extramedullären Hämatopoese und des damit assoziierten Risikos, dass die transfundierten Spender-Stammzellen die „alte", patienteneigene Hämatopoese im Knochenmark nicht erfolgreich verdrängen (6).

Daher erfolgt bei diesen Patienten vor Durchführung der allogenen Stammzelltransplantation für den Fall eines primären oder sekundären Graft-failure eine autologe Stammzellsammlung als Notfall-Backup-Präparat.

3. Die dritte Patientengruppe betrifft Patienten nach allogener Stammzell- oder Knochenmarktransplantation, bei denen im Verlauf eine therapierefraktäre, akute oder chronische Spender-gegen-Empfänger Reaktion (*engl. graft-versus-host disease* (GvHD)) aufgetreten ist. Bei diesen Patienten ist das Verfahren einer extrakorporalen Photopherese (ECP) eine inzwischen etablierte und effiziente Behandlungsmethode. Hierzu müssen zunächst periphere Blutleukozyten des Patienten mittels Zytapherese gewonnen werden.

Als GvHD wird eine immunologische, zytotoxische Reaktion bezeichnet, die von Spender T-Lymphozyten ausgeht. Die durch Zytokine aktivierten T-Lymphozyten des Spenders reagieren gegen gesunde Empfängerzellen und verursachen Gewebeschädigungen, die eine systemische immunologische Reaktion zur Folge haben. Am häufigsten sind Haut, Leber und Darm betroffen; eine akute oder chronische GvHD kann allerdings alle Organe des Empfängers betreffen, z.B. auch Lungengewebe und Augen.

Die GvHD-Reaktion zählt zu den schweren Komplikationen in Folge einer allogenen Stammzelltransplantation mit signifikanter Morbidität und Mortalität. Kortikosteroide und andere immunsuppressive Medikamente wie Cyclosporin A (CSA), Tacrolimus (FK506) und Mycophenolat Mofetil (MMF) sind etablierte Erstlinien-Medikamente. Auch bei pädiatrischen Patienten ist die systemische immunsuppressive Therapie mit Kortikosteroiden und v.a. Calcineurin-Inhibitoren (Cyclosporin A) die primäre Therapie einer akuten GvHD. Diese Substanzen zeigen eine gute Effizienz, allerdings auf Kosten einer relevanten Toxizität, Morbidität und Mortalität, vor allem aufgrund des assoziierten erhöhten Infektionsrisikos (7), (8). Patienten ohne Therapieansprechen auf konventionelle Immunsuppressiva haben insgesamt eine ungünstige Prognose.

Die extrakorporale Photopherese ist von zunehmend großer Bedeutung bei der Therapie von Patienten mit akuten oder chronischen GvHD-Zeichen. Als etablierte Behandlungsmethode weist sie ein sehr gutes Sicherheitsprofil auf. Die extrakorporale Photopherese kann als adjuvante Therapie bei steroidrefraktärer oder steroidabhängiger akuter GvHD eingesetzt werden bzw. als Zweitlinientherapie

bei steroidrefraktärer oder steroidabhängiger chronischer GvHD. Weiterhin wird sie bei Patienten, in denen Steroide in der Standarddosierung nicht toleriert werden können, verwendet (9).

Obwohl sich das Verfahren der extrakorporalen Photopherese seit mehr als zwanzig Jahren im klinischen Einsatz befindet, ist der Wirkungsmechanismus bis heute nicht endgültig geklärt. Der therapeutische Effekt der ECP dürfte in erster Linie auf immunmodulatorischen Effekten der via Zytapherese entnommenen, *ex vivo* behandelten und dann rücktransfundierten Zellen basieren; diese können aktuell wie folgt zusammengefasst werden: 1. Modulation dendritischer Zellen hin zu einem Toleranz-vermittelnden Phänotyp, 2. Veränderungen des Zytokinprofils und 3. Induktion bestimmter regulatorischer T-Zell-Subpopulationen (10). Es ist nachgewiesen, dass die extrakorporale Photopherese eine kortikosteroid-sparende Wirkung, eine immunmodulatorische Wirkung zugunsten einer GvHD-Kontrolle, sowie positive Auswirkungen auf das Überleben und die Lebensqualität der therapieansprechenden Patienten hat (11).

Die extrakorporale Photopherese bei Kindern und Jugendlichen wird vorwiegend als Therapie einer akuten oder chronischen GvHD angewandt, jedoch hat dieses Verfahren in den letzten Jahren auch bei autoimmunologischen Erkrankungen im Kindesalter, wie z.B. Diabetes mellitus oder Asthma bronchiale an Bedeutung zugenommen (12).

Aufgrund der einzigartigen Physiologie, sowie unterschiedlicher Gewichtsklassen treten spezifische Herausforderungen bei der ECP bei Kindern auf (13), die bei jedem Patienten und Krankheitsbild individuell zu beachten sind.

1.3 Nebenwirkungen der Zytapherese

Bei dem Verfahren der Zytapherese kann es in seltenen Fällen zu Nebenwirkungen und Komplikationen kommen. Diese sind:

- Abfall des Hämoglobin-Wertes und der Thrombozytenzahl. Bei stark erniedrigten Werten und/oder klinischer Symptomatik kann die Gabe von Erythrozyten- bzw. Thrombozytenkonzentraten erforderlich werden.
- Fehlregulation des Kreislaufs mit Schweißausbrüchen, Schwindel, Übelkeit/Erbrechen, arterieller Hypotonie und Tachykardie.
- Hypokalziämie bedingt durch die Gabe von Acid-Citrate-Dextrose (ACD) als Antikoagulans mit konsekutiven Missempfindungen, Kribbelparästhesien und Muskelkrämpfen den oberen und unteren Extremitäten. ACD bindet zum Teil an Kalzium und verursacht als Folge die Hypokalziämie; um einen Kalzium-Mangel vorzubeugen wird dem Patienten während der Apherese orales oder intravenöses Kalzium zugeführt. Seltener werden Blutungen oder allergische Reaktionen als Folge der ACD-Gabe beobachtet.
- technische Komplikationen wie

Luftembolie durch Ausfall von Sicherheitssystemen,

Blutverlust oder Infektionsrisiko durch Defekte im Schlauch-Beutel System,

Thromben-Bildung durch nicht ausreichende Hemmung der Blutgerinnung sowie Hämolyse durch ungewöhnliche Druckveränderungen im Schlauch-Beutel System.

- Dauer der Apherese (ca. 1 bis 2 Stunden bei einer extrakorporalen Photopherese, ca. 3 bis 5 Stunden bei einer Stammzellsammlung) als Belastungsfaktor im Kindesalter. Oft treten Druck- oder Flussprobleme auf; viele Kinder müssen für die Dauer des Verfahrens liegen und sich relativ ruhig verhalten.

1.4 Verfahren der Zytapherese

Die Sammlung und Auftrennung der Zellen erfolgt über einen bereits implantierten zentralvenösen Katheter (Broviak/Hickman- oder Sheldon- Katheter) und/oder über periphere Venenkatheter. Das Blut des Patienten wird über ein steriles, geschlossenes Schlauchsystem in die Separationsmaschine geleitet und dort durch die Zentrifuge in seine zellulären und plasmatischen Bestandteile aufgetrennt. Die Trennung erfolgt durch einen kontinuierlichen Fluss des Patientenblutes in die Zentrifuge, das Blut wird gemäß dem spezifischen Gewicht der zellulären Komponenten separiert. Dabei fallen die „schweren“ Erythrozyten nach unten, das „leichte“ Plasma steigt nach oben und der sogenannte Buffy Coat, bestehend aus Thrombozyten und Leukozyten bildet sich in der mittleren Trennschicht (Abb. 1.1). Die verschiedenen Formen der Leukozyten werden wiederum nach ihrem spezifischen Gewicht aufgetrennt. Je höher die Zentrifugengeschwindigkeit, desto mehr werden alle Komponenten verdichtet und das Plasma wird an der Sammelschnittstelle fast zellfrei (14). Diese Sammelschnittstelle im Bereich der Buffy Coat-Schicht wird so eingestellt dass möglichst nur gewünschte zelluläre Komponenten gesammelt werden.

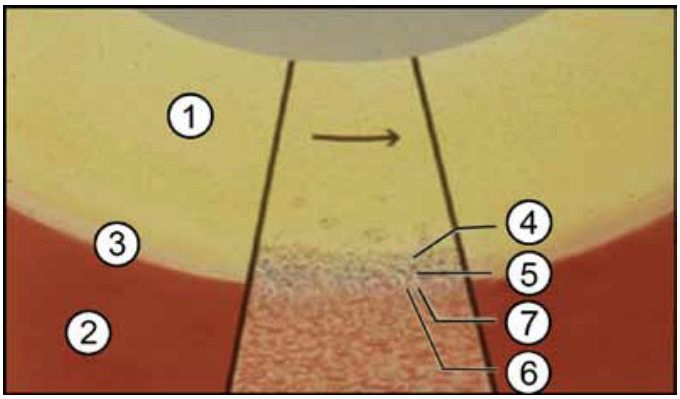


Abb. 1.1: Trennung der zellulären Komponenten durch Zentrifugation

(Quelle: Arbeitsheft für die Grundlagenschulung zum Spectra Optia® Apheresesystem (14))
Dargestellt werden die verschiedene zellulären Komponente des Blutes nach Zentrifugation: 1. Plasma, 2. Verdichtete Erythrozyten, 3. Buffy Coat, 4. Thrombozyten, 5. Lymphozyten, 6. Granulozyten, 7. Monozyten

Um die Gerinnung des Blutes zu verhindern wird dem Patienten-Blut unmittelbar nach der Entnahme aus der Vene Acid-Citrate-Dextrose (ACD) zugesetzt. Während des Apherese-Laufes werden die Erythrozyten und die Thrombozyten dem Patienten kontinuierlich zurückgegeben; die gewünschten Zellen aus der Buffy Coat-Schicht werden in einem separaten Beutel gesammelt (Abb. 1.2).

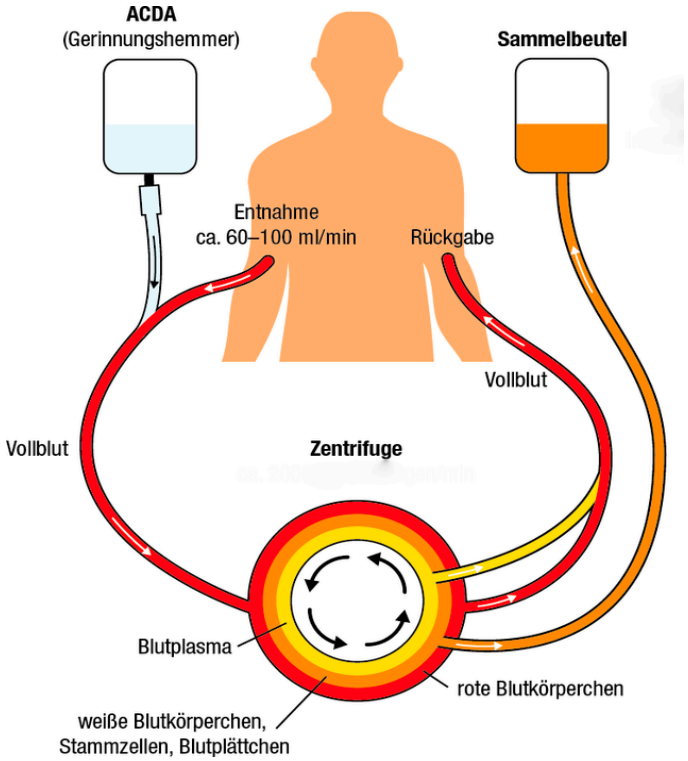


Abb. 1.2: Schematische Darstellung einer Stammzellapherese

(Quelle: Cellex Collection Centre (15))
Dargestellt wird das Verfahren einer Zytapherese: Entnahme aus dem Patientenkörper, *in vitro* Zentrifugation und Sammlung der gewünschten Zellen in einem separaten Beutel sowie kontinuierliche Rückgabe der Erythrozyten und Thrombozyten.

Der Patient ist während des gesamten Verfahrens an einem Überwachungsmonitor angeschlossen, die Vitalparameter (Blutdruck, Herzfrequenz und transkutane Sauerstoffsättigung) werden in regelmäßigen Abständen kontrolliert.

1.5 Vorbereitung zur Zytapherese

Stammzellapherese

Um eine autologe Stammzellsammlung durchführen zu können erfolgt vorab eine Stimulation der Stammzellen des hämatopoetischen Systems mit Granulozyten-Kolonie stimulierendem Faktor (G-CSF), ein gentechnologisch hergestelltes Präparat zur Expansion und Mobilisierung unreifer hämatopoetischer Vorläuferzellen aus dem Knochenmark in das periphere Blut. Die Verabreichung von G-CSF erfolgt über 5-6 Tage durch subkutane Injektionen, ein- bis zweimal pro Tag in einer gewichtsadaptierten Dosis. Die Patienten werden am Tag vor der geplanten Stammzellapherese stationär aufgenommen, die letzte Gabe von G-CSF wird dann aus Effektivitätsgründen intravenös verabreicht.

Gastrointestinale Beschwerden, Knochen- und Muskelschmerzen, sowie ein generalisiertes Krankheitsgefühl sind die häufigsten Nebenwirkungen von G-CSF. Insgesamt wird aber das Medikament im Kindesalter gut vertragen; Spätfolgen wurden bisher nicht beobachtet.

Extrakorporale Photopherese

Bei einer extrakorporalen Photopherese ist eine Stammzellmobilisierung via G-CSF nicht erforderlich, da primär die regulär zirkulierenden, peripheren Blutleukozyten gesammelt werden sollen.

Voraussetzungen zur Durchführung des Zytapherese-Verfahrens, sowohl bei Stammzellapheresen, als auch bei extrakorporalen Photopheresen ist eine ausreichende Hämoglobinkonzentration und Thrombozytenzahl im Patientenblut vor Apheresebeginn, sowie fehlende akute klinische und laborchemische Infektionszeichen. Darüber hinaus, müssen die Patienten innerhalb der letzten 28 Tage für Hepatitis B, Hepatitis C und HIV negativ getestet sein. Apparative Voruntersuchungen wie z.B. Echokardiographie und Elektrokardiogramm (EKG) sollen unauffällig sein und kein besonderes Risiko für den Patienten anzeigen.

1.6 Zellprozessierung nach Zytapherese

Die in einem separaten Beutel gesammelten Zellen werden nach Abtrennung des Patienten aus der Apheresemaschine weiterverarbeitet.

Stammzellapherese

Nach einer Stammzellapherese und der darauffolgenden Zellzahlmessung werden die gesammelten Zellen auf einen oder mehreren Beutel aufgeteilt, mit einer Einfrierlösung vermischt und schließlich in flüssigem Stickstoff kryokonserviert. Die Lagerung der Zellen erfolgt für längstens fünf Jahre nach der Stammzellsammlung.

Extrakorporale Photopherese

Die gesammelten Zellen werden bei dem Verfahren einer extrakorporalen Photopherese am Ende des Verfahrens mit dem photoaktiven Medikament 8-Methoxypsoralen (8-MOP) behandelt und anschließend mit UV-A Licht bestrahlt. UV-A Licht aktiviert 8-MOP und hieraus resultiert der immunmodulatorische Effekt dadurch, dass die reinfundierte präapoptotische Zellen durch Zellen des retikulohistiozytären Systems (Monozyten und Makrophagen) sowie durch dendritischen Zellen phagozytiert werden. Somit findet eine Immunmodulation im Sinne einer Induktion tolerogener Monozyten und dendritischen Zellen statt. Die behandelten Zellen werden unmittelbar nach der Bestrahlung dem Patienten zurücktransfundiert (Abb. 1.3)

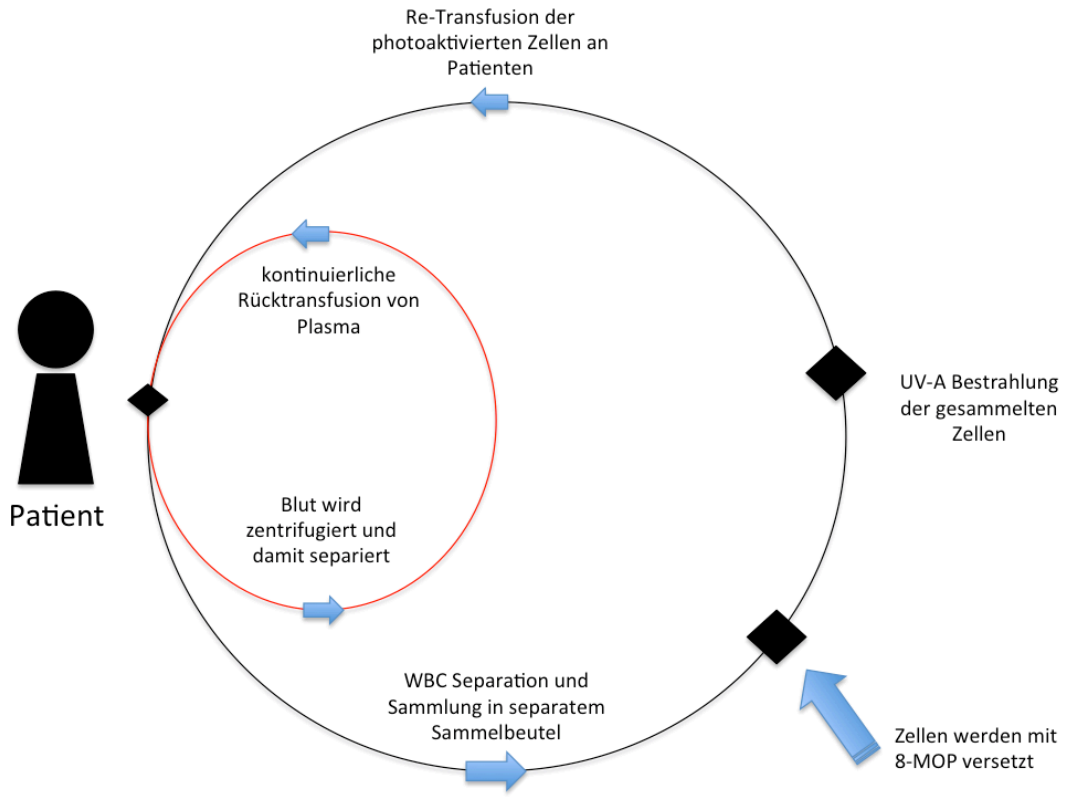


Abb. 1.3: Schematische Darstellung der Zellprozessierung bei dem Verfahren der extrakorporalen Photopherese

Dargestellt wird die Behandlung der gesammelten Zellen mit 8-MOP und anschließend UV-A Bestrahlung mit dem Ziel einer immunmodulatorischen Wirkung

1.7 Apheresesysteme 'Cobe Spectra' und 'Spectra Optia'

Im Jahr 2015 erfolgte in der Klinik für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und Klinische Immunologie ein Wechsel der technischen Aphereseplattform auf das neue System 'Spectra Optia', nachdem das über 20 Jahre im Einsatz befindliche alte System 'Cobe Spectra' vom Hersteller vom Markt genommen wurde.

Nachfolgend werden die wichtigsten Bedienungsaspekte der beiden Apheresesysteme 'Spectra Optia' und 'Cobe Spectra' präsentiert, die im Anschluss miteinander verglichen werden.

Sowohl das 'Cobe Spectra'- als auch das 'Spectra Optia'- Apheresesystem sind transportable, automatische Blutkomponentenseparatoren; die Funktionen des 'Spectra Optia' Systems sind auf der des 'Cobe Spectra'-Verfahrens basierend.

Beide Apheresemaschinen bestehen aus einem Apheresesystem und aus einem Schlauchsystem.

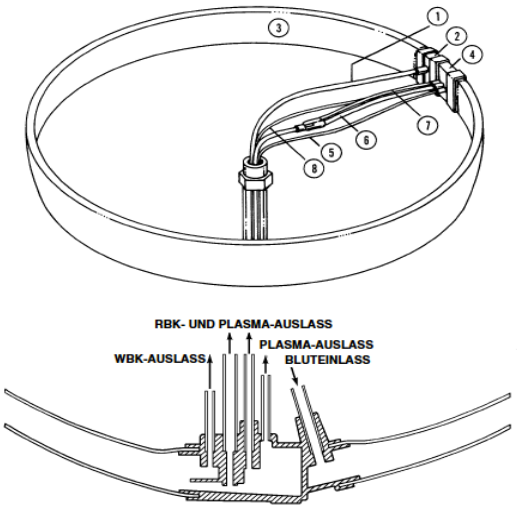
Das Apheresesystem, -d.h. der automatische, auf dem Zentrifugenprinzip basierende Blutkörperchen-Separator, der die Steuerung und Überwachung des extrakorporalen Kreislaufs bei der Apherese übernimmt - umfasst sowohl bei der 'Cobe Spectra' als auch bei der 'Spectra Optia' Maschine eine Zentrifugenkammer mit Füllvorrichtung, eine Frontplatte mit Pumpen, Ventilen und Sensoren des Systems sowie einen Bedienfeld. Dieser besteht aus der Tastatur und dem Anzeigebildschirm bei dem 'Cobe Spectra' System, das 'Spectra Optia' System verfügt über einen *'touch screen'* Anzeigebildschirm ohne zusätzliche Tastatur. Die Anzeige und die Tastatur ermöglichen dem Bediener eine interaktive Steuerung des Systems (16), (17).

Ergänzt werden beide Systeme durch ein Schlauchset in dem Blut und Ersatzflüssigkeiten durch das System geleitet werden.

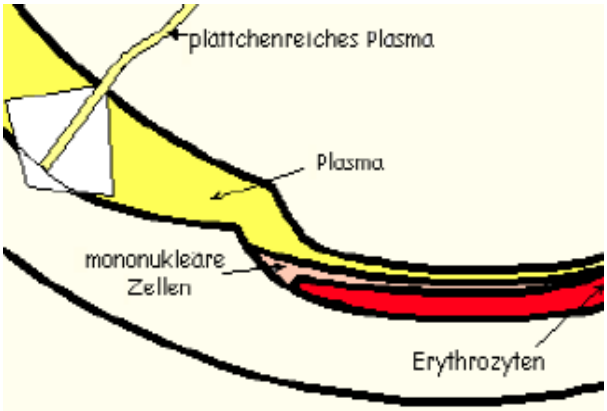
Unterschied zwischen dem 'Cobe Spectra' und 'Spectra Optia' -Verfahren ist die Möglichkeit einer automatischen, von der Maschine gesteuerten Anpassung der Schnittstelle während der Sammlung. Bei dem Verfahren der 'Spectra Optia' kommt es zu einer kontinuierlichen optischen Messung der Zellen und damit Anpassung des Verfahrens und der Schnittstelle, im Gegensatz zu dem Verfahren von 'Cobe Spectra' bei dem die Schnittstelle vom Bediener kontrolliert wurde und gegebenenfalls von ihm angepasst wurde.

Ein zusätzlicher Unterschied besteht dadurch, dass während einer Sammlung mit dem 'Cobe Spectra' System die gesammelte Zellen an einem bestimmten Ort des Zentrifügen-Schlauchsystems gesammelt wurden. Konkreter, während eines automatischen PBSC-Verfahrens trennen sich die mononukleären Zellen von den Erythrozyten und bilden eine Zellschicht genau unterhalb des Dammes des Kanals. Die Absammlung in einem separaten Beutel erfolgt nach einem von der Maschine initial berechneten und

definierten Blutvolumen (16). Im Gegensatz dazu, werden die Zellen bei dem 'Spectra Optia' Verfahren in einer separaten Counter-Flow-Kammer konzentriert gesammelt, während das Plasma und die Thrombozyten durchlaufen und dem Patienten zurückgegeben werden (17). Wenn diese Counter-Flow-Kammer voll wird, erfolgt automatisch durch die Maschine die Absammlung der Zellen in einem separaten Beutel (Abb. 1.4).



a)



b)

1. Vollblut fließt in den Kanal
2. Erythrozyten fließen passiv in das Reservoir.
3. Plasma wird in das Reservoir gepumpt oder gesammelt.
4. Der Buffy Coat wird aus dem Kanal gepumpt.

c)

Abb. 1.4: Ansicht des 'Cobe Spectra'- (a), (b) und 'Spectra Optia'- (c) Zentrifugensystems

(Quellen: Cobe Spectra® Apheresesystem Schulungsarbeitsbuch (18), Verfahrensschulung zum Spectra Optia® Apheresesystem (14))
Dargestellt wird das Zentrifügenset (a) des Cobe Spectra® Apheresesystems, der MNC-Ansammlungsort genau unterhalb des Dammes des Kanals (b) des Cobe Spectra® Apheresesystems sowie das Zentrifügenset (c) des Spectra Optia® Apheresesystems

2 Ziele der Arbeit

Das Verfahren der Zytapherese wird in den letzten Jahren zunehmend häufig bei Kindern und Jugendlichen mit onkologischen Erkrankungen angewandt, insbesondere um nach Mobilisation mit G-CSF hämatopoetische Stammzellen aus dem peripheren Blut für eine spätere autologe Stammzelltransplantation oder periphere Blutleukozyten für eine nachfolgende ECP-Behandlung zu gewinnen. Allerdings stehen bisher bezüglich der Effizienz und Sicherheit bei der Anwendung dieser Methode im Kindesalter nur limitierte Daten zur Verfügung.

Seit April 2015 werden die Zytapheresen bei Kindern und Jugendlichen in der Klinik für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und Klinische Immunologie des Universitätsklinikums Düsseldorf mit dem neuartigen Apheresesystem 'Spectra Optia' durchgeführt, nachdem das „Cobe Spectra“ System nach mehr als 20 Jahren vom Hersteller vom Markt genommen wurde.

Ziel dieser Dissertation ist die systematische Untersuchung und Bewertung der Durchführbarkeit, der Effizienz sowie der Sicherheit der Zytapherese mit dem neuen Apheresesystem 'Spectra Optia' bei Kindern aller Altersgruppen und Jugendlichen. Mit dem primären Ziel der Qualitätssicherung wurden die erhobenen Daten mit Daten von Patienten verglichen, die in der Vergangenheit eine Zytapherese mittels des alten Apheresesystems 'Cobe Spectra' erhalten hatten.

3 Patienten und Methoden

Um die vorgenannten Fragen zur Durchführbarkeit, Effizienz sowie Sicherheit pädiatrischer Zytapheresen zu beantworten wurde eine retrospektive Analyse solcher Patienten durchgeführt, die im Zeitraum zwischen April 2015 und Dezember 2015 eine Zytapherese mittels des Apheresesystems 'Spectra Optia' in der Klinik für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und Klinische Immunologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf erhalten hatten. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität unter der Projektnummer 5337 positiv bewertet.

Die innerhalb der Studie analysierten Patienten wurden in zwei pädiatrische Indikationsgruppen zur Zytapherese unterteilt und separat ausgewertet:

Die erste Indikationsgruppe umfasst onkologische Hochrisiko-Patienten, bei denen eine Hochdosis-Chemotherapie mit anschließender autologer Stammzelltransplantation (SZT) indiziert ist, sowie Patienten mit hämatologischen Erkrankungen, bei denen die Gewinnung eines autologen Stammzell-Backups vor geplanter allogener Stammzelltransplantation klinisch notwendig ist.

Die zweite Indikationsgruppe betrifft Patienten nach allogener Stammzell- oder Knochenmarktransplantation, bei denen eine extrakorporale Photopherese (ECP) zur Behandlung einer therapierefraktären, akuten oder chronischen Spender-gegen-Empfänger Reaktion (*engl. graft-versus-host disease* (GvHD)) indiziert ist, und für die im ersten Schritt periphere Blutleukozyten in großer Zahl gewonnen werden müssen.

Zunächst wurden die Patienten- und Prozessdaten von 13 Stammzellapheresen sowie 63 extrakorporale Photopheresen - die mittels des Apheresesystems 'Spectra Optia' durchgeführt wurden - in einer Datenbank erfasst. Anschließend wurden diese Daten -wie in den nachfolgenden Abschnitten dargestellt- mit Patienten- und Prozessdaten von Stammzellapheresen und extrakorporalen Photopheresen verglichen, die zwischen November 2010 und Dezember 2015 vom selben Aphereseteam mit dem alten Apheresesystem „Cobe Spectra“ durchgeführt wurden.

Alle Patientendaten wurden pseudonymisiert erhoben und werden in der nachfolgenden Arbeit in anonymisierter Form dargestellt.

Im nachfolgenden Abschnitt werden zunächst getrennt für die beiden Indikationsgruppen die untersuchten Patientenkohorten charakterisiert sowie die erfassten Zielparameter dargestellt. Anschließend wird die Methodik der statistischen Analyse beschrieben.

3.1 Indikationsgruppe I: Stammzellapheresen

Insgesamt wurden im Zeitraum zwischen April und Dezember 2015 13 Stammzellapheresen mit dem neuen Apheresesystem 'Spectra Optia' durchgeführt (Spectra Optia; n=13). Um diesen Stammzellapheresen möglichst vergleichbare Aphereseprozeduren mit dem alten Apheresesystem 'Cobe Spectra' zuzuordnen wurden die Patienten zunächst nach Körpergewicht in 3 Kategorien unterteilt, da das Körpergewicht und damit die erzielbaren Blutflussverhältnisse die Apherese-Bedingungen substanziell mitbestimmen:

- Kleinkinder <15 kg
- Kinder zwischen 15 kg und 40 kg
- Jugendliche ≥40 kg

Anschließend wurde angestrebt innerhalb der Gewichtskategorien für die Aphereseprozeduren mit dem 'Spectra Optia'- Verfahren solche Vergleich-Prozeduren mit dem 'Cobe Spectra'- Verfahren zu identifizieren, die bezüglich wesentlicher Einflussfaktoren, das heißt der CD34-Progenitorzellkonzentration im Blut sowie der Leukozytenkonzentration im Blut vor Apherese, bestmöglich vergleichbar sind. Dies wurde dadurch erleichtert, dass entsprechende Daten für insgesamt 90 Aphereseprozeduren mit dem 'Cobe-Spectra'- Verfahren bereits in einer Excel-Datenbank erfasst waren.

Patienten <15 kg (Untergruppe 1)

Innerhalb der Gewichtsgruppe <15 kg konnten für 4 Patienten, (entsprechend auch 4 Aphereseverfahren) die eine Stammzellapherese mit dem 'Spectra Optia'-Verfahren erhalten hatten, insgesamt 22 Vergleichsprozeduren mit dem 'Cobe Spectra'-Verfahren identifiziert werden. Wie oben dargestellt wurden für den Paar-Vergleich die 4 'Cobe-Spectra'-Aphereseläufe bei 3 Patienten ausgewählt, bei denen sich die geringsten Unterschiede bzgl. der CD34-Zellzahl und Leukozytenzahl im Blut vor Apherese zeigten. Die maximale Abweichung zwischen den beiden Aphereseprozeduren der vier Vergleichspaare betrugen bzgl. der CD34-Zellzahl 30% und bzgl. der Leukozytenzahl 35%.

Patienten ≥15 kg und <40 kg (Untergruppe 2)

Mit selbigem Vorgehen wie zuvor beschrieben, wurden für 6 Stammzellapheresen mit dem 'Spectra Optia'-Verfahren (durchgeführt bei 4 Patienten mit einem Gewicht zwischen 15 und 40 kg) aus einer Vergleichsgruppe von 50 'Cobe Spectra'-Verfahren-Apheresen, 6 Stammzellapheresen bei insgesamt 6 Patienten ausgewählt. Die maximale Abweichung zwischen den beiden Aphereseprozeduren der 6 Vergleichspaare betrugen bzgl. der CD34-Zellzahl 20% und bzgl. der Leukozytenzahl 35%.

Patienten ≥40 kg (Untergruppe 3)

In der Gruppe der Patienten mit einem Körpergewicht über 40 kg befanden sich 3 Stammzellapheresen mittels 'Spectra Optia'-Verfahrens bei 2 Patienten. Bei dem Vergleich mit insgesamt 18 verfügbaren 'Cobe Spectra'-Apheresen dieser Patientengewichtsklasse ergaben sich jedoch selbst bei optimalen Patienten-Matching Abweichungen der CD34-Zellzahl und Leukozytenzahl im Blut vor Apheresen von bis zu 70%. Vor diesem Hintergrund musste auf das Kriterium „Gewichtsklasse“ für die Auswahl der Vergleichspaare zwangsläufig verzichtet werden und es wurden Patienten als Vergleichspartner identifiziert, die ein möglichst hohes – wenn auch unter 40 kg liegendes Körpergewicht aufwiesen – und eine möglichst gut vergleichbare CD34- und Leukozytenzahl. Die maximale Abweichung zwischen den beiden Aphereseprozeduren der drei Vergleichspaare betrugen bzgl. der CD34-Zellzahl 20% und bzgl. der Leukozytenzahl 35%.

3.1.1 *Klinische Patientencharakteristika*

Insgesamt wurden somit Daten von 26 Stammzellapheresen analysiert, 13 davon mittels 'Spectra Optia'- und 13 mittels 'Cobe Spectra'-Verfahren. Diese 26 Aphereseprozeduren verteilten sich auf insgesamt 22 verschiedene Patienten, deren Geschlecht, Alter, Gewicht, Diagnose und Art der Stammzellmobilisation nachfolgend beschrieben wird.

Geschlecht / Alter / Gewicht:

Unter den 22 Patienten, deren 26 Aphereseprozeduren vergleichend analysiert wurden, fanden sich 10 männliche und 12 weibliche Individuen. 6 Jungen und 4 Mädchen bekamen eine Zytapherese mittels des 'Spectra Optia' Verfahrens (Alter 1,7 - 16,8 Jahre – Median 6,2), 4 Jungen und 8 Mädchen mittels des 'Cobe Spectra'-Verfahrens (Alter 6 Monate – 12,4 Jahre – Median 6,2). Das Gewicht der Patienten variierte zwischen 6,6 kg und 72,2 kg ('Spectra Optia'-Patienten 8,9 kg - 72,2 kg, Median: 19,9 kg - Cobe Spectra' 6,6 kg - 36,1 kg, Median: 19,9 kg). 7 Patienten wurden in die Untergruppe 1

(Körpergewicht <15 kg), 13 Patienten in die Untergruppe 2 (Körpergewicht ≥15 kg und <40 kg) und 2 Patienten in die Untergruppe 3 (Gewicht ≥40 kg) eingeordnet.

Diagnose:

Bei 6 Patienten ergab sich die Indikation zur Stammzellapherese nach der Diagnose eines Medulloblastoms. Davon erhielten 3 Patienten eine Zytapherese mit dem neuen System 'Spectra Optia', 3 mittels des Systems 'Cobe Spectra'. Weitere 13 Patienten hatten die Indikation zur Stammzellapherese aufgrund eines anderen soliden Tumors (Neuroblastom Stadium IV, atypischer teratoid-rhabdoid Tumor, Ewing Sarkom und Nephroblastom). 5 davon erhielten eine Stammzellapherese mittels des 'Spectra Optia'-und 8 davon mittels des 'Cobe Spectra'- Systems. Ebenfalls befanden sich in unserem Patientenkollektiv 3 Patienten mit einer beta-Thalassämie, 2 davon erhielten eine Zytapherese mittels des 'Spectra Optia'- und 1 davon mittels des 'Cobe Spectra'-Systems.

Art der Stammzellmobilisation:

In dem Kollektiv von 22 Patienten der analysierten 26 Stammzellapheresen, wurden 8 Patienten ausschließlich mit Granulozyten-Kolonie-stimulierenden Faktor (G-CSF) mobilisiert, 3 davon erhielten anschließend eine Zytapherese mittels des 'Spectra Optia'-, 5 davon mittels des 'Cobe Spectra'-Systems. Die restlichen 14 Patienten wurden mit Chemotherapie und anschließender G-CSF-Gabe mobilisiert ('Spectra Optia' n=7, 'Cobe Spectra' n=7).

Nachfolgende werden die klinische Charakteristika der 22 Patienten der analysierten Stammzellapheresen-Verfahren zusammenfassend in einer Tabelle wiedergegeben (Tabelle 1).

Apheresesystem	**Spectra Optia**	**Cobe Spectra**
Patientenzahl [n]	10	12
Geschlecht [n] Männlich Weiblich	 6 4	 4 8
Alter [Jahre] Minimum Maximum Median	 1,7 16,8 6,2	 0,5 12,4 6,2
Gewicht [kg] Minimum Maximum Median	 8,9 72,2 19,9	 6,6 36,1 19,9

Gewichtsklasse [n] < 15 kg 15-40 kg ≥ 40 kg	 4 4 2	 3 9 0
Diagnose [n] Medulloblastom Solider Tumor Thalassämie	 3 5 2	 3 8 1
Art der Mobilisation [n] G-CSF Chemotherapie und G-CSF	3 7	5 7
Anzahl Apheresen [n]	13	13
Apheresen pro Patient [n] 1 2 3	 8 1 1	 11 1 0

Tabelle 1: Klinische Charakteristika der 22 Patienten bei denen die analysierten 26 Stammzellapheresen mittels des 'Cobe Spectra'- und des 'Spectra Optia'-Systems durchgeführt wurden.
Dargestellt werden folgende Patienten-Daten: Geschlecht, Alter, Gewicht, Diagnose, Art der Mobilisation und Zahl der Apheresen pro Patient. Die Daten sind separat für das Verfahren mit dem 'Cobe Spectra'- und mit dem 'Spectra Optia'-System dargestellt.

3.1.2 *Apherese**prozedurdaten***

Von allen Stammzellapherese-Prozeduren wurden folgende Parameter in einer Datenbank erfasst und in der Folge analysiert:

- Patienten-Blutbild-Werte vor und nach Separation, um Hämoglobin- und Thrombozyten-Verlust, bzw. deren Differenz, zu untersuchen
- CD34+ Zellzahl/µl im peripheren Blut vor Separation
- CD34+ Zellzahl/kg KG im Apheresat
- Hämatokrit (Hkt) im Apheresat
- Volumen des Apheresats
- prozessiertes Blutvolumen während der Apherese
- Dauer der Apherese
- unerwünschte Nebenwirkungen und/oder Komplikationen
- Sterilitätskontrolle des Apheresats

Anschließend wurden aus diesen erfassten Apherese-Prozedurdaten folgende Zielparameter berechnet und zwischen den 13 'Spectra Optia'- und 13 'Cobe Spectra'-Aphereseverfahren verglichen:

Hämoglobin (Hb) Differenz vor und nach Separation und Transfusionspflichtigkeit:

Die absolute Hämoglobindifferenz wurde durch die Subtraktion der Hämoglobinkonzentration vor und nach Separation berechnet:

- absolute Hämoglobin Differenz = Hämoglobinkonzentration nach Separation - Hämoglobinkonzentration vor Separation

Die prozentuale Hämoglobin Differenz wurde durch Division dieser zwei Parameter berechnet:

- % Hämoglobin-Differenz = (Hämoglobinkonzentration nach Separation / Hämoglobinkonzentration vor Separation) - 1, %

Erfasst wurde auch die Zahl der Patienten bei denen der Hämoglobin-Wert nach Stammzellapherese <7g/dl betrug, um die damit verbundene Transfusionspflichtigkeit zu erfassen.

Thrombozyten (PLT) Differenz vor und nach Separation und Transfusionspflichtigkeit:

Die absolute Thrombozytenzahl-Differenz wurde berechnet durch die Subtraktion der Thrombozytenzahl vor und nach Separation:

- absolute PLT-Zahl Differenz = Thrombozytenzahl nach Separation - Thrombozytenzahl vor Separation

Die prozentuale Thrombozytenzahl Differenz:

- % PLT-Zahl-Differenz = (Thrombozytenzahl nach Separation / Thrombozytenzahl vor Separation) - 1, %

Ebenfalls wurde hier auch die Zahl der Patienten erfasst, bei denen der Thrombozyten-Wert nach Stammzellapherese <20.000/µl betrug, um die damit verbundene Transfusionspflichtigkeit zu erfassen:

CD34+Zellen/µl im Apheresat:

Um die absolute CD34+ Zellzahl/µl im Apheresat zu berechnen wurde folgende Formel angewandt:

- CD34/µl im Apheresat = ((CD34+Zellen/kg KG) x (kg KG) x 1000) / Apheresat Volumen in ml

Sammeleffizienz bezüglich der CD34-Zellzahl:

Die Sammeleffizienz bezogen auf der CD34-Zellzahl wurde berechnet als die Anzahl der in den Produktbeutel gesammelten CD34+ Zellen, geteilt durch die Gesamtzahl der CD34+ Zellen, die durch die Apheresemaschine prozessiert wurden:

- Effizienz CD34+ Zellen = ((CD34+Zellen/µl im Apheresat) x (Apheresat Volumen in ml)) / ((CD34+Zellen/µl im PB vor Apherese) x (Prozessiertes Blutvolumen in ml)

Erythrozyten-Gehalt im Apheresat:

Die Erythrozyten-Kontamination des Apheresats wurde mit der folgenden Formel berechnet:

- ((Hämatokrit (Hkt %) im Apheresat/100) x Apheresat Volumen in ml) / kg KG

Apheresat Volumen bezogen auf das Körpergewicht des Patienten:

Es wurde das Verhältnis zwischen Apheresat-Volumen und Körpergewicht berechnet

- Apheresat Volumen in ml/ kg KG

Dauer der Stammzellapherese

Bei den gesamten 26 Stammzellapheresen wurde die Zeit in Minuten erfasst.

Nebenwirkungen/Komplikationen

Mögliche Nebenwirkungen und/oder technische Komplikationen wurden auf den Aphereseprotokollen systematisch erfasst.

Sterilität

Die Sterilitätskontrolle wurde nach jeder Stammzellapherese mit dem mikrobiologischen Endbefund bezüglich aerob und anaerob wachsenden Bakterien aus dem Stammzellapheresat schriftlich dokumentiert.

3.2 Indikationsgruppe II: Extrakorporale Photopheresen (ECP)

Insgesamt wurden die Patienten- sowie die Prozess-Daten von 334 extrakorporalen Photopheresen in einer Datenbank erfasst und analysiert. Davon wurden 63 Photopheresen mit dem System ‚Spectra Optia' und 271 Photopheresen mit dem System ‚Cobe Spectra' durchgeführt.

Das Gesamtkollektiv der Patienten, die eine extrakorporale Photopherese mit dem neuen oder mit dem alten System erhielten war derart heterogen, so dass, das 'Spectra Optia' Photopheresen-Verfahren nicht optimal mit dem 'Cobe Spectra' Photopheresen-Verfahren verglichen werden konnten.

Um eine bessere Homogenität beim Vergleich der Apheresemethoden zu erreichen, wurden 2 individuelle Patienten, bei denen extrakorporale Photopheresen mit beiden Apherese-Systemen durchgeführt worden sind, zur weiteren Untersuchung ausgewählt. Ein dritter Patient, welcher ebenfalls Photopheresen mit dem 'Spectra Optia'- und 'Cobe Spectra'-System erhielt wurde von der weiteren

Untersuchung ausgenommen, da nur 2 von insgesamt 24 Photopheresen mit dem 'Cobe Spectra' System durchgeführt worden sind.

3.2.1 *Klinische Patientencharakteristika*

Es wurden Daten von insgesamt 15 verschiedenen Patienten erfasst. Deren Geschlecht, Alter, Gewicht und Diagnose wird nachfolgend beschrieben.

Geschlecht/Alter/Gewicht:

In dem Gesamtkollektiv der 15 eingeschlossenen Patienten bei 334 analysierten extrakorporalen Photopheresen fanden sich insgesamt 10 männliche und 5 weibliche Individuen. 8 Jungen und 3 Mädchen erhielten eine Photopherese mittels des 'Cobe Spectra'-, 1 Junge erhielt eine Photopherese mittels des 'Spectra Optia'- Systems. Bei drei Patienten, -dabei 1 Junge und 2 Mädchen- wurden Photopheresen mit beiden Apheresesysteme durchgeführt.

Das Alter der Patienten zur Beginn der Behandlung variierte zwischen 3 $^{5/12}$ Jahr und 11 $^{6/12}$ Jahre bei Verfahren mittels des 'Spectra Optia' Systems, und zwischen 1 $^{10/12}$ Jahr und 16 $^{11/12}$ Jahre bei Verfahren mittels des 'Cobe Spectra' Systems.

Das Gewicht der 15 Patienten zur Beginn der Behandlung variierte bei den 'Spectra Optia'-Verfahren zwischen 11,4 und 34,4 kg, bei den 'Cobe Spectra'-Verfahren zwischen 10 kg und 55,9 kg.

Diagnose:

Alle 15 Patienten erhielten eine Behandlung mittels extrakorporalen Photopherese aufgrund einer akuten oder chronischen therapierefraktären GvHD. Die Grunderkrankung, die eine Stammzelltransplantation zur Folge hat, war in 6 Fällen eine Leukämie (n=6), in 3 Fällen eine Hämoglobinopathie (n=3), in 2 Fällen ein myelodysplastisches Syndrom (n=2), in 2 Fällen eine hämophagozystische Lymphohistiozytose (n=2), und in jeweils 1 Fall ein Neuroblastom Stadium IV (n=1) sowie eine schwere aplastische Anämie (SAA) (n=1).

Nachfolgende werden die klinischen Charakteristika der 15 Patienten der analysierten Photopherese-Verfahren zunächst zusammenfassend in einer Tabelle wiedergegeben (Tabelle 2).

Apheresesystem	**Spectra Optia**	**Cobe Spectra**
Photopheresenzahl [n]	63	271
Patientenzahl [n]	4	14
davon Patienten mit beiden Apheresesystemen	3	
Geschlecht [n] Männlich Weiblich	 2 2	 9 5
Grunderkrankung [n] Leukämie HLH MDS SAA Hämoglobinopathie NBL IV	 1 1 1 0 0 1	 6 2 2 1 3 0
Alter [Jahre] Minimum Maximum	 3,4 11,5	 1,8 16,9
Gewicht [kg] Minimum Maximum	 11,4 34,4	 10,0 55,9
Photopheresen pro Patient [n] <10 10-50 >50	 0 4 0	 5 7 2

Tabelle 2: Klinische Charakteristika der 15 Patienten bei denen die analysierten 334 extrakorporale Photopheresen mittels des 'Cobe Spectra' und des 'Spectra Optia'-Systems durchgeführt wurden.
Dargestellt werden folgende Patienten-Daten: Geschlecht, Alter, Gewicht, Diagnose und Zahl der Photopheresen pro Patient. Die Daten sind separat für das Verfahren mit dem 'Cobe Spectra'- und 'Spectra Optia'-System dargestellt.

Erster individueller Patient, bei dem ECP mit beiden Apheresemaschinen durchgeführt wurden

Dabei handelte es sich um eine weibliche Patientin, die nach einer allogen-unverwandten Stammzelltransplantation aufgrund einer juvenilen myelomonozytären Leukämie (JMML) eine therapierefraktäre chronische Haut- und Leber- GvHD entwickelt hat und daraufhin die Indikation zur Behandlung mit extrakorporalen Photopheresen gestellt wurde. Diese Patientin bekam insgesamt 67 extrakorporale Photopheresen, 51 davon mit dem 'Cobe Spectra'- und 16 davon mit dem 'Spectra Optia'-System, in einem gesamten Zeitraum von 1 Jahr und 7 Monate. Das Alter der Patientin betrug zur Beginn der Behandlung 2 Jahre und 5 Monate, das minimale Körpergewicht betrug 10 kg, das maximale 13,6 kg.

Aufgrund des niedrigen Körpergewichtes der Patientin wurde vor Beginn jeder extrakorporalen Photopherese, sowohl bei 'Cobe Spectra'- als auch bei 'Spectra Optia'- Verfahren die Apheresemaschine mit einem Erythrozytenkonzentrat vorgefüllt.

Nachfolgende sind die klinische Charakteristika des ersten individuellen Patienten zusammenfassend in einer Tabelle wiedergegeben (Tabelle 3).

Apheresesystem	**Spectra Optia**	**Cobe Spectra**
Photopheresenzahl [n]	16	51
Geschlecht	weiblich	
Alter [Jahre]	2,4	
Gewicht [kg]	10-13,6	
Indikation	chronische Haut und Leber GvHD nach KMT bei JMML	

Tabelle 3: Klinische Charakteristika des Patienten 1, bei dem extrakorporalen Photopheresen mittels beiden Verfahren durchgeführt wurden.
Dargestellt werden folgende Patienten-Daten: Geschlecht, Alter, Gewicht, Indikation und Zahl der Photopheresen.

Zweiter individueller Patient, bei dem ECP mit beiden Apheresemaschinen durchgeführt wurden

Es handelte sich um einen männlichen Patient mit einer therapie-refraktären, chronischen Darm-GvHD nach allogen-unverwandter Stammzelltransplantation bei myelodysplastischem Syndrom (MDS). Dieser Patient erhielt insgesamt 39 extrakorporale Photopheresen, 25 davon mit dem 'Cobe Spectra'- und 14 mit dem 'Spectra Optia'-System. Der gesamte Behandlungszeitraum betrug 6 Monate. Der Patient war zur Beginn der Behandlung 11 Jahre alt; das minimale Körpergewicht betrug 30,3 kg, das maximale 34,6 kg.

Nachfolgende sind die klinische Charakteristika des Patienten 2 zusammenfassend in einer Tabelle wiedergegeben (Tabelle 4).

Apheresesystem	**Spectra Optia**	**Cobe Spectra**
Photopheresenzahl [n]	14	25
Geschlecht	männlich	
Alter [Jahre]	11	
Gewicht [kg]	30,3-34,6	
Indikation	chronische Darm GvHD nach KMT bei MDS	

Tabelle 4: Klinische Charakteristika des Patienten 2, bei dem extrakorporalen Photopheresen mittels beiden Verfahren durchgeführt wurden.
Dargestellt werden folgende Patienten-Daten: Geschlecht, Alter, Gewicht, Indikation und Zahl der Photopheresen.

3.2.2 *Apherese**prozedurdaten***

Von allen Photopherese-Prozeduren wurden folgende Parameter in einer Datenbank erfasst und in der Folge analysiert:

- Patienten-Blutbild-Werte vor und nach Separation, um Hämoglobin- und Thrombozyten-Verlust, bzw. deren Differenz, zu untersuchen
- MNC Zellen/µl im peripheren Blutbild vor Separation
- MNC Zellen/µl im Apheresat
- WBC Zellen/µl im Apheresat
- Hämatokrit (Hkt) im Apheresat
- Volumen des Apheresats
- prozessiertes Blutvolumen während der Apherese
- Dauer der Apherese
- unerwünschte Nebenwirkungen und/oder Komplikationen
- Sterilitätskontrolle des Apheresats

Folgende Zielparameter wurden anschließend aus diesen erfassten Apherese-Prozedurdaten berechnet und zwischen den ‚Spectra Optia' und ‚Cobe Spectra' Verfahren verglichen:

Hämoglobin (Hb) Differenz sowie Thrombozyten (PLT) Differenz vor und nach Separation und Transfusionspflichtigkeit:

Es wurden die absolute und prozentuale Hämoglobin Differenz sowie absolute und prozentuale Thrombozytenzahl-Differenz berechnet, zusätzlich wurde geprüft ob die Patienten am Ende des Photopherese-Verfahrens aufgrund eines Erythrozyten oder Thrombozyten Verlustes transfusionspflichtig wurden. (angewandte Formel: s. Abschnitt 3.1.2)

Sammeleffizienz bezüglich der MNC-Zellzahl:

Die Sammeleffizienz bezogen auf die mononukleäre Zellen wurde berechnet als die Anzahl der in den Produktbeutel gesammelten MNC-Zellen, geteilt durch die Gesamtzahl der MNC-Zellen, die durch die Apherese-Maschine prozessiert wurden:

- Effizienz MNC = ((MNC % im Photopheresat) x (Photopheresat Volumen in ml)) / ((MNC % im PB vor Photopherese) x (Einlassvolumen in ml)

Sammeleffizienz bezüglich der Leukozytenzellzahl:

Nach dem gleichen Prinzip wie bei der Sammeleffizienz bezogen auf die MNC-Zellen wurde die Sammeleffizienz bezogen auf Leukozyten berechnet:

- Effizienz WBC = ((WBC x 10^3/µl im Photopheresat) x (Photopheresat Volumen in ml)) / ((WBC x 10^6/ml im PB vor Photopherese) x (Einlassvolumen in ml)

Erythrozyten-Gehalt im Photopheresat:

Die Erythrozyten-Kontamination des Photopheresat-Endproduktes wurde mit der folgenden Formel berechnet:

- ((Hämatokrit (Hkt %) im Photopheresat/100) x Photopheresat Volumen in ml) / kg KG

Apheresat Volumen bezogen auf kg KG:

Es wurde das Verhältnis zwischen Photopheresat-Volumen und Patienten-Körpergewicht berechnet:

- Photopheresat Volumen in ml/ kg KG

Dauer der extrakorporalen Photopherese

Bei allen extrakorporalen Photopheresen wurde die Zeit in Minuten erfasst.

Nebenwirkungen/Komplikationen

Mögliche Nebenwirkungen und/oder technische Komplikationen wurden auf den Photopherese-Protokollen systematisch erfasst.

Sterilität

Die Sterilitätskontrolle wurde nach jeder Photopherese mit dem mikrobiologischen Endbefund bezüglich aerob und anaerob wachsenden Bakterien aus dem Photopheresat schriftlich dokumentiert.

3.3 Methodik der statistischen Analyse

Mit Hilfe des Excel-Programms wurde zunächst eine Datenbank erstellt. Die Patienten- und Prozedur-Daten des 'Spectra Optia' Verfahrens wurden aus den Primärdaten der Apherese gesammelt und in die Datenbank eingegeben. Die Daten des 'Cobe Spectra' Verfahrens wurden von einer bereits existierenden Excel-Datenbank übertragen. Das Excel-Programm wurde ebenfalls für die statistische Auswertung der Daten verwendet.

Nach Übertragung der Daten in das SPSS-Programm ergab es sich mittels des Shapiro-Wilk-Tests kein Hinweis auf eine nicht normale Verteilung der analysierten Parameter, so dass für alle analysierten Parameter t-tests mit Hilfe des Excel-Programms durchgeführt werden konnten.

Stammzellpaheresen

Wie im Abschnitt 3.1 beschrieben, wurden für die Aphereseprozeduren mit dem „Spectra Optia"-Verfahren solche Vergleich-Prozeduren mit dem „Cobe Spectra"-Verfahren identifiziert, die bezüglich des Patienten-Körpergewichtes, der CD34-Progenitorzell-Konzentration im Blut sowie der Leukozyten-Konzentration im Blut bestmöglich vergleichbar waren (*matched-pair* Analyse).

Für alle 8 analysierten Prozedurdaten wurden arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet, die jeweils als Lage- und Abweichungs-Parameter verwendet wurden. Die Parametermittelwerte wurden statistisch, unter Verwendung eines zweiseitigen t-Tests für zwei gepaarte Stichproben verglichen.

Extrakorporale Photopheresen

Für alle Prozedurdaten der gesamten Kohorte mit 63 'Spectra Optia'- und 271 'Cobe Spectra' Photopherese-Verfahren (Abschnitt 3.2) wurden die arithmetische Mittelwerte und die Standardabweichungen berechnet und als Lage- und Abweichungsparameter verwendet. Die

Parametermittelwerte wurden statistisch unter Verwendung eines zweiseitigen t-Tests für zwei nicht gepaarte Stichproben verglichen.

Zusätzlich wurden für zwei individuelle Patienten, bei denen extrakorporale Photopheresen mit beiden Apheresemaschinen durchgeführt worden waren, die Parametermittelwerte unter Verwendung eines zweiseitigen t-Tests für zwei nicht gepaarte Stichproben verglichen.

4 Ergebnisse

Im Ergebnisteil werden die beim Vergleich der beiden Apherese-Systeme 'Spectra Optia' und 'Cobe Spectra' erzielten Prozessergebnisse getrennt für den Einsatz der Zytapherese zur Gewinnung autologer hämatopoetischer Stammzellen (Abschnitt 4.1) und als initialer Schritt der Zellgewinnung im Rahmen der extrakorporalen Photopherese (Abschnitt 4.2) dargestellt.

4.1 Stammzellapheresen

Den ersten dreizehn mit dem neuartigen Apheresesystem „Spectra Optia“ durchgeführten autologen Stammzellapheresen wurden dreizehn Stammzellapheresen mit dem konventionellen System „Cobe Spectra“ gegenübergestellt, die nach den in Abschnitt 3.1 aufgeführten Kriterien aus insgesamt 90 Apherese-Prozessen ausgewählt wurden, um möglichst gleichartige Ausgangsbedingungen für die Apherese zu erreichen und damit Patienten-bedingte Einflussfaktoren zu minimieren.

Nachfolgende werden die beim Vergleich der Prozessparameter der beiden Aphereseverfahren erzielten Ergebnisse zunächst zusammenfassend in einer Tabelle wiedergegeben (Tabelle 5).

	Spectra Optia (n=13)	**Cobe Spectra** (n=13)	
Prozessparameter	**Mittelwert**	**Mittelwert**	**p-*value***
CD34-Sammeleffizienz (%)	66	61	0,68
Erythrozyten-Gehalt im Apheresat (ml/kg KG)	0,29	0,35	0,09
Produkt-Volumen (ml/kg KG)	5,46	4,47	0,06
Dauer der Apherese (min)	211,9	213,9	0,78
Hämoglobin-Verlust (g/dl)	0,20	0,42	0,24
Hämoglobin-Verlust (%)	2	4	0,28
Thrombozyten-Verlust (x10^3/µl)	72,9	71,5	0,94
Thrombozyten-Verlust (%)	34	41	0,09

Tabelle 5: Vergleich der Prozessparameter zwischen dem „Spectra Optia“- und „Cobe Spectra“-Verfahren im Rahmen der Stammzellapherese
Dargestellt werden die Mittelwerte der Prozessparameter von jeweils 13 Apheresen sowie der p-Wert des Vergleichs mittels eines zweiseitigen t-tests.

Insgesamt wurden beim Vergleich der Prozessparameter der beiden Aphereseverfahren keine statistisch signifikanten Unterschiede beobachtet (Tabelle 5). Bezüglich des Erythrozyten-Gehalts im Apheresat, des Aphereseprodukt-Volumens sowie des prozentualen Thrombozyten-Verlustes im Patientenblut ergaben sich mit p-Werten <0,1 jedoch Trends. Die Ergebnisse für die einzelnen Prozessparameter inkl. der Streumasse werden nachfolgend detailliert wiedergegeben.

Effizienz der Apherese bezüglich der Gewinnung von CD34+ Zellen im Apheresat und der Erythrozyten-Kontamination des Apheresats

Beide Apherese-Systeme zeigten mit über 60% eine hohe Effizienz der Sammlung CD34-positiver hämatopoetischer Progenitorzellen als wichtigstes Leistungsmerkmal einer autologen Stammzellapherese. Statistisch zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen dem 'Spectra Optia'- und 'Cobe Spectra'-Apheresesystem (Abb. 4.1)

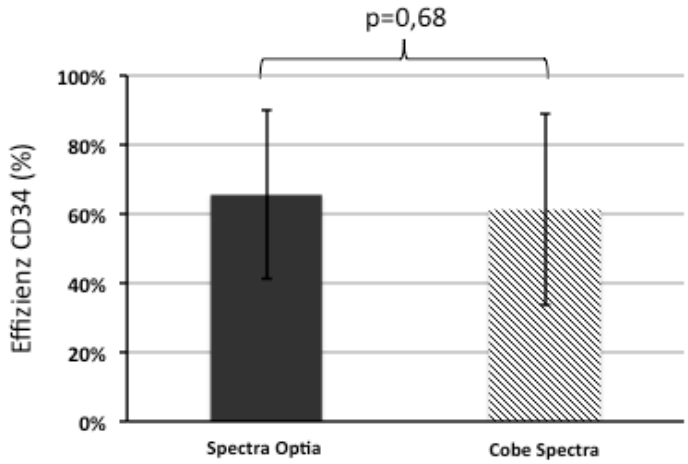


Abb. 4.1: Vergleich der Effizienz der Gewinnung von CD34-Zellen zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren
Dargestellt wird der Mittelwert von jeweils 13 Aphereseläufen, die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

Der Erythrozyten-Gehalt des Apherese-Endpräparates war im Trend bei Apheresen mit dem 'Spectra Optia'-Verfahren geringer als bei Apheresen mit dem 'Cobe Spectra'-Verfahren, allerdings zeigte sich keine statistisch signifikante Differenz (Abb. 4.2).

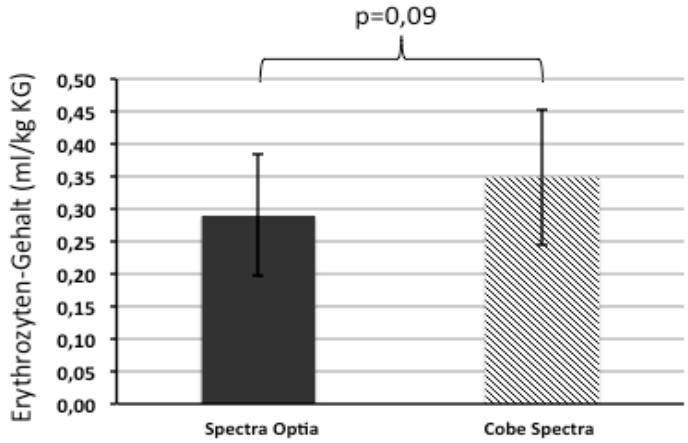


Abb. 4.2: Vergleich des Erythrozyten-Gehalts im Apheresat (ml/kg KG) zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren
Dargestellt wird der Mittelwert von jeweils 13 Aphereseläufen, die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

Apheresat-Volumen (ml/kg KG) und Dauer der Apherese (min)

Das Volumen des Apheresates bezogen auf das Gewicht des Patienten zeigte sich bei Apheresen mit dem „Cobe Spectra“-Verfahren im Trend geringer als bei Apheresen mit dem „Spectra Optia“-Verfahren. Mit einem p-Wert von 0,06 wurde das Signifikanzniveau nur minimal verfehlt (Abb. 4.3).

Die Stammzellapheresen sowohl mit dem 'Spectra Optia'- als auch mit dem 'Cobe Spectra'-System dauerten im Mittel ca. 3 1/2 Stunden, eine statistisch signifikante Differenz der beiden Apherese-Verfahren bezüglich der Apheresedauer wurde somit nicht beobachtet (Abb. 4.4).

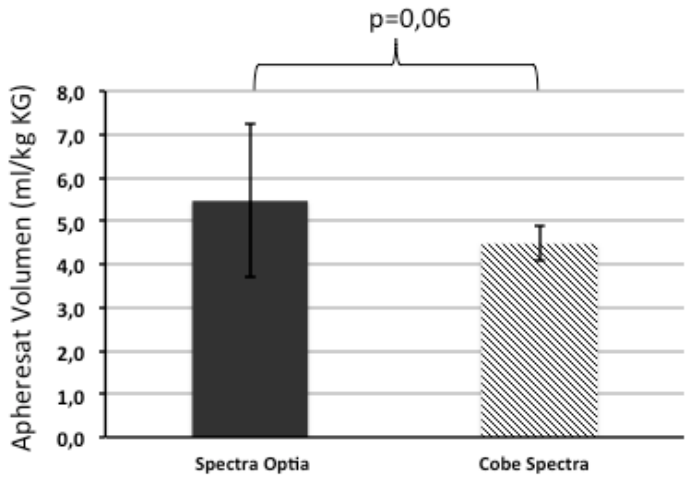


Abb. 4.3: Vergleich des Apheresat-Volumens bezogen auf das Gewicht des Patienten (ml/kg KG) zwischen dem „Spectra Optia“- und „Cobe Spectra“-Verfahren
Dargestellt wird der Mittelwert von jeweils 13 Aphereseläufen, die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

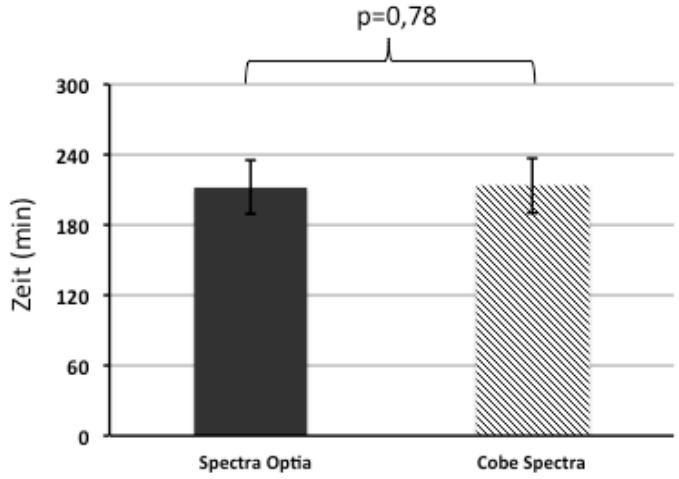


Abb. 4.4: Vergleich der Apherese-Dauer zwischen dem „Spectra Optia“- und „Cobe Spectra“-Verfahren
Dargestellt wird der Mittelwert von jeweils 13 Aphereseläufen, die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

Hämoglobin (Hb) Verlust, Thrombozyten (PLT) Verlust und Transfusionspflichtigkeit

Sowohl bei Apheresen mit dem 'Spectra Optia'- als auch dem 'Cobe Spectra'-Verfahren kam es nach Ende des Apherese-Verfahrens zu einem Hämoglobin- und Thrombozyten-Abfall. Allerdings zeigte sich - bei erheblicher Streuung der Werte - weder bezüglich des absoluten noch des prozentualen Abfalls der Hämoglobin- und Thrombozytenwerte ein statistisch signifikanter Unterschied der beiden Apheresesysteme (Abb. 4.5). Allerdings wurde im Trend ein niedrigerer Thrombozyten-Verlust mit dem „Spectra Optia"-Verfahren verzeichnet (Abb. 4.5d).

Bei keinem der beiden Verfahren kam es nach der Apherese zur Notwendigkeit der Transfusion eines Erythrozyten- oder Thrombozyten-Konzentrates.

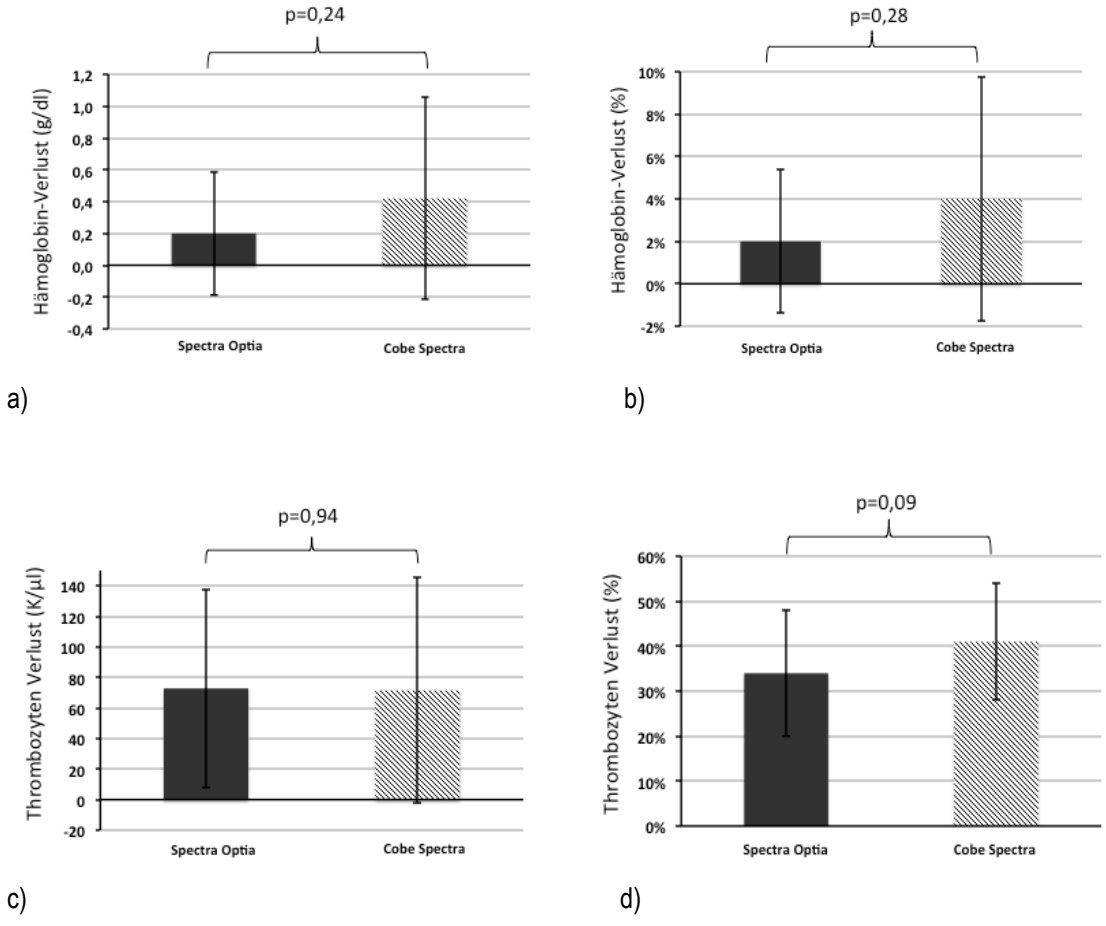


Abb. 4.5: Vergleich a) des absoluten Hämoglobin-Verlustes (g/dl), b) des prozentualen Hämoglobin-Verlustes(%), c) des absoluten Thrombozyten-Verlustes (K/µl) und d) des prozentualen Thrombozyten-Verlustes (%) zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren
Dargestellt wird der Mittelwert von jeweils 13 Aphereseläufen, die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

Nebenwirkungen, technische Komplikationen

Klinisch relevante Nebenwirkungen wurden bei keiner der 26 analysierten Stammzellapheresen beobachtet. Insbesondere traten weder bei Apheresen mit dem 'Spectra Optia'- noch mit dem 'Cobe Spectra'-Verfahren Symptome wie Kreislaufinstabilität des Patienten durch Blutvolumen-Verschiebung, Hypokalziämie oder andere nennenswerte Elektrolyten-Veränderungen auf. Technische Komplikationen waren ebenfalls nicht zu beobachten.

Bakterielle Kontamination

Zum Ausschluss einer bakteriellen Kontamination wurde von jedem Apheresat eine Probe zur mikrobiologischen Untersuchung entnommen. Diese ergab bei keiner der 26 durchgeführten Apheresen ein positives Ergebnis für aerob oder anaerob wachsende Bakterien.

4.2 Extrakorporale Photopheresen

Um die Leistungsfähigkeit der beiden Apheresesysteme 'Spectra Optia' und 'Cobe Spectra' miteinander zu vergleichen wurden zunächst die Prozessergebnisse aller insgesamt 334 Photopherese-Verfahren miteinander verglichen. Davon 63 wurden mit dem 'Spectra Optia'- und 271 mit dem 'Cobe Spectra'-System durchgeführt (Abschnitt 4.2.1). Um potentielle Patienten-bedingte Einflussfaktoren zu minimieren wurden anschließend zwei zusätzliche Analysen der Zytapherese zur Photopherese-Behandlung bei individuellen Patienten durchgeführt, bei denen beiden Aphereseverfahren zum Einsatz kamen (Abschnitt 4.2.2).

4.2.1 *Vergleich der Apherese-Plattformen in der Gesamtgruppe aller Patienten*

Nachfolgende werden die beim Vergleich der Prozessparameter der beiden Photopherese-Verfahren erzielten Ergebnisse zunächst zusammenfassend in einer Tabelle dargestellt.

	Spectra Optia (n=63)	**Cobe Spectra** (n=271)	
Prozessparameter	**Mittelwert**	**Mittelwert**	**p-*value***
WBC-Sammeleffizienz (%)	18	17	0,64
MNC-Sammeleffizienz (%)	36	36	0,90
Produkt-Volumen (ml/kg KG)	2,01	2,43	**<0,01**
Dauer der extrakorporalen Photopherese (min)	106,6	119,2	**<0,01**
Hämoglobin-Verlust (g/dl)	0,47	0,67	0,1
Hämoglobin-Verlust (%)	5	6	0,23
Thrombozyten-Verlust (x10^3/µl)	67,4	45,5	**<0,01**
Thrombozyten-Verlust (%)	30	24	**<0,01**

Tabelle 6: Vergleich der Prozessparameter zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren im Rahmen der extrakorporalen Photopherese.
Dargestellt werden die Mittelwerte der Prozessparameter von jeweils 63 extrakorporale Photopheresen mit dem 'Spectra Optia'- und 271 extrakorporale Photopheresen mit dem 'Cobe Spectra'- Verfahren, sowie der p-Wert des Vergleichs mittels eines zweiseitigen t-tests.

Beim Vergleich der Prozessparameter der beiden extrakorporalen Photopherese-Verfahren wurden bezüglich des Photopheresat-Volumens, der Dauer der Photopherese sowie des sowohl absoluten als auch prozentualen Thrombozyten-Verlustes statistisch signifikanten Unterschiede beobachtet (Tabelle 6). Bezüglich der übrigen Prozessparameter ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Nachfolgend werden die Ergebnisse für die einzelnen Prozessparameter inkl. der Streumasse detailliert dargestellt.

Effizienz der extrakorporalen Photopherese bezüglich der Gewinnung von Leukozyten (WBC) und mononukleären Zellen (MNC) im Apheresat

Beide Photopherese-Systeme zeigen mit 18% für das 'Spectra Optia' Verfahren und 17% für das 'Cobe Spectra' Verfahren eine fast gleiche Sammeleffizienz bezüglich der Gewinnung von Leukozyten im Apheresat. Damit zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen dem 'Spectra Optia'- und 'Cobe Spectra'-Verfahren. Hier ist zu erwähnen dass die Standardabweichung und damit die Streuung der Sammeleffizienz bezüglich der Leukozyten-Gewinnung beim 'Spectra Optia'- Verfahren deutlich größer war als diese beim 'Cobe Spectra'-Verfahren (Abb. 4.6).

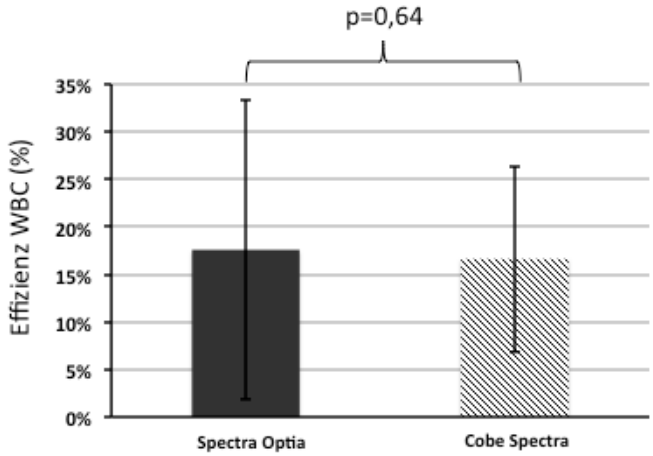


Abb. 4.6: Vergleich der Effizienz der Gewinnung von Leukozyten im Photopheresat zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren
Dargestellt wird der Mittelwert von 63 Photophereseläufen mit dem 'Spectra Optia'- und 271 Photophereseläufen mit dem Cobe Spectra'-Verfahren. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

Ebenfalls zeigte sich mit 36% eine nahezu identische Sammeleffizienz zwischen dem 'Spectra Optia' und dem 'Cobe Spectra' Verfahren bezüglich der Gewinnung von mononukleären Zellen im Apheresat (Abb. 4.7)

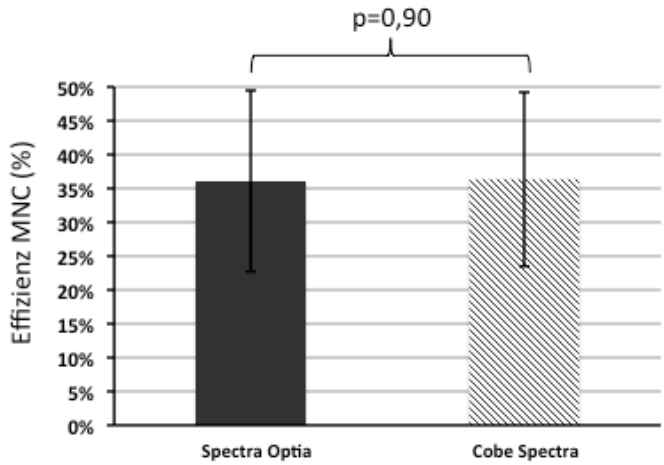


Abb. 4.7: Vergleich der Effizienz der Gewinnung von mononukleären Zellen im Photopheresat zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren
Dargestellt wird der Mittelwert von 63 Photophereseläufen mit dem 'Spectra Optia'- und 271 Photophereseläufen mit dem Cobe Spectra'-Verfahren. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

Apheresat Volumen (ml/kg KG) und Dauer der extrakorporalen Photopherese (min)

Das Volumen des Leukozytenapheresates bezogen auf das Körpergewicht des Patienten war nach einer extrakorporalen Photopherese mittels 'Spectra Optia'-Verfahren im Mittel 0,42 ml/kg KG geringer als dieses mittels 'Cobe Spectra'-Verfahren. Hier ergab sich mit einem p-Wert <0,01 eine statistisch signifikante Differenz zwischen der beiden Apheresesysteme (Abb. 4.8).

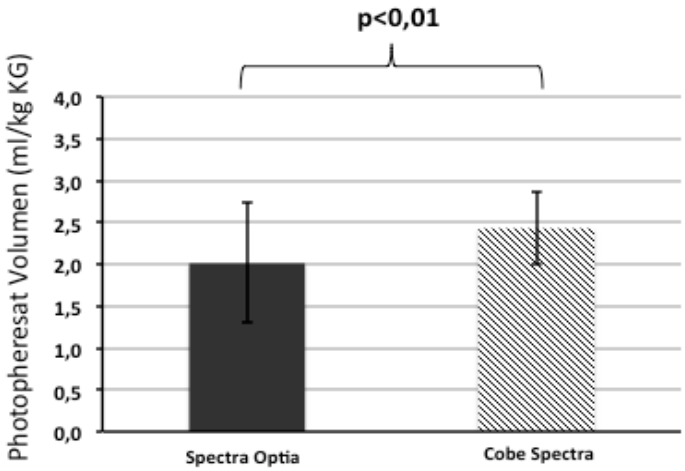


Abb. 4.8: **Vergleich des Photopheresat-Volumens bezogen auf das Gewicht des Patienten (ml/kg KG) zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren**
Dargestellt wird der Mittelwert von 63 Photophereseläufen mit dem 'Spectra Optia'- und 271 Photophereseläufen mit dem 'Cobe Spectra'-Verfahren. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

Der Mittelwert der Dauer einer extrakorporalen Photopherese mit dem 'Spectra Optia'-Verfahren betrug 107 Minuten, im Gegensatz zu dem vom 'Cobe Spectra'-Verfahren der 119 Minuten betrug. Damit dauert eine Photopherese mit dem 'Cobe Spectra' System im Mittel ca. 12 Minuten länger. Damit zeigte sich mit einem p-Wert <0,01 eine statistisch signifikante Differenz zwischen den beiden Photopherese-Verfahren (Abb. 4.9).

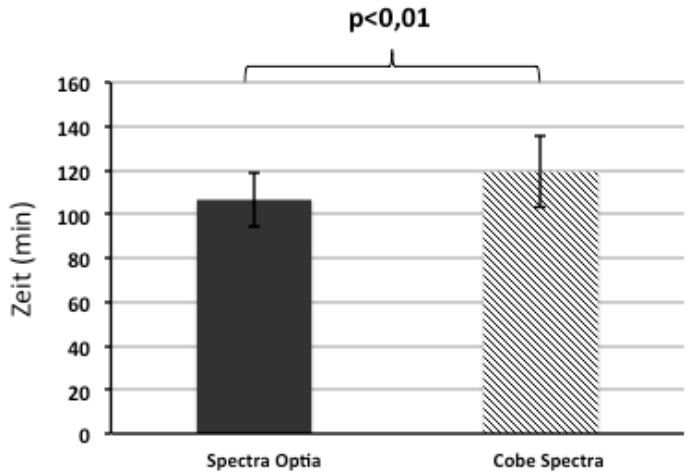


Abb. 4.9: Vergleich der Dauer einer extrakorporalen Photopherese zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren
Dargestellt wird der Mittelwert von 63 Photophereseläufen mit dem 'Spectra Optia'- und 271 Photophereseläufen mit dem 'Cobe Spectra'-Verfahren. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

Hämoglobin (Hb) Verlust, Thrombozyten (PLT) Verlust und Transfusionspflichtigkeit

Sowohl bei der extrakorporalen Photopheresen mit dem 'Spectra Optia'-Verfahren als auch dem 'Cobe Spectra'-Verfahren kam es nach Ende der Apherese zu einem Hämoglobin- und Thrombozyten-Verlust.

Bezüglich des absoluten und prozentualen Hämoglobin-Verlustes wurden keine statistisch signifikanten Differenzen zwischen den beiden Apheresesysteme beobachtet (Abb. 4.10a und 4.10b). Dabei zeigte sich eine große Standardabweichung und damit erhebliche Streuung der Ergebnisse.

Im Gegensatz zum Hämoglobin-Verlust zeigte sich mit einem p-Wert <0,01 eine statistisch signifikante Differenz bezüglich des absoluten und des prozentualen Thrombozyten-Verlustes mittels des 'Spectra Optia'- und des 'Cobe Spectra'-Verfahrens (Abb. 4.10c und 4.10d). Eine große Streubreite der Ergebnisse ist auch hier zu beobachten.

Bei insgesamt drei extrakorporalen Photopheresen kam es am Ende des Verfahrens zu einem Hämoglobin-Abfall < 7 g/dl so dass eine Transfusions-Pflichtigkeit für ein Erythrozyten-Konzentrat bestand (n=3). Von diesen drei extrakorporalen Photopheresen wurden zwei (n=2) mittels dem 'Cobe Spectra'- und eine (n=1) mittels dem 'Spectra Optia'-Verfahren durchgeführt.

Bei keinem der beiden Verfahren kam es nach Ende einer extrakorporalen Photopherese zur Notwendigkeit der Transfusion eines Thrombozyten-Konzentrates.

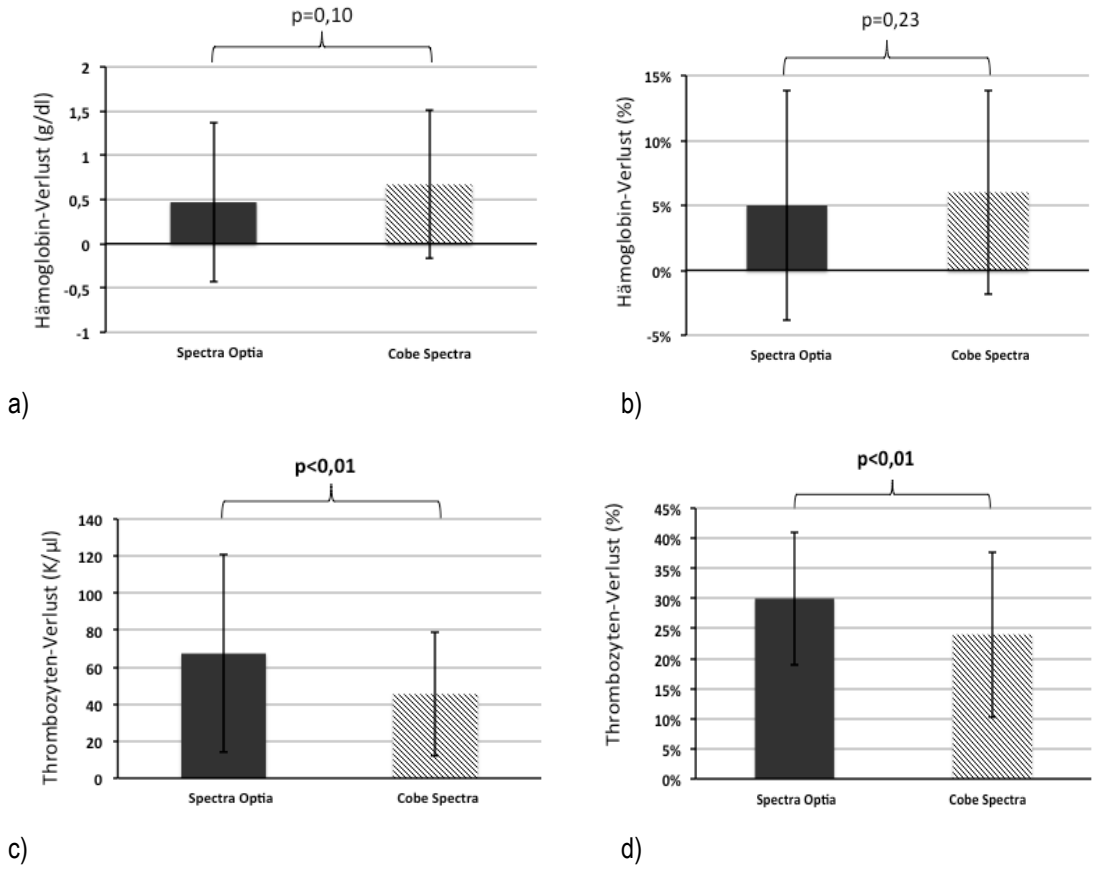


Abb. 4.10: Vergleich a) des absoluten Hämoglobin-Verlustes (g/dl), b) des prozentualen Hämoglobin-Verlustes(%), c) des absoluten Thrombozyten-Verlustes (K/µl) und d) des prozentualen Thrombozyten-Verlustes (%) zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren
Dargestellt wird der Mittelwert von 63 Photophereseläufen mit dem 'Spectra Optia'- und 271 Photophereseläufen mit dem 'Cobe Spectra'-Verfahren. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

Nebenwirkungen, technische Komplikationen

Klinisch relevante Nebenwirkungen wurden bei keiner der 334 analysierten extrakorporalen Photopheresen beobachtet: Kreislaufinstabilität des Patienten durch Blutvolumen-Verschiebung, Hypokalziämie oder andere nennenswerte Elektrolyten-Veränderungen traten weder bei extrakorporale Photopheresen mit dem 'Spectra Optia'- noch mit dem 'Cobe Spectra'-Verfahren auf. Technische Komplikationen waren ebenfalls nicht zu beobachten.

Bakterielle Kontamination

Zum Ausschluss einer bakteriellen Kontamination wurde von jedem Photopheresat sowohl am Ende des Verfahrens als auch nach der Verdünnung des Endproduktes jeweils eine Probe zur mikrobiologischen Untersuchung entnommen. Diese ergab bei keiner der 334 durchgeführten Apheresen ein positives Ergebnis für aerob oder anaerob wachsende Bakterien.

4.2.2 *Vergleich der Aphereseplattformen bei zwei individuellen Patienten*

Nachfolgend werden die Ergebnisse zusätzlicher Analysen der beiden Zytapherese-Verfahren zur Photopherese-Behandlung bei zwei individuellen Patienten dargestellt. Bei diesen Patienten kamen im Verlauf beide Aphereseplattformen - sowohl das 'Spectra Optia'- als auch das 'Cobe Spectra'-Verfahren -zum Einsatz. Hiermit wurde eine ideale Voraussetzung gegeben patienten-individuelle Einflussfaktoren zu minimieren und damit die im Abschnitt 4.2.1 beobachtete große Streubreite einiger Zielparameter zu reduzieren.

In der nachfolgenden Tabelle werden die beim Vergleich der Prozessparameter der beiden Photopherese-Verfahren erzielten Ergebnisse für die Analyse des Patienten 1 (nähere klinische Detail siehe Abschnitt 3.2.1) zusammenfassend dargestellt.

4.2.2.1 Patient 1

	Spectra Optia (n=16)	**Cobe Spectra** (n=51)	
Prozessparameter	**Mittelwert**	**Mittelwert**	**p-*value***
WBC-Sammeleffizienz (%)	11	9	0,09
MNC-Sammeleffizienz (%)	33	28	0,12
Erythrozyten-Gehalt im Photopheresat (ml/kg KG)	0,15	0,28	**<0,01**
Produkt-Volumen (ml/kg KG)	2,72	2,74	0,91
Dauer der Photopherese (min)	106,4	127,1	**<0,01**
Hämoglobin-Differenz (g/dl)	+ 0,14	- 0,19	0,07
Hämoglobin-Differenz (%)	+ 1,5	- 1,7	0,06
Thrombozyten-Verlust (x10^3/µl)	141,7	62,5	**<0,01**
Thrombozyten-Verlust (%)	36	23	**<0,01**

Tabelle 7: Vergleich der Prozessparameter zwischen dem „Spectra Optia“- und „Cobe Spectra“-Verfahren im Rahmen der extrakorporalen Photopherese bei Patient 1, bei dem extrakorporale Photopheresen mit beiden Verfahren durchgeführt wurden.
Dargestellt werden die Mittelwerte der Prozessparameter von jeweils 16 extrakorporale Photopheresen mit dem 'Spectra Optia'- und 51 extrakorporale Photopheresen mit dem 'Cobe Spectra'- Verfahren, sowie der p-Wert des Vergleichs mittels eines zweiseitigen t-tests.

Bei Patient 1 wurden bei folgenden Parameter statistisch signifikante Unterschiede beobachtet: Erythrozyten-Gehalt im Apheresat, Dauer der Photopherese sowie absoluter und prozentualer Thrombozyten Verlust (Tabelle 7). Beim Vergleich der übrigen Prozessparametern zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Nachfolgende werden die Ergebnisse für die einzelnen Prozessparameter inkl. der Streumasse detailliert dargestellt.

Effizienz der extrakorporalen Photopherese bezüglich der Gewinnung von Leukozyten (WBC) und mononukleären Zellen (MNC) im Apheresat

Die Sammeleffizienz der extrakorporalen Photopheresen bei Patient 1 bezüglich der Leukozyten-Gewinnung im Photopheresat lag mittels des 'Spectra Optia'-Verfahrens bei 11%, mittels des 'Cobe Spectra'-Verfahrens bei 9%. Bezüglich der Gewinnung von mononukleären Zellen im Apheresat betrug die Sammeleffizienz mit dem 'Spectra Optia'-Verfahren 33%, die mit dem 'Cobe Spectra'-Verfahren 28%.

Statistisch zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen dem 'Spectra Optia' und dem 'Cobe Spectra' Apheresesystem bezüglich der Gewinnung von Leukozyten und mononukleären Zellen und der damit verbundenen Sammeleffizienz. Bei einem p-Wert von 0,09 bzw. 0,12 ergaben sich jedoch schwache Trends zugunsten des 'Spectra Optia'-Verfahrens (Abb. 4.11 und 4.12).

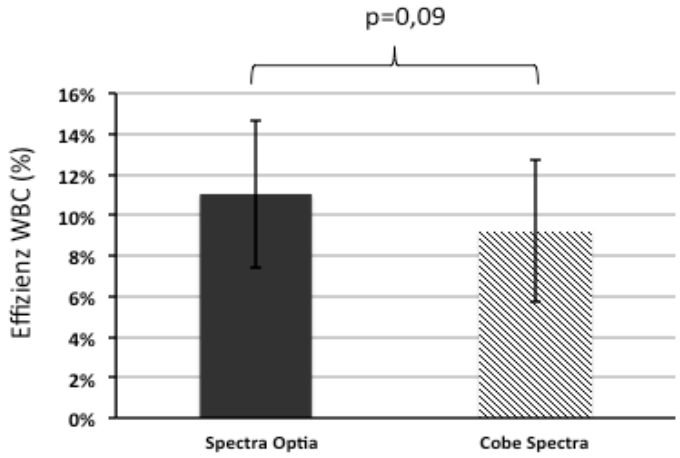


Abb. 4.11: **Vergleich der Effizienz der Gewinnung von Leukozyten im Photopheresat zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren bei Patient 1**
Dargestellt wird der Mittelwert von 16 Photophereseläufen mit dem 'Spectra Optia'- und 51 Photophereseläufen mit dem Cobe Spectra'-Verfahren. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

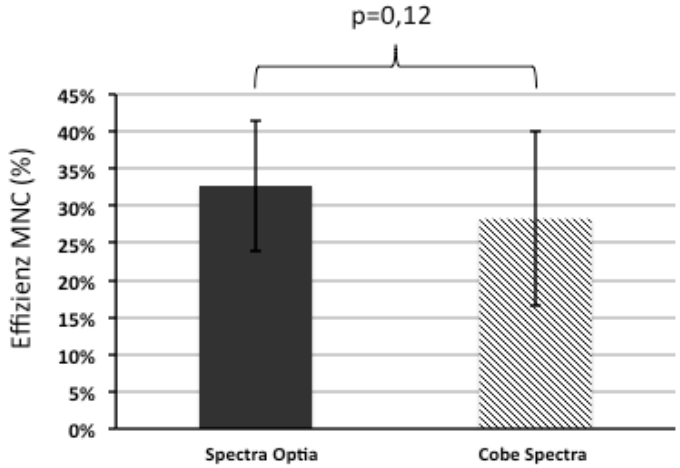


Abb. 4.12: Vergleich der Effizienz der Gewinnung von mononukleären Zellen im Photopheresat zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren bei Patient 1
Dargestellt wird der Mittelwert von 16 Photophereseläufen mit dem 'Spectra Optia'- und 51 Photophereseläufen mit dem Cobe Spectra'-Verfahren. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

Erythrozyten-Kontamination im Photopheresat (ml/kg KG)

Der Erythrozyten-Gehalt des Endpräparates der extrakorporalen Photopheresen beim Patienten 1 war mittels des 'Spectra Optia'-Verfahrens geringer als bei dem 'Cobe Spectra'-Verfahren. Hier konnte bei einem p-Wert <0,01 ein statistisch signifikanter Unterschied der beiden Apheresesysteme beobachtet werden (Abb. 4.13).

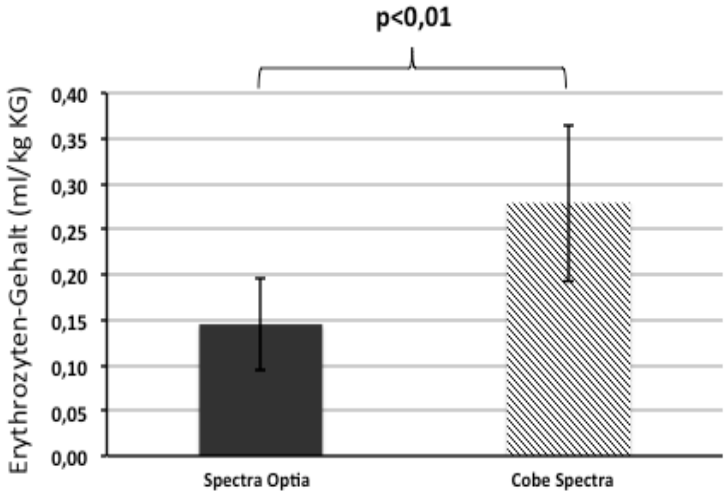


Abb. 4.13: Vergleich des Erythrozyten-Gehalts im Photopheresat (ml/kg KG) zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren bei Patient 1
Dargestellt wird der Mittelwert von jeweils 16 Photophereseläufen mit dem 'Spectra Optia'- und 51 Photophereseläufen mit dem Cobe Spectra'-Verfahren. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

Photopheresat-Volumen (ml/kg KG) und Dauer der extrakorporalen Photopherese (min)

Das Photopheresat-Volumen bezogen auf das Gewicht des Patienten 1 war sowohl bei dem 'Spectra Optia'- als auch bei dem 'Cobe Spectra'-Verfahren nahezu gleich, eine statistisch signifikante Differenz der beiden Aphereseverfahren war nicht zu beobachten. (Abb. 4.14)

Bezüglich der Dauer der extrakorporalen Photopheresen beim Patienten 1 waren die Verfahren mit dem 'Spectra Optia'-System im Mittel 20 Minuten kürzer als die mit dem 'Cobe Spectra'-System. Mit einem p-Wert <0,01 wurde hier das Signifikanzniveau erreicht und damit eine statistisch signifikante Differenz zwischen beiden Apheresesysteme beobachtet (Abb. 4.15).

In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen dass aufgrund des niedrigen Patienten-Gewichtes (<15 kg) das Aphersesystem zum Beginn der Zytapherese bei beiden Aphereseplattformen mit einem

Erythrozyten-Konzentrat vorgefüllt wurde. Die hierfür erforderliche Zeit wurde bei der Bestimmung der Gesamtzeit der Photopherese mit einbezogen.

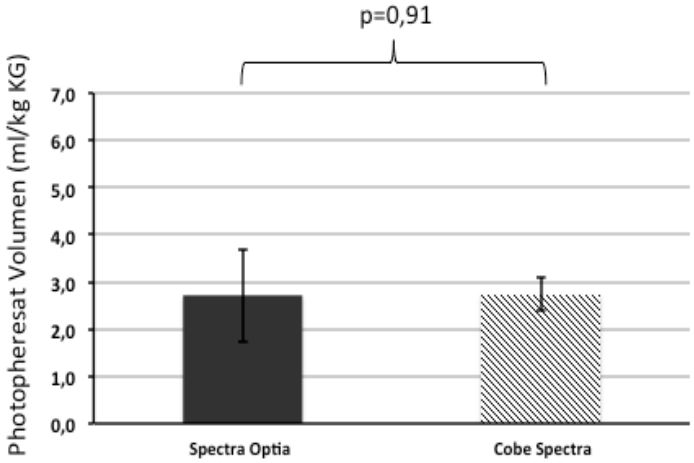


Abb. 4.14: Vergleich des Photopheresat-Volumens bezogen auf das Gewicht des Patienten 1 (ml/kg KG) zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren
Dargestellt wird der Mittelwert von 16 Photophereseläufen mit dem 'Spectra Optia'- und 51 Photophereseläufen mit dem 'Cobe Spectra'-Verfahren. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

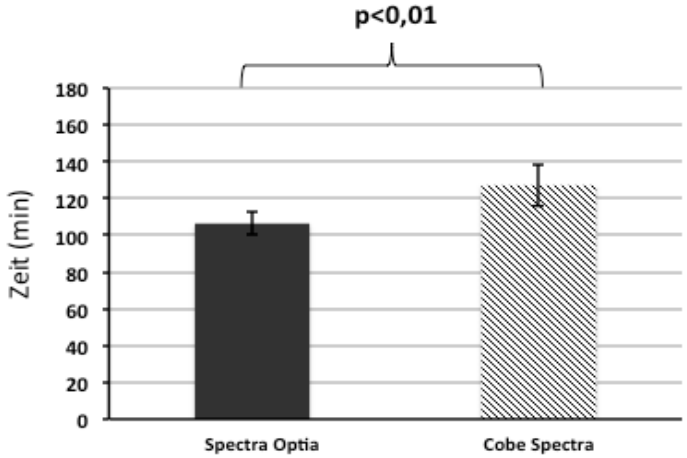


Abb. 4.15: Vergleich der Dauer einer extrakorporalen Photopherese bei Patient 1 zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren
Dargestellt wird der Mittelwert von 16 Photophereseläufen mit dem 'Spectra Optia'- und 51 Photophereseläufen mit dem 'Cobe Spectra'-Verfahren. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

Hämoglobin (Hb) Differenz, Thrombozyten (PLT) Verlust und Transfusionspflichtigkeit

Bei dem Patienten 1 kam es nach der extrakorporalen Photopheresen mittels dem 'Spectra Optia'-Verfahren im Mittel zu keinem Hämoglobin-Verlust, ein Hämoglobin-Verlust wurde allerdings mittels dem 'Cobe Spectra'-Verfahren bei diesem Patienten beobachtet. Mit einem p-Wert von 0,07 bezüglich des absoluten und 0,06 bezüglich des prozentualen Hämoglobin-Verlustes, wurde das Signifikanzniveau nur minimal verfehlt. Hierbei wurde trotz der patienten-individuellen Betrachtung eine große Streubreite der Ergebnisse beobachtet (Abb. 4.16a und 4.16b).

Bezüglich des Thrombozyten-Verlusts nach extrakorporalen Photopheresen beim Patienten 1 zeigte sich mit einem p-Wert <0,01 bei dem 'Spectra Optia“-Verfahren ein signifikant höherer Thromboyztenverlust als bei dem 'Cobe Spectra'-Verfahren, und zwar sowohl für den absoluten als auch für den prozentualen Thrombozyten-Verlust (Abb. 4.16c und 4.16d).

Bei keinem der beiden Verfahren kam es jedoch nach Ende der extrakorporalen Photopherese zur Notwendigkeit einer Erythrozyten- oder Thrombozyten-Transfusion.

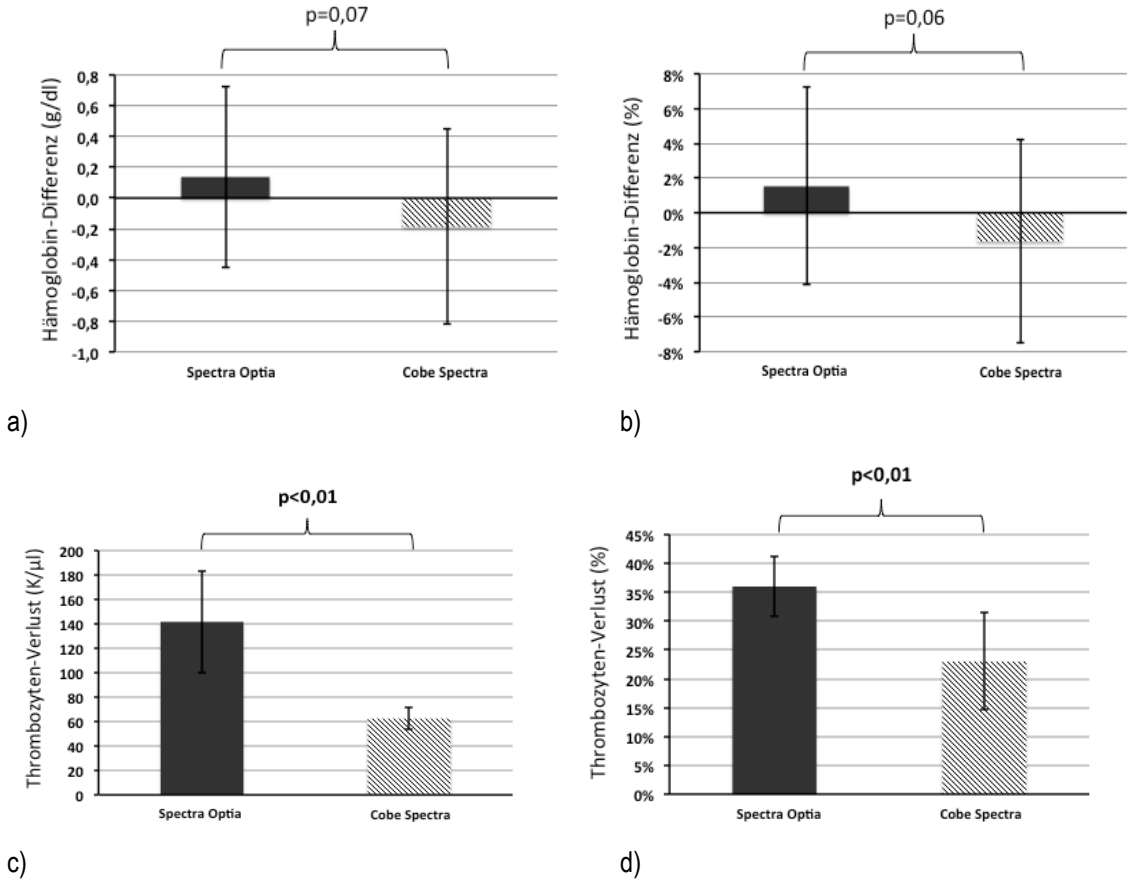


Abb. 4.16: Vergleich a) des absoluten Hämoglobin-Verlustes (g/dl), b) des prozentualen Hämoglobin-Verlustes(%), c) des absoluten Thrombozyten-Verlustes (K/µl) und d) des prozentualen Thrombozyten-Verlustes (%) zwischen dem „Spectra Optia“- und „Cobe Spectra“-Verfahren bei Patient 1
Dargestellt ist der Mittelwert von 16 Photophereseläufen mit dem 'Spectra Optia'- und 51 Photophereseläufen mit dem 'Cobe Spectra'-Verfahren. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

4.2.2.2 Patient 2

In der nachfolgenden Tabelle werden die beim Vergleich der Prozessparameter der beiden Photopherese-Verfahren erzielten Ergebnisse für die Analyse des Patienten 2 (nähere klinische Detail siehe Abschnitt 3.2.1) zusammenfassend dargestellt (Tabelle 8).

	Spectra Optia (n=14)	**Cobe Spectra** (n=25)	
Prozessdaten	**Mittelwert**	**Mittelwert**	**p-*value***
WBC-Sammeleffizienz (%)	43	35	0,08
MNC-Sammeleffizienz (%)	50	39	0,07
Erythrozyten-Gehalt im Photopheresat (ml/kg KG)	0,12	0,28	**<0,01**
Produkt-Volumen (ml/kg KG)	2,19	2,22	0,82
Dauer der Photopherese (min)	102,2	110,1	0,25
Hämoglobin-Verlust (g/dl)	0,4	0,5	0,90
Hämoglobin-Verlust (%)	4	4	0,98
Thrombozyten-Verlust (x10^3/µl)	24,9	20,3	0,43
Thrombozyten-Verlust (%)	24	22	0,67

Tabelle 8: Vergleich der Prozessparameter zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren im Rahmen der extrakorporalen Photopherese bei Patient 2, bei dem extrakorporale Photopheresen mit beiden Verfahren durchgeführt wurden.
Dargestellt werden die Mittelwerte der Prozessparameter von jeweils 14 extrakorporale Photopheresen mit dem 'Spectra Optia'- und 25 extrakorporale Photopheresen mit dem 'Cobe Spectra'- Verfahren, sowie der p-Wert des Vergleichs mittels eines zweiseitigen t-tests.

Bei der Auswertung der Photopherese-Verfahren bei Patient 2 wurde lediglich beim Prozessparameter 'Erythrozyten-Gehalt im Apheresat' ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Aphereseverfahren beobachtet. Bezüglich der Sammeleffizienz der Gewinnung von Leukozyten und mononukleären Zellen ergaben sich mit p-Werten <0,1 jeweils ein Trend zugunsten des 'Spectra Optia'-Verfahrens.

Nachfolgende werden die Ergebnisse für die einzelnen Prozessparameter inkl. der Streumasse detailliert dargestellt.

Effizienz der extrakorporalen Photopherese bezüglich der Gewinnung von Leukozyten (WBC) und mononukleären Zellen (MNC) im Apheresat

Mit beiden Apheresesystemen 'Spectra Optia' und 'Cobe Spectra' konnten bei Patient 2 Sammeleffizienzen zwischen 35% und 50% erzielt werden, allerdings war die Sammeleffizienz mit dem 'Spectra Optia'-Verfahren sowohl bezüglich der Gewinnung von Leukozyten als auch der Gewinnung von mononukleären Zellen im Trend höher als diese mit dem 'Cobe Spectra'-Verfahren. Das Signifikanzniveau wurde jedoch in beiden Fällen verfehlt (Abb. 4.17 und 4.18).

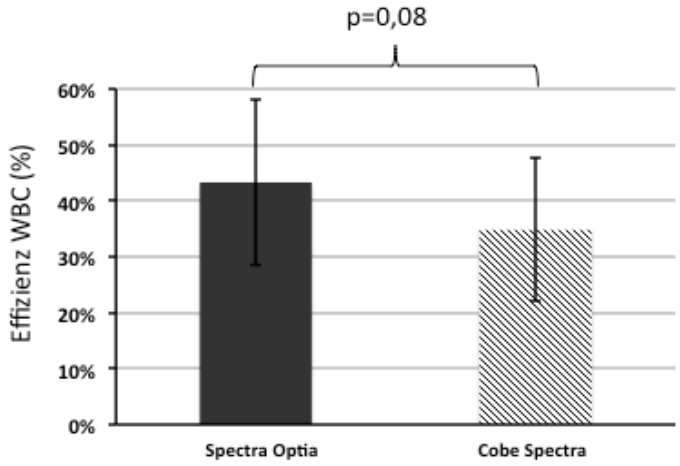


Abb. 4.17: Vergleich der Effizienz der Gewinnung von Leukozyten im Photopheresat zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren bei Patient 2
Dargestellt wird der Mittelwert von 14 Photophereseläufen mit dem 'Spectra Optia'- und 25 Photophereseläufen mit dem Cobe Spectra'-Verfahren. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

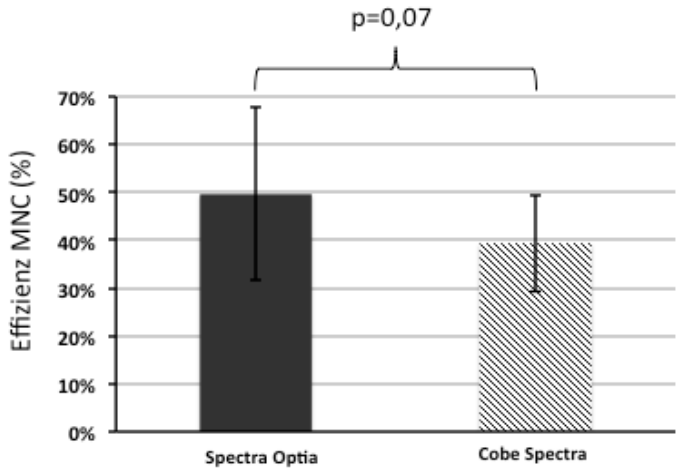


Abb. 4.18: Vergleich der Effizienz der Gewinnung von mononukleären Zellen im Photopheresat zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren bei Patient 2
Dargestellt ist der Mittelwert von 14 Photophereseläufen mit dem 'Spectra Optia'- und 25 Photophereseläufen mit dem Cobe Spectra'-Verfahren. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

Erythrozyten-Kontamination im Apheresat (ml/kg KG)

Der Erythrozyten-Gehalt des Photopheresat-Präparates beim Patienten 2 war mittels des 'Spectra Optia'-Verfahrens geringer als bei dem 'Cobe Spectra'-Verfahren. Hier konnte mit einem p-Wert <0,01 ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Apheresesystemen beobachtet werden (Abb. 4.19).

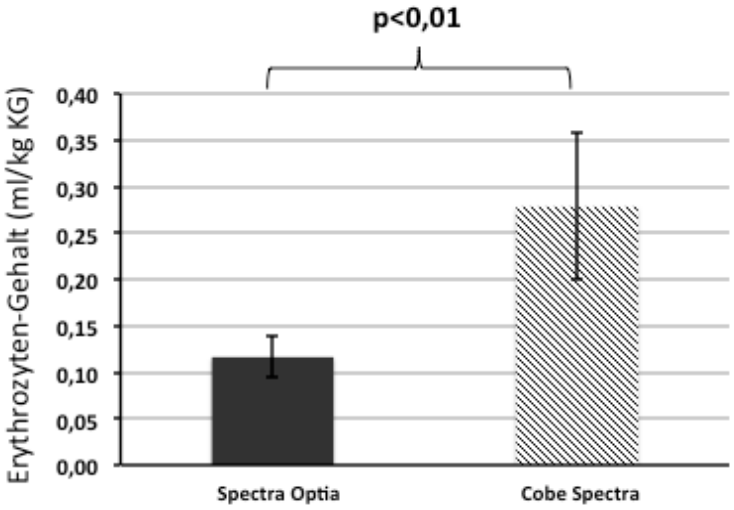


Abb. 4.19: Vergleich des Erythrozyten-Gehalts im Photopheresat (ml/kg KG) zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren bei Patient 2
Dargestellt wird der Mittelwert von jeweils 14 Photophereseläufen mit dem 'Spectra Optia'- und 25 Photophereseläufen mit dem Cobe Spectra'-Verfahren. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

Apheresat-Volumen (ml/kg KG) und Dauer der Photopherese (min)

Das Volumen des Photopheresat-Endproduktes bezogen auf das Gewicht des Patienten 2 war mit 2,19 ml/kg KG bzw. 2,22 ml/kg KG nahezu gleich bei Photopheresen mit dem 'Spectra Optia'- und dem 'Cobe Spectra'-Verfahren. Hier wurde kein statistisch signifikanter Unterschied beobachtet (Abb. 4.20).

Die extrakorporale Photopheresen beim Patienten 2 dauerten im Mittel zwischen 102 und 110 Minuten. Es wurde keine statistisch signifikante Differenz zwischen dem 'Spectra Optia'- und dem 'Cobe Spectra'-Verfahren (Abb. 4.21). Im Gegensatz zum Patienten 1 wurden die Photopheresen beim Patienten 2 aufgrund eines Körpergewichtes > 15 kg ohne Vorfüllen der Apheresemaschine durchgeführt.

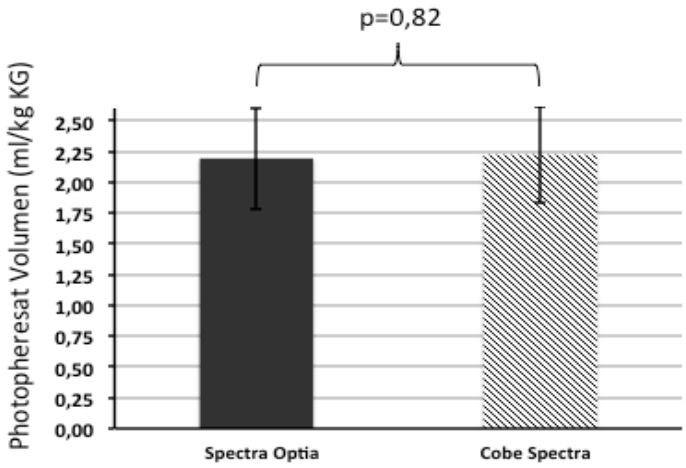


Abb. 4.20: Vergleich des Photopheresat-Volumens bezogen auf das Gewicht des Patienten 2 (ml/kg KG) zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren
Dargestellt wird der Mittelwert von 14 Photophereseläufen mit dem 'Spectra Optia'- und 25 Photophereseläufen mit dem 'Cobe Spectra'-Verfahren. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

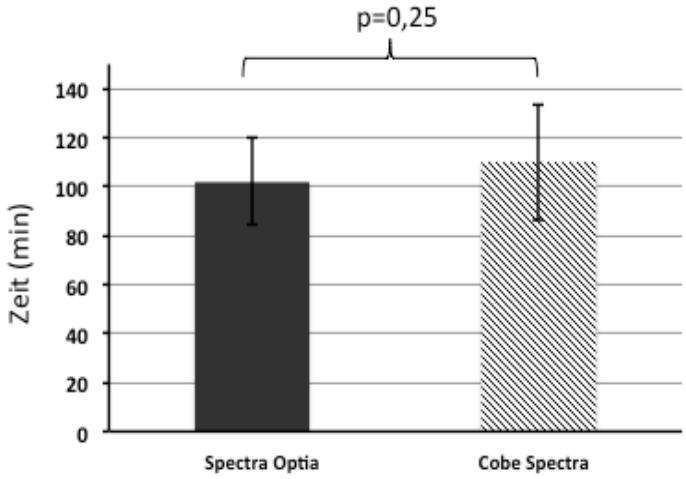


Abb. 4.21: Vergleich der Dauer einer extrakorporalen Photopherese bei Patient 2 zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren
Dargestellt wird der Mittelwert von 14 Photophereseläufen mit dem 'Spectra Optia'- und 25 Photophereseläufen mit dem 'Cobe Spectra'-Verfahren. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

Hämoglobin (Hb) Verlust, Thrombozyten (PLT) Verlust und Transfusionspflichtigkeit

Sowohl bei extrakorporalen Photopheresen mit dem 'Spectra Optia'- als auch mit dem 'Cobe Spectra' Verfahren kam es beim Patienten 2 zu einem Hämoglobin- und Thrombozyten-Verlust nach Ende der Behandlung. Es wurde weder bezüglich des absoluten und prozentualen Hämoglobin- (Abb. 4.22a und 4.22b), noch bezüglich des absoluten und prozentualen Thrombozyten-Verlustes (Abb. 4.22c und 4.22d) ein statistisch signifikanter Unterschied beobachtet. Bei diesen Prozessparametern zeigte jedoch erneut eine große Streuung.

Bei Patient 2 kam es einmalig nach Ende des Photopherese-Verfahrens zu einem Hämoglobin-Abfall < 7 g/dl, so dass anschließend die Transfusion eines Erythrozyten-Konzentrates notwendig war. In diesem Fall wurde die extrakorporale Photopherese mittels des 'Cobe Spectra'-Verfahrens durchgeführt. Die Notwendigkeit der Transfusion eines Thrombozyten-Konzentrates ergab sich in keinem Fall.

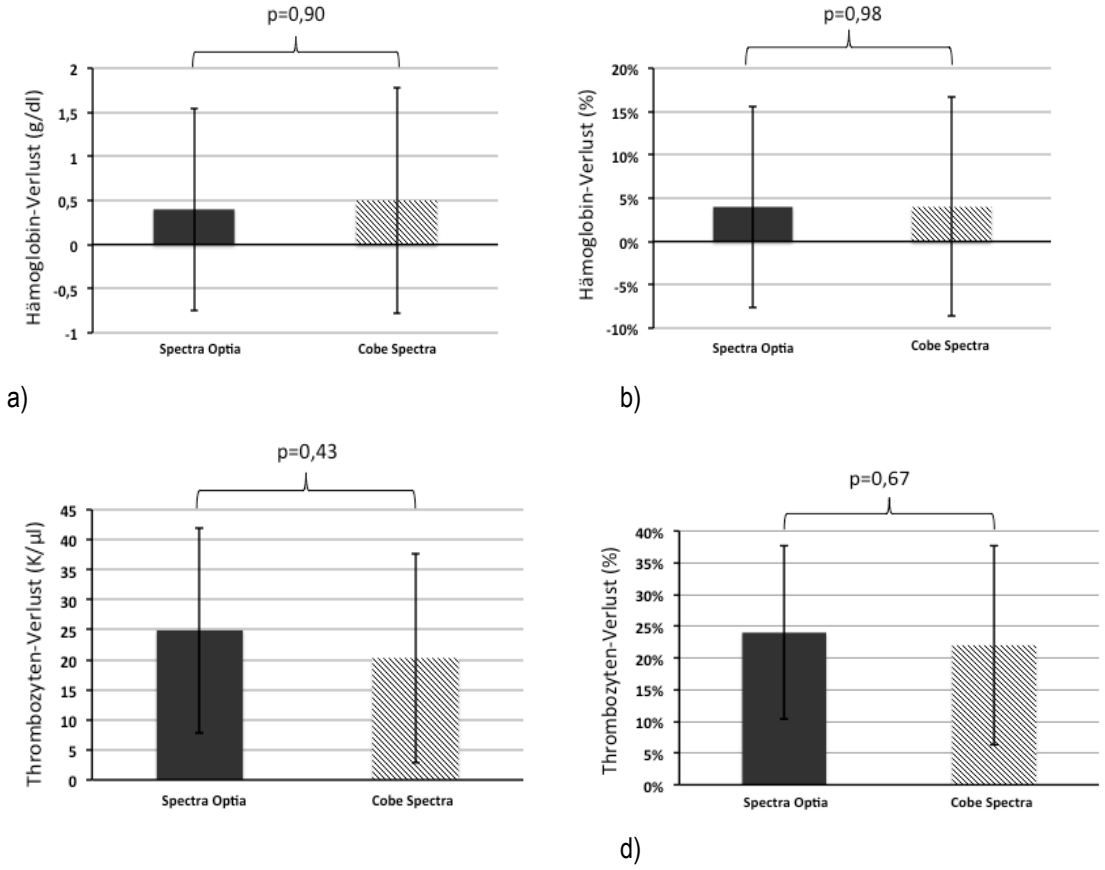


Abb. 4.22: Vergleich a) des absoluten Hämoglobin-Verlustes (g/dl), b) des prozentualen Hämoglobin-Verlustes(%), c) des absoluten Thrombozyten-Verlustes (K/µl) und d) des prozentualen Thrombozyten-Verlustes (%) zwischen dem „Spectra Optia"- und „Cobe Spectra"-Verfahren bei Patient 2
Dargestellt wird der Mittelwert von 14 Photophereseläufen mit dem 'Spectra Optia'- und 25 Photophereseläufen mit dem 'Cobe Spectra'-Verfahren. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung als Indikator des Streuungsmaßes.

5 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde die Anwendung zweier Zytapherese-Geräteplattformen, des 'Cobe Spectra'- sowie 'Spectra Optia'-Systems, zur Durchführung pädiatrischer Stammzellapheresen sowie Leukozytenapheresen mit nachfolgender ECP-Behandlung, mit einem Fokus auf die praktische Durchführbarkeit, Effizienz und Patientensicherheit miteinander verglichen.

In den nachfolgenden Abschnitten der Diskussion werden die dabei erzielten Ergebnisse zunächst separat für die Einsatzbereiche Stammzellapherese und Leukozytenapherese zur ECP kritisch bewertet und in die existierende Literatur zum Thema eingeordnet, um basierend hierauf Limitationen der Arbeit und sich daraus ergebenden weiterführenden Forschungsbedarf zu identifizieren.

5.1 Stammzellapheresen

Insgesamt wurden 26 Aphereseprozesse, davon jeweils 13 mit dem 'Cobe Spectra'- sowie 'Spectra Optia'-System, in die vorliegende Analyse einbezogen.

Um eine möglichst gute Vergleichbarkeit der untersuchten Aphereseprozesse zu erreichen, wurden zu den vorhandenen 13 'Spectra Optia' Apheresen diejenige Apheresen mit 'Cobe Spectra' ausgesucht, die gemäß Patientengewicht sowie Abweichungen in Leukozyten und CD34+ Zellen die geringsten Unterschieden zeigten.

Wie in Abschnitt 4.1 dargestellt ergab sich für keinen der untersuchten, den Aphereseprozess kennzeichnenden Prozessparameter, ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Aphereseverfahren. Im Trend zeigte sich dass der Gehalt an Erythrozyten im Endprodukt von 'Spectra Optia'-Verfahren geringer ist als im Endprodukt vom 'Cobe Spectra'-Verfahren. Ebenfalls eine Tendenz, allerdings zugunsten des 'Cobe Spectra' Aphereseplattforms, zeigte sich bei dem Endvolumen des Apheresats. Dieses Ergebnis ist aufgrund des unterschiedlichen Nachspülvolumens der beiden Apheresemaschinen nachvollziehbar zu halten, jedoch aufgrund der großen Daten-Streuung und möglicherweise der geringen Anzahl der einbezogenen Aphereseprozeduren zeigte sich jedoch keine Signifikanz.

Bezüglich der klinischen Daten die relevant für die Patientensicherheit sind, zeigten sich ebenfalls keine statistisch signifikanten Differenzen zwischen Stammzellapheresen mit dem 'Cobe Spectra'-Verfahren und Stammzellapheresen mit dem 'Spectra Optia'-Verfahren.

Der Parameter, der im Vordergrund der Betrachtung steht ist die **Effizienz einer Stammzellsammlung**. Wie im Abschnitt 3.1.2 bereits erwähnt, wurde diese als die Gesamtzahl der CD34+ Zellen im Endapheresat geteilt durch die absolute Zahl der prozessierten CD34+ Zellen berechnet.

Gemäß den Ergebnissen dieser Arbeit zeigten beide Maschinen eine sehr gute Effizienz von über 60% bezogen auf die gesammelten CD34+ Zellen. Obwohl es statistisch zu keinem signifikanten Unterschied kam, war die Effizienz der 'Spectra Optia' mit 66% höher als die der 'Cobe Spectra' mit 61% (Abb. 4.1).

In einer Studie von Sörensen et al. (19) wurden insgesamt 7 Apheresen mit dem 'Spectra Optia' System bei pädiatrischen Patienten analysiert. Das Patienten-Kollektiv umfasste nur Säuglinge und Kleinkinder zwischen 7 Monate und 5 Jahre, mit einem Gewicht zwischen 5,6 und 20 kg. Ziel einer Stammzellapherese war eine Sammlung von >2,5 x 10^6 CD34+ Zellen /kg KG. Dabei wurde das Sammelverhältnis (*collection ratio*, CR) zwischen gemessenen CD34+ Zellen im peripheren Blut vor Beginn der Apherese und CD34+ Zellen /kg KG im Endapheresat untersucht. Darüberhinaus wurde die CD34+ Sammeleffizienz (*preapheresis collection efficiency*, CE2) untersucht, dabei zeigte sich eine Sammeleffizienz der 'Spectra Optia' zwischen 22% und 55% (median 36%).

In der Arbeit von Even-Or et al. (20) wurden Stammzellapheresen mit dem 'Spectra Optia'- und 'Cobe Spectra'-System bei pädiatrischen Patienten untersucht und verglichen. Konkret, wurden jeweils 41 Apheresen mit 'Spectra Optia' sowie 'Cobe Spectra' analysiert, diese wurden bei insgesamt 56 Patienten mit einem Alter zwischen 4 Monate und 16,5 Jahre und Körpergewicht zwischen 7 und 87 kg durchgeführt. Ebenfalls sind hier unter anderem die Parameter Sammelverhältnis (*collection ratio*, CR) und CD34+ Sammeleffizienz (*collection efficiency*, CE2) erfasst. Als Sammeleffizienz ist hier definiert, die CD34+ Gesamtzahl im Apheresat geteilt durch die Gesamtzahl von CD34+ Zellen die über die Maschine prozessiert werden. Diese zeigte sich mit 61,25% versus 53,26% höher bei der 'Spectra Optia' als bei der 'Cobe Spectra', allerdings ohne statistisch signifikante Differenz.

Ebenfalls in der retrospektiven Arbeit von Cherqaoui et al. (21) wurden Stammzellapheresen mit 'Spectra Optia' und 'Cobe Spectra' bei pädiatrischen Patienten verglichen. Diese Arbeit umfasst 8 'Spectra Optia' Apheresen bei 6 verschiedenen Patienten die alle ein Körpergewicht von kleiner als 15 kg aufweisen. Diese Apheresen wurden mit 22 Apheresen verglichen, die mit dem System 'Cobe Spectra' bei 18 Patienten, ebenfalls mit einem Körpergewicht kleiner als 15 kg, durchgeführt sind. Es

wurde eine ähnliche Sammeleffizienz zwischen den beiden Apheresen-Plattformen beobachtet, diese von 'Spectra Optia' betrug 50%, die von 'Cobe Spectra' 47%.

Zusammengefasst, ähneln die Ergebnisse dieser Arbeit bezüglich CD34-Sammeleffizienz den bis jetzt veröffentlichen Arbeiten von Even-Or et al. (20) sowie Cherqaoui et al. (21), die ebenfalls die gleichen Apherese-Geräteplattformen verglichen haben. 'Spectra Optia'- und 'Cobe Spectra'-Verfahren zeigen beide eine Sammeleffizienz von fast über 50%, die der 'Spectra Optia' ist sowohl bei den zwei obengenannten als auch bei der vorliegenden Arbeit höher als die der 'Cobe Spectra', eine statistisch signifikante Differenz wurde allerdings in keiner der Arbeiten beobachtet.

Die mediane Sammeleffizienz bei der Arbeit von Sörensen et al. (19) liegt mit 36% und einer großen Streuung zwischen 22% und 55% teilweise deutlich unter der Sammeleffizienz unserer Arbeit, die 66% betrug. Dieses kann z.B. an der unterschiedlichen Apheresenzahl liegen, die circa halb so viele Prozeduren wie die vorliegende Arbeit umfasste.

Ein weiter Prozessparameter der von großer Bedeutung für pädiatrische Stammzellapheresen ist, ist die **Kontamination des Stammzell-Apheresates mit Erythrozyten**. Wie im Abschnitt 4.1. dargestellt, zeigte sich hier nur eine Tendenz im Erythrozyten-Gehalt im Apheresat zwischen 'Spectra Optia' und 'Cobe Spectra' (p=0,09). Der Gehalt an Erythrozyten war mit 0,29 ml/kg KG niedriger bei 'Spectra Optia' als dieser bei 'Cobe Spectra', der 0,35 ml/kg KG betrug (Abb. 4.2).

Dieser Prozessparameter wurde bei der retrospektiven Analyse von Cherqaoui et al. (21) erfasst und analysiert. Wie bei unseren Ergebnissen zeigte sich bei der obengenannten Arbeit ein niedrigerer Hämatokrit im Endapheresat-Produkt von 'Spectra Optia' im Vergleich zu 'Cobe Spectra' (median 0,5% vs. 2,1%). Dieser Unterschied war bei der obengenannten Arbeit statistisch signifikant ($p<0,01$), im Gegensatz zu unseren Ergebnissen, wo nur ein Trend zu beobachten war.

Wichtiger und erwähnenswerter Punkt bei pädiatrischen Stammzellapheresen ist auch das **Volumen des End-Apheresates**.

Im Abschnitt 4.1 zeigte sich nur eine Tendenz im Unterschied zwischen den Apherese-Maschinen (p=0,06), mit einem Endvolumen des 'Spectra Optia' Apheresates von 5,5 ml/kg Patienten-KG, im Gegensatz zu dem von 'Cobe Spectra', der 4,5 ml/kg Patienten-KG betrug (Abb. 4.3). Dieses Ergebnis ist durch ein unterschiedliches -bei der 'Spectra Optia' höheres- Kammerspül- und Nachspülvolumen bedingt. Das gesamte Nachspülvolumen bei 'Cobe Spectra' beträgt 10-11 ml pro Absammlung, dieses

von 'Spectra Optia' beträgt 20-26 ml pro Absammlung. Auch wenn es erfahrungsgemäß bei 'Spectra Optia'-Verfahren zu insgesamt weniger Absammlungen pro Apherese kommt, bleibt das Gesamtvolumen des Sammelproduktes im Endeffekt größer.

Ähnlich sind die Ergebnisse bei der retrospektiven Analyse von Even-Or et al (20). Dort wurde ebenfalls gesehen dass das Endproduktvolumen von 'Spectra Optia'-Verfahren höher als dieses von 'Cobe Spectra' war. Dieser Unterschied, der nicht statistisch signifikant war, ist hier auch im Rahmen des höheren Kammerspül- und Nachspülvolumens zu interpretieren. Eine genaue Berechnung des Verhältnis zwischen Apheresat Menge in ml und Patientenköpergewicht ist bei dieser Arbeit nicht erfolgt, so dass die Ergebnisse auf das absolute Apheresatvolumen beschränkt bleiben.

Nachteil eines großen Apheresat-Volumens ist ggf. die Notwendigkeit der Herstellung einer größeren Anzahl von Stammzellbeuteln zur Kryokonservierung sowie ggf. die Notwendigkeit eines zweiten Einfriervorgangs.

Ein großes Apheresat-Volumen hat zum späteren Zeitpunkt der autologen Stammzelltransplantation ebenfalls den Nachteil dass ein höheres kryokonserviertes Volumen dem Patienten zurücktransfundiert werden muss, mit Folge längeren Transplantationszeiten sowie einer höheren Gesamtmenge des zur Kryokonservierung eingesetzten Dimethylsulfoxid (DMSO) und dadurch ggf. bedingte Komplikationen.

Eine besondere Herausforderung bei Stammzellapheresen bei pädiatrischen Patienten ist die **Gesamtdauer der Procedere**, da es für kleinen Kinder besonders belastend sein kann, über mehrere Stunden ruhig bleiben zu müssen.

Im Abschnitt 4.1 werden die Ergebnisse dieser Arbeit bezüglich Stammzellapherese-Dauer dargestellt. Die mediane Dauer des Stammzellapherese-Verfahrens mit 'Cobe Spectra' und 'Spectra Optia' war fast identisch. Konkreter betrug diese von 'Spectra Optia' durchschnittlich 212 min., diese von 'Cobe Spectra' 214 min. (Abb. 4.4).

In der Literatur sind bei dem Prozessparameter Apheresedauer kontroverse Ergebnisse beschrieben.

Bei der Arbeit von Even-Or et al. (20) beträgt die Dauer einer Stammzellsammlung mit 'Spectra Optia' 238 ± 9min., und ist damit signifikant niedriger ($p=0,04$) im Vergleich zu der 'Cobe Spectra' Dauer, die 264 ± 9min. beträgt. Im Gegensatz dazu steht die Arbeit von Cherqaoui et al. (21) in der die Dauer einer Apherese mit 'Spectra Optia' länger als diese mit 'Cobe Spectra' ist, und damit auch statistisch signifikant unterschiedlich (159 min. versus 134 min., $p<0,05$). Zu erwähnen ist hier, dass die letzte

Arbeit nur Patienten mit niedrigem Gewicht einschließt, was die bemerkenswert niedrigere Apherese-Dauer erklärt.

Zusammengefasst, bleibt die Dauer der Apherese definitiv als Belastungsfaktor für kleinen Patienten zu sehen. Obwohl fast alle Patienten mit einem zentralvenösen Katheter versorgt sind, kann es immer wieder zu Druckflussproblemen während der Apherese kommen. Diese können die Gesamtzeit des Verfahrens verlängern -teilweise bis zu 5 Stunden- und sind definitiv bei Kleinkindern als zusätzliche Belastung zu berücksichtigen.

Hierzu kommt der wichtige Punkt **'Erythrozyten-Konzentrat (EK)-Vorfüllen'**, ein Punkt der sich erfahrungsgemäß deutlich zwischen den beiden Apheresemaschinen 'Spectra Optia' und 'Cobe Spectra' unterscheidet.

Bei allen pädiatrischen Patienten mit einem geringen Körpergewicht von kleiner 15 kg ist eine Vorfüllung der Maschine mit einem Erythrozyten-Konzentrat vor Beginn des Verfahrens notwendig. Dieses dient dazu, eine intra- und extrakorporale Volumenverschiebung zu Prozessbeginn zu vermeiden, die gegebenenfalls zu Kreislaufinstabilität des Patienten führen kann. Beide Maschinen benötigen ca. 200 ml verdünntes Erythrozyten-Konzentrat. Bei der 'Spectra Optia' erfolgt das Vorfüllen mit einer Laufgeschwindigkeit von 50 ml/min, was eine Vorfüll-Gesamtzeit von 4 Minuten entspricht. Bei der Apheresemaschine 'Cobe Spectra' ist die Laufgeschwindigkeit des Vorfüllens abhängig vom Patientenkörpergewicht und identisch zu der Apherese-Flussrate. Da bei Patienten mit Körpergewicht kleiner als 15 kg die Apherese-Flussrate weniger als 20ml/min beträgt, dauert eine EK-Vorfüllung bei dem 'Cobe Spectra'-Verfahren mindestens doppelt so lange wie bei dem 'Spectra Optia'-Verfahren.

Dadurch, dass das EK-Vorfüllen der 'Spectra Optia' Apherese-Maschine signifikant schneller als bei 'Cobe Spectra' ist, bleibt die Gesamtdauer einer Stammzellapherese mit Vorfüllung mittels 'Spectra Optia' ebenfalls kurzer.

Wie bereits im Abschnitt 3.1 erwähnt, gehören die Patienten der miteinander verglichenen Stammzellapheresen in die gleiche Gewichtsklasse. Dadurch ergibt sich die gleiche Zahl an EK-vorgefüllten Stammzellapheresen sowohl mit 'Spectra Optia' als auch mit 'Cobe Spectra' und damit werden die Ergebnisse bezüglich der Gesamtdauer vom Parameter 'EK-Vorfüllung' nicht verzerrt.

Besonders interessant ist hier zu betonen, dass bei der Arbeit von Cherqaoui et al. (21) nur 2 Stammzellapheresen erfasst wurden, jeweils 1 mit 'Spectra Optia' und 1 mit 'Cobe Spectra', bei denen eine Erythrozytenkonzentrat-Vorfüllung erfolgte. Da bei dieser Arbeit die analysierte Stammzellapheresen nur bei Patienten mit niedrigem Körpergewicht durchgeführt sind, wäre die Notwendigkeit einer EK-Vorfüllung tatsächlich bei allen Fällen zu erwarten. Allerdings wird aufgrund der

möglichen CD34-Zellverdünnung in diesem Zentrum eine EK-Transfusion vor Beginn der Stammzellapherese bevorzugt, um einen Ausgang Hämoglobin-Wert vor Apherese über 14 g/dl zu erreichen. Damit kann der bereits erwähnte Vorteil der 'Spectra Optia' bezüglich der Dauer der EK-Vorfüllung in dieser Arbeit nachvollzogen werden.

Neben den obengenannten Apherese-Prozessdaten wurden auch **klinische Patienten Daten** analysiert.

Insbesondere ist hier der beobachtete Hämoglobin- und Thrombozyten-Abfall am Ende der Apherese zu erwähnen. In unserem Zentrum erfolgt eine Thrombozyten Transfusion wenn laborchemisch kleiner als 20.000 Thrombozyten/µl gemessen werden, oder klinische Blutungszeichen vorliegen. Eine Erythrozyten-Konzentrat Transfusion wird erforderlich wenn der Hämoglobin-Wert kleiner 7 g/dl beträgt, oder bei klinischen Zeichen einer Anämie-bedingter Kreislaufinstabilität (Kopfschmerzen, Schwindel, Abgeschlagenheit).

Ein Hämoglobin- und Thrombozyten- Abfall nach Ende der Apherese war mit beiden Maschinen zu erwarten, Bluttransfusionen waren bei keinem unseren Patienten erforderlich. Konkreter, und wie im Abschnitt 4.1 dargestellt, kam es weder bei Stammzellapheresen mit 'Spectra Optia' noch bei Stammzellapheresen mit 'Cobe Spectra' zu einem Hämoglobin-Abfall größer als 0,5 g/dl (Abb. 4.5a). Dadurch war das Risiko einer Kreislauf-Fehlregulation aufgrund der intra-/extrakorporalen Volumenverschiebung während der Apherese gering, so dass beide Apherese-Maschinen hinsichtlich dieses Punktes als gleichsam sicher betrachtet werden können. Ebenfalls konnte kein klinisch-relevanter Thrombozyten-Abfall beobachtet werden, weder bei 'Spectra Optia' noch bei 'Cobe Spectra' Apheresen. Der prozentuale Thrombozyten-Abfall betrug bei Apheresen mit 'Spectra Optia' 34%, mit 'Cobe Spectra 41%, ohne das dieser Unterschied statistisch eine Signifikanz besitzt (Abb. 4.5d).

Ein statisch signifikanter Unterschied zugunsten der 'Spectra Optia' wurde in der Literatur bei der Arbeit von Cherqaoui et al. (21) beobachtet, sowohl bezüglich des Hämoglobin- als auch des Thrombozyten- Abfalls. Am Ende des Verfahrens kam es mit der 'Spectra Optia' zu einem Hämoglobin-Abfall von 1,4 g/dl, im Gegensatz zu einem Abfall von 2,9 g/dl bei der 'Cobe Spectra', der p-Wert betrug dabei <0,01. Der prozentuale Thrombozyten-Abfall betrug bei Apheresen mit 'Spectra Optia' 32%, mit 'Cobe Spectra 54% ($p<0,01$).

Auf der anderen Seite wurde in der Arbeit von Sörensen et al. (19), die insgesamt 7 Stammzellapheresen mittels 'Spectra Optia' analysiert, ein Thrombozyten-Abfall am Ende des Verfahrens von 58% des Ausgangswertes zu beobachten. Dieser ist bei pädiatrischen Patienten als

beträchtlich zu interpretieren, bei einem Patienten war eine Thrombozytenkonzentrat-Transfusion erforderlich.

Letztlich, wie im Abschnitt 4.1 erwähnt, kam es zu keinen unerwünschten Ereignissen, technischen Fehlern oder klinisch-relevanten Nebenwirkungen, weder bei den Apheresen mit 'Cobe Spectra', noch bei denen mit 'Spectra Optia'. Erwähnenswert für die Patientensicherheit ist auch eine mögliche bakterielle Kontamination des Endproduktes, diese ist bei keinem den Aphereseverfahren zu beobachten.

Auch in der bereits erwähnten Arbeiten von Sörensen et al. (19) und Even-Or et al. (20) sind keine signifikante Nebenwirkungen zu erwähnen, alle Apheresen sowohl mit 'Spectra Optia' als auch mit 'Cobe Spectra' waren gut verträglich. Der Ausschluss einer bakteriellen Kontamination ist in diese Arbeiten nicht explizit erwähnt.

5.2 Extrakorporale Photopheresen

In der vorliegenden retrospektiven Analyse wurden die Patienten-Daten von Kindern und Jugendlichen mit akuter oder chronischer GvHD nach allogener Stamzelltransplantation erfasst und analysiert. Die Analyse umfasste Daten von insgesamt 334 extrakorporalen Photopheresen, die mit den Apherese-Maschinen 'Spectra Optia' und 'Cobe Spectra' durchgeführt wurden.

Kennzeichnender Prozessparameter bei extrakorporalen Photopheresen ist die **Effizienz der Sammlung**, basierend auf mononukleären Zellen (MNC) oder auf Leukozyten (WBC). Diese wird im Abschnitt 4.2.1 dargestellt. Bezogen auf sämtliche Photopheresen (n=334) zeigte sich bei unserer Analyse eine gleiche Effizienz zwischen den beiden Apherese-Maschinen sowohl auf Leukozyten (Abb. 4.6) als auch auf mononukleäre Zellen (Abb. 4.7) basierend. Insbesondere, betrug die Effizienz bezüglich MNC-Zellen sowohl für 'Spectra Optia‘ als auch für 'Cobe Spectra‘ 36%, bezüglich Leukozyten zeigte sich einer Effizienz-Unterschied zugunsten der 'Spectra Optia‘ Maschine (18% versus 17%), dieser war allerdings weder klinisch relevant noch statistisch signifikant (p=0,64).

In der aktuellen Literatur in der beide Apherese-Plattformen miteinander verglichen wurden, handelt es sich ausschließlich um erwachsene Patienten, Daten zur extrakorporalen Photopheresen mit 'Spectra Optia' bei Kindern sind bisher fehlend. Obwohl die Ergebnisse teilweise zugunsten des 'Spectra Optia'- und teilweise zugunsten des 'Cobe Spectra'-Systems ausfallen, handelt es meistens um Unterschiede mit wenig statistische Signifikanz.

In einer Arbeit von Del Fante et al. (22) wurden Daten von insgesamt 63 extrakorporalen Photopheresen bei 39 Patienten analysiert. Es handelte sich um erwachsene Patienten zwischen 18 und 70 Jahre, 24 davon erhielten eine extrakorporale Photopherese bei chronischer GvHD, die restliche 15 Patienten aufgrund einer Bronchiolitis obliterans (BO) nach Lungentransplantation. Sowohl die Leukozyten-Sammeleffizienz als auch die MNC-Sammeleffizienz wurden nach ähnlichem Prinzip wie in der vorliegenden Arbeit berechnet. Es zeigte sich eine leicht bessere MNC- und WBC-Effizienz zugunsten der 'Cobe Spectra' (MNC: 'Spectra Optia' 38,6% versus 'Cobe Spectra' 40,0%, WBC: 'Spectra Optia' 13,2% versus 'Cobe Spectra' 14,9%), wobei nur die WBC-Effizienz statistisch signifikant unterschiedlich war (p=0,013). In einer Arbeit von Schulz et al. (23) waren die Leistungsunterschiede zwischen den beiden Maschinen relativ geringfügig und klinisch eher irrelevant. Die MNC-Effizienz-Variationen waren abhängig vom Spender, bei dieser Arbeit handelte sich nicht nur um ECP-Patienten sondern auch um gesunde Spender zur DLI-Erstellung. Es zeigte sich eine ähnliche, statistisch nicht signifikant unterschiedliche MNC Differenz, die bei 'Cobe Spectra' leicht höher war als die von 'Spectra

Optia' (62,2% vs. 58,9%). Diese Sammeleffizienz basierte auf ECP-Daten von jeweils 54 extrakorporale Photopheresen bei insgesamt 6 erwachsenen Patienten zwischen 38 und 64 Jahre.

Letztlich, wurden bei einer Arbeit von Brosig et al. (24) insgesamt 4 ECP-Systeme miteinander verglichen, darunter 'Spectra Optia' und 'Cobe Spectra'. Es handelte sich dabei um insgesamt 107 ECP-Prozeduren bei 31 Patienten, darunter 54 ECPs mit 'Cobe Spectra' und 12 ECPs mit 'Spectra Optia'. Die Analyse umfasste erwachsene Patienten mit einem medianen Alter von 51, beziehungsweise 48 Jahre. Dabei wurde eine bessere MNC-Effizienz zugunsten der 'Spectra Optia' (60% versus 50%) beobachtet, ebenfalls eine bessere WBC-Effizienz zugunsten der gleichen Apherese-Maschine (21% versus 12%), beide ohne statistisch signifikante Differenz.

Wie im Abschnitt 3.2 beschrieben repräsentierte das Gesamtkollektiv der ECP-Patienten eine sehr heterogene Gruppe so dass zur Erreichung einer besseren Homogenität zwei individuelle Patienten ausgesucht wurden, die eine extrakorporale Photopherese sowohl mit dem 'Spectra Optia'- als auch mit 'Cobe Spectra'-Verfahren hatten.

Bezogen auf den ersten Patienten zeigte sich eine vergleichbare Effizienz zwischen 'Spectra Optia' und 'Cobe Spectra' (Abschnitt 4.2.2.1), genauso wie bei der Analyse aller 334 extrakorporalen Photopheresen. Diese war -sowohl auf mononukleären Zellen als auch auf Leukozyten bezogen-, geringgradig höher bei 'Spectra Optia' als bei 'Cobe Spectra' (MNC 33% versus 28%, WBC 11% versus 9%), allerdings ohne dass diese höhere Effizienz statistisch signifikant war (Abb. 4.11 und 4.12).

Bei dem zweiten Patienten wurde insgesamt eine bessere Sammeleffizienz mittels 'Spectra Optia' beobachtet (Abschnitt 4.2.2.2). Obwohl es nur zu einem Trend einer Differenz kam (p=0,08), lag die Leukozyten-bezogene-Effizienz der 'Spectra Optia' mit 43% höher als diese von 'Cobe Spectra' mit 35% (Abb. 4.17). Ebenfalls höher war die MNC-bezogene-Effizienz der 'Spectra Optia' (50% versus 39% mit 'Cobe Spectra', Abb. 4.18), auch hier nur mit einer Tendenz (p=0,07).

Der nächste erwähnenswerte Punkt ist das **Photopheresat-Volumen**. Wie bereits im Abschnitt 1.6 erklärt, wird bei einer extrakorporalen Photopherese den gesammelten Zellen am Ende des Verfahrens das photoaktive Medikament 8-Methoxypsoralen (8-MOP) zugegeben, anschließend mit UV-A Licht bestrahlt und am Ende dem Patienten zurücktransfundiert. Da die Patienten während der Rücktransfusion aufgrund einer möglichen allergischen Reaktion auf 8-MOP einer Monitor-Überwachung unterliegen (Pulsoxymetrie kontinuierlich sowie regelmäßige Blutdruck-Kontrollen), ist eine möglichst minimierte Rücktransfusionszeit bei kleinen Patienten von großer Bedeutung. Diese ist unter anderem von einem möglichst geringen Photopheresat-Volumen abhängig.

In der bereits erwähnten Literatur wurde ein geringeres Photopheresat-Volumen mittels 'Spectra Optia' beschrieben. In der Arbeit von Del Fante et al. (22) beträgt das Endprodukt-Volumen der 'Spectra Optia' 88 ml, das von 'Cobe Spectra' 96 ml. Ein p-Wert von <0,001 bestätigt dabei den statistisch signifikanten Vorteil des 'Spectra Optia' Systems. In der Arbeit von Schulz et al. (23) wurden mittels 'Spectra Optia' ebenfalls Endprodukte mit kleinerem Volumen erzielt, die Differenz zwischen 'Spectra Optia' und 'Cobe Spectra' war dabei statistisch signifikant (p<0,01).

Bezogen auf die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und die Analyse aller 334 extrakorporaler Photopheresen betrug das Photopheresat-Volumen bei der 'Spectra Optia' 0,4 ml/kg KG weniger als bei der 'Cobe Spectra'. Dieses Ergebnis ist tatsächlich statistisch signifikant, muss jedoch aufgrund des heterogenen Patienten Kollektivs (z.B. auch bzgl. des Körpergewichtes der Patienten) vorsichtig interpretiert werden. Wenn der Faktor 'variables Körpergewicht' eliminiert wurde, wie z.B. bei der getrennten Betrachtung des ECP-Patienten 1 und ECP-Patienten 2, war das beobachtete Photopheresat-Volumen fast identisch mit beiden Apheresemaschinen (Abb. 4.14 und 4.20).

Die **Gesamtzeit des Verfahrens** bei extrakorporalen Photopheresen kann klinisch bei pädiatrischen Patienten genau so herausfordernd sein wie bei den Stammzellapheresen, auch wenn die ECP-Gesamtzeit mit durchschnittlich 113 Minuten deutlich geringer ist als diese einer SZ-Apherese. Bei der vorliegenden Analyse und wie im Abschnitt 4.2.1 dargestellt, zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen 'Spectra Optia' und 'Cobe Spectra' bezüglich Dauer der Photopherese, zugunsten der 'Spectra Optia' (106,6 min vs. 119,2 min) (Abb. 4.9). Im Hinblick auf die bereits erwähnte Literatur sind hier Vorteile bei erwachsenen Patienten zugunsten der 'Cobe Spectra' beschrieben. Insbesondere, ist bei der Arbeit von Del Fante et al. (22) eine Gesamt-Apherese-Dauer von 130 Minuten mit 'Cobe Spectra' und von 137 Minuten mit 'Spectra Optia' zu beobachten. Dieser Unterschied ist bei einem p-Wert von <0,001 statistisch relevant. Auch bei der Arbeit von Schulz et al. (23) ist die Apherese-Zeit mittels 'Cobe Spectra' signifikant kleiner als diese von 'Spectra Optia' (151,7 vs. 167,7 min.).

Ein relevanter Einflussfaktor auf die Apherese Dauer kann bei unserer pädiatrischen Patienten das Vorfüllen der Apherese-Maschine mit einem Erythrozyten-Konzentrat vor Beginn des Verfahrens bei Kindern mit einem Körpergewicht kleiner als 15 kg sein. Wie bereits im Abschnitt 5.1 erwähnt, benötigen beide Maschinen ca. 200 ml verdünntes EK zum Vorfüllen, das Vorfüllen dauert bei dem 'Cobe Spectra‘ System aufgrund der vorgesehenen Laufgeschwindigkeit mindestens doppelt so lange wie bei 'Spectra Optia‘.

Bei den in unserer Arbeit umfassten extrakorporalen Photopheresen, war insgesamt eine Erythrozyten-Konzentrat-Vorfüllung bei 25% der Photopheresen mit 'Spectra Optia' und bei 39% der Photopheresen mit 'Cobe Spectra' erforderlich. Dieser höhere Anteil an vorgefüllten Photopheresen kann teilweise die beobachtete längere Gesamtdauer mit 'Cobe Spectra' bei der Analyse aller 334 ECP erklären.

Vor allem wenn die im Abschnitt 4.2.2.1 dargestellten Prozessdaten des ersten ECP-Patienten betrachtet werden -bei dem aufgrund des niedrigen Körpergewichtes alle durchgeführte Photopheresen mit einem Erythrozyten-Konzentrat vorgefüllt waren- dauern die 'Spectra Optia' Photopheresen deutlich kurzer als diese mit 'Cobe Spectra', es kam hierzu zu einem statistisch signifikanten Unterschied ($p<0,01$) zugunsten der 'Spectra Optia', bei der die gesamte Photopherese ca. 20 Minuten kurzer gedauert hat (Abb. 4.15).

Im Gegenteil dazu kam es bei dem zweiten ECP-Patienten zu keinem relevanten Unterschied bezüglich der Dauer der Apherese zwischen den beiden Maschinen (Abb. 4.21). Da bei diesem Patienten keine Erythrozyten-Konzentrat-Vorfüllung notwendig war, ist dieses Ergebnis gut nachvollziehbar und zeigt erneut den relevanten Unterschied der EK-Vorfüll-Dauer zwischen 'Spectra Optia' und 'Cobe Spectra'.

Unter Berücksichtigung der oben genannten Ergebnisse besitzt das 'Spectra Optia'-Verfahren einen relevanten Vorteil in kleineren Gewichtklassen gegenüber der 'Cobe Spectra', dadurch dass der Belastungsfaktor 'Zeit' für kleine Patienten tatsächlich geringer und damit klinisch von relevanter Bedeutung ist.

Von weiterer wichtiger Bedeutung für extrakorporale Photopheresen und für die weitere Bearbeitung der daher gewonnenen Zellen ist der Anteil des Endpräparates an Erythrozyten. Eine **Erythrozyten-Kontamination** des Präparates, die als Folge einen hohen Hämatokrit-Wert im Photopheresat bedeutet, erschwert die folgende UV-A Bestrahlung des Produktes, mit ggf. negativen Folgen für den gewünschten immunmodulatorischen Effekt. Optimale Bedingungen für UV-A Bestrahlung bestehen wenn der Hämatokrit im Photopheresat <2% beträgt. Dieses Ergebnis ist unter anderem in der Arbeit von M.-C. Jacob et al. beschrieben (25). Dort wurden insgesamt 164 extrakorporale Photopheresen bei insgesamt 16 Patienten analysiert, 11 Patienten davon litten an einer GvHD, es wurden dabei die Ergebnisse der ECP-bedingten Zellproliferationshemmung im ECP-Endprodukt untersucht. Es wurde eindeutig festgestellt, dass bei einem Photopheresat-Hämatokrit von <2% die Proliferationshemmung

fast 99% betrug, im Gegensatz zu Photopheresat-Produkten mit Hämatokrit >2%, wo die Proliferationshemmung weniger als 90% war.

In Folge dessen muss ein Endpräparat mit hohem Hämatokrit verdünnt werden, dadurch entstehen Produkte mit größerem Volumen und damit verbundener längerer Rücktransfusionszeit mit Folge einer längeren Monitor-Überwachung des Patienten.

Im Abschnitt 4.2.2 werden die Ergebnisse der extrakorporalen Photopheresen bezüglich der Erythrozyten-Kontamination dargestellt. Bei der vorliegenden Arbeit konnte eine niedrigere Erythrozyten-Kontamination zugunsten der 'Spectra Optia' beobachtet werden. Es wurde sowohl beim ECP-Patienten 1 (Abb. 4.13), als auch beim ECP-Patienten 2 (Abb. 4.19) eine statistisch signifikante Differenz zwischen den beiden Aphereseverfahren beobachtet (p-Wert <0,01), der Erythrozyten-Gehalt des Photopheresates mittels 'Spectra Optia' betrug 0,12-0,15% und war damit deutlich niedriger als der von 'Cobe Spectra', der 0,28% betrug.

Zu einem ähnlichen Ergebnis, allerdings basierend auf pädiatrischen Stammzellapheresen, ist auch die Arbeit von Cherqaoui et al. (21) gekommen. Es zeigte sich in einem pädiatrischen Patienten-Kollektiv von insgesamt 8 'Spectra Optia' SZ-Apheresen gegenüber 22 'Cobe Spectra' SZ-Apheresen eine deutlich niedrigere Erythrozyten-Kontamination des Endpräparates mittels 'Spectra Optia' (Hkt 0,5% versus 2,1%, p Wert<0,01).

Bei erwachsenen ECP-Patienten ist ebenfalls zu beobachten, dass mittels des 'Spectra Optia'-Verfahrens Photopheresat-Produkte mit niedrigerem Erythrozyten-Gehalt entstehen. Dieses ist in der Arbeit von Del Fante et al. (22) beschrieben, dabei war der Hämatokrit im Photopheresat mittels 'Spectra Optia' 2,45% versus 3,3% mittels 'Cobe Spectra'. Dieser Unterschied war bei einem p-Wert von 0,004 statistisch signifikant. Ähnlich waren die Ergebnisse in der Arbeit von Schulz et al. (23), mit einem statistisch signifikant niedrigerem Photopheresat-Hämatokrit mittels des 'Spectra Optia'-Verfahrens.

Zusammengefasst werden mittels des 'Spectra Optia'-Verfahrens bessere Bedingungen für die UV-A Bestrahlung erreicht, da alle Photopheresat-Produkte einen Hämatokrit von <2% aufwiesen.

Neben den bereits erwähnten Prozeduren-Daten wurden auch bei den extrakorporalen Photopheresen **klinische Patienten-Daten** erhoben und analysiert. Insgesamt wurden bei unserem gesamten Patienten-Kollektiv keine unerwünschten Nebenwirkungen oder Ereignisse, auch keine Komplikationen beobachtet. Dieses unterstützt die Bewertung dass beide Apherese-Maschinen als ein

sicheres Verfahren zur ECP bei Kindern zu betrachten sind. Die Zuverlässigkeit und vor allem die Patientensicherheit der beiden Apherese-Verfahren sind bei erwachsenen Patienten gut etabliert. Dieses wird sowohl bei der Arbeit von Schulz et al. (23) als auch bei der Arbeit von Del Fante et al. (22) explizit erwähnt, da es zu keinen Nebenwirkungen oder unerwünschten Ereignissen gekommen ist. Milde Nebenwirkungen aufgrund des Calcium-Abfalls sind bei der letzten Arbeit vereinzelt beschrieben. Da diese leicht zu behandeln sind, ist auch deren Bedeutung nicht groß.

Eher relevant ist der **Verlust an Erythrozyten und Thrombozyten** nach einer extrakorporalen Photopherese, und vor allem die Frage ab wann dieser Verlust eine klinische Relevanz für Kinder hat. Im Abschnitt 4.2.1 wird der Hämoglobin- und der Thrombozyten- Abfall bei den gesamten extrakorporalen Photopheresen dargestellt. In der Abb. 4.10 zeigte sich eine große Steuerbreite der erhobenen Daten, dennoch war der Verlust an Erythrozyten sowohl mit 'Spectra Optia' als auch mit 'Cobe Spectra' gering und betrug <0,7 g/dl.

Hinsichtlich der Daten des ECP-Patienten 2 die im Abschnitt 4.2.2.2 dargestellt werden, betrug der Hämoglobin-Abfall am Ende des Verfahrens sowohl mit 'Spectra Optia' als auch mit 'Cobe Spectra' weniger als 0,5 g/dl, damit besteht kein signifikanter Differenz zwischen den beiden Maschinen (Abb. 4.22a). Dieser Abfall hat keinen relevanten Einfluss auf den klinischen Zustand des Patienten und kann nicht als Risikofaktor für mögliche Kreislaufinstabilität angesehen werden. Tatsächlich wurden bei diesem Patienten nach 2 extrakorporalen Photopheresen EK-Transfusionen am Ende des Verfahrens erfolgt, beide Prozeduren waren mittels 'Cobe Spectra' durchgeführt. In diesen Fällen muss jedoch der jeweils niedrigere Hämoglobin-Ausgangswert berücksichtigt werden.

Eine statistisch signifikante Differenz zwischen 'Cobe Spectra'- und 'Spectra Optia'-Verfahren wurde beim Thrombozyten-Verlust am Ende des Verfahrens beobachtet (p-Wert <0,01). Der prozentuale Thrombozyten-Verlust betrug bei der 'Spectra Optia' extrakorporalen Photopheresen 30%, im Gegensatz zu einem Verlust von 24% bei 'Cobe Spectra' Photopheresen (Abb. 4.10d). Trotz dieses Thrombozyten-Verlustes waren weder bei 'Spectra Optia' noch bei 'Cobe Spectra' TK-Transfusionen erforderlich.

Eine noch höherer Thrombozyten-Abfall von ca. 58% bei Apheresen mittels 'Spectra Optia' ist bereits in der Literatur beschrieben, und zwar in der Arbeit von Sörensen et al. (19), wo insgesamt 7 Apheresen mit dem 'Spectra Optia' System bei Säuglingen und Kleinkindern analysiert wurden. Allerdings handelte es sich dabei nur um Stammzellapheresen-Patienten, leider sind die pädiatrische Daten von Photopheresen mittels 'Spectra Optia' sehr limitiert. Ergebnisse bei erwachsenen Patienten bei denen

eine extrakorporale Photopherese durchgeführt wurde, zeigen einen -mit beiden Maschinen- insgesamt hohen prozentualen Thrombozyten-Verlust, ohne statistisch signifikante Differenz zugunsten der einen oder anderen Apherese Maschine. Der Thrombozyten-Verlust lag bei der Arbeit von Schulz et al. (23) bei 34,7% mit der 'Spectra Optia', bzw. 34.8% mit der 'Cobe Spectra'. Besonders interessant ist hier zu vermerken dass obwohl der Thrombozyten-Verlust bei ECP-Patienten fast identisch für 'Cobe Spectra'- und für 'Spectra Optia'-Photopheresen war, zeigte sich im selben Arbeit ein statistisch signifikanter Unterschied des Thrombozyten-Verlustes bei gesunden DLI-Spendern, und zwar zugunsten der 'Spectra Optia'. Bei der Arbeit von Del Fante et al. (22), basierend ebenfalls auf erwachsenen ECP-Patienten lag der Thrombozyten-Verlust mit 'Spectra Optia' bei 32,4%, mit 'Cobe Spectra' bei 39,9%, dieser Unterschied hatte allerdings keine statistische Signifikanz.

Wichtig ist hier zu betonen dass bei unserem ECP-Patienten-Kollektiv die Thrombozyten-Ausgangswerte vor Beginn der Separation deutlich höher lagen als die Thrombozyten-Ausgangswerte bei Stammzellapherese-Patienten. So lagen diese Werte vor Beginn der Separation bei 56% der ECP-Patienten im Normbereich. Damit kann ein größerer Thrombozyten-Abfall klinisch toleriert werden und ist insgesamt ohne Bedeutung, da trotz des relativ großen Abfalls die Thrombozyten am Ende des Verfahrens weit über den üblichen Transfusionsgrenzen lagen.

Im Abschnitt 4.2.2.1 wird der Thrombozyten-Verlust beim ersten ECP-Patienten dargestellt. Es war ein höherer Thrombozyten-Verlust bei dem 'Spectra Optia'-Verfahren als bei dem 'Cobe Spectra'-Verfahren zu beobachten (36% versus 23%, Abb. 4.16d), der auch statistisch signifikant war (p-Wert <0,01), allerdings ohne erforderliche TK-Transfusionen am Ende des Verfahrens. Hier waren die Thrombozyten-Ausgangswerten vor Separation in 83% der ECPs im Normbereich.

Im Gegensatz dazu, wurde beim Patienten 2 kein statistisch signifikanter Unterschied bezüglich Thrombozyten-Abfall bei extrakorporalen Photopheresen mit 'Spectra Optia' oder 'Cobe Spectra' beobachtet. Die Daten dieses Patienten werden im Abschnitt 4.2.2.2 dargestellt. Im Hinblick auf die Thrombozyten-Werte vor Beginn der Separation, lagen die Thrombozyten des Patienten 2 nur bei einer von insgesamt 39 Photopheresen im Normbereich (<0,03%).

Werden die oben genannten Beobachtungen und Ergebnisse zusammen betrachtet, ist davon auszugehen dass Patienten mit höheren Thrombozyten-Zahlen vor Separation mit dem 'Spectra Optia'-Verfahren einen größeren Thrombozyten-Abfall erleiden, dieser ist aber aufgrund der meistens normwertigen Thrombozyten-Werte vor Separation klinisch von geringer Bedeutung.

5.3 Limitationen der vorliegenden Arbeit

In der vorliegenden Arbeit zeigen sich insgesamt vergleichbare Ergebnisse zwischen dem 'Spectra Optia'- und dem 'Cobe Spectra'- Aphereseverfahren, so dass das Apheresesystem 'Spectra Optia' für das Verfahren der Zytapherese im Bereich der Gewinnung von Stammzellen bzw. der ECP für Kindern geeignet ist. Im Folgenden werden die Limitationen der vorliegenden Arbeit dargestellt.

Die Anzahl der eingeschlossenen Patienten, bzw. der analysierten Apherese-Verfahren ist bei Stammzellapheresen mit dem 'Spectra Optia'-Verfahren gering (n=13) und limitiert dadurch eine weitere Analyse möglicher Einflussfaktoren. Wie im Abschnitt 3.1. dargestellt, wurde ein optimales 'Patienten-Matching' angestrebt mit dem Ziel, solche 'Cobe Spectra'-Vergleich-Prozeduren zu identifizieren, die bezüglich potentieller Einflussfaktoren bestmöglich vergleichbar waren. Trotz dieses Verfahrens kam es zu einer relevanten Streuung potentieller Einflussfaktoren von ca. 20-35%, bzw. war die Abweichung bei einer Patienten-Gruppe so hoch (ca. 70%), so dass auf das initial festgelegte Kriterium 'Körpergewichtsklasse' verzichtet werden musste.

Um eine validere Aussage bezüglich der Effizienz und Sicherheit des 'Spectra Optia'-Aphereseverfahrens treffen zu können, müssen weitere Studien angestrebt werden die eine größere Anzahl von pädiatrischen Patienten mit Indikation zur Stammzellapherese einschließen sollten.

Auf der anderen Seite stellt die Anzahl der analysierten ECP-Verfahren mit beiden Aphereseplattformen eine beträchtliche Summe dar (n=334), allerdings ist die ECP-Anzahl mittels des 'Cobe Spectra'-Verfahrens ca. viermal so hoch wie diese mittels des 'Spectra Optia'-Verfahrens. Trotz der hohen Zahl analysierten ECP-Verfahren, wird im Abschnitt 3.2 die beträchtliche Heterogenität der Patientenkohorte beim Vergleich der ECP-Verfahren dargestellt. Zudem wurde eine erhebliche Streubreite der erfassten und analysierten Daten beobachtet, diese führt ebenfalls zu einer limitierten Aussage bezüglich der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit. Aufgrund dessen sind auch hier klinische Daten weiterer ECP-Verfahren notwendig, um die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zu bestätigen.

6 Literatur- und Quellenverzeichnis

1) E.Strasser: Therapeutische Apherese Eine Übersicht aktueller Indikationsstellungen Klinikarzt 2014;43(1):10-17

2) Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie NB2004 Trial Protokoll for risk adapted treatment of children with neuroblastoma Principal investigator: Prof. Dr. Frank Berthold; Dept. Pediatric Oncology and Hematology; Children's Hospital, University of Cologne; Version: 3.3 from 01.11.2014 EUDRAC number: EU - 20661 Clinical Trials. gov Identifier: NCT 00410631

3) D.Strother, D.Ashley, S.J.Kellie, A.Patel, D.Jones-Wallace, S.Thompson, R.Heideman, E.Benaim, R.Krance, L.Bowman, A. Gajjar: Feasibility of Four Consecutive High-Dose Chemotherapy Cycles with stem-cell rescue for patients with newly diagnosed medulloblastoma or supratentorial primitive neuroectodermal tumor after craniospinal radiotherapy: results of a collaborative study Journal of Clinical Oncology, 2001;19(10):2696-2704

4) A. Gajjar, M. Chintagumpala, D. Ashley, S. Kellie, L.E Kun, T. E Merchant, S. Woo, G. Wheeler, V. Ahern, M. J Krasin, M. Fouladi, A. Broniscer, R. Krance, G.A Hale, C.F Stewart, R. Dauser, R.A Sanford, C. Fuller, C. Lau, J. M Boyett, D Wallace, R.J Gilbertson: Risk-adapted craniospinal radiotherapy followed by high-dose chemotherapy and stem-cell rescue in children with newly diagnosed medulloblastoma (St. Jude Medulloblastom-96): long-term results from a prospective, multicentre trial Lancet Oncol 2006; 7:813-20

5) E.Angelucci, S.Matthes-Martin, D.Baronciani, F.Bernaudin, S.Bonanomi, M.D. Capellini, J.H.Dalle, P.di Bartolomeo, C.Diaz de Geredia, R.Dickerhoff, C.Giardini, E.Gluckman, A.A.Hussein, N.Kamani, M.Minkov, F.Locatelli, V.Rocha, P.Sedlacek, F.Smiers, I.Thuret, I.Yaniv, M.Cavazzana, C.Peters: Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia major and sickle cell disease: indications and management recommendations from an international expert panel Haematologika 2014;99(5):811-820

6) P.Sodani, D.Gaziev, P.Polchi, B.Erer, C.Giardini, E.Angelucci, D.Baronciani, M.Andreani, M.Manna, S.Nesci, B.Lucarelli, R.A.Clift, G.Lucarelli: New approach for bone marrow transplantation in patients with class 3 thalassemia aged younger than 17 years Blood 2004;104:1201-1203 doi: https://doi.org/10.1182/blood-2003-08-2800

7) J.Kanold, E.Merlin, P.Halle, C.Paillard, A.Marabelle, C.Rapatel, B.Evrar, C.Berger, J.L. Stephan, C.Galambrun, C.Piguet, M.D'Incan, P.Bordigoni, F.Demeocq: Photopheresis in pediatric graft-versus-host disease after allogeneic marrow transplantation: clinical practice guidelines based on field experience and review of the literature Transfusion 2007;47: 2276-2289

8) Messina C, Locatelli F, Lanino E, Uderzo C, Zacchello G, Cesaro S, Pillon M, Perotti C, Del Fante C, Faraci M, Rivabella L, Calore E, De Stefano P, Zecca M, Giorgiani G, Brugiolo A, Balduzzi A, Dini G, Zanesco L, Dall'Amico R.: Extracorporeal photochemotherapy for paediatric patients with graft-versus-host disease after haematopoetic stem cell transplantation BrJ Haematol 2003;122:118-127

9) AWMF Register Nr. 013/072 S1 Leitlinie - Extrakorporale Photopherese (http://www.awmf.org/leitlinien/detail/ll/013-072.html)

10) Voss CY, Fry TJ, Coppes MJ, Blajchman MA. Extending the horizon for cell-based immunotherapy by understanding the mechanisms of action of photopheresis. Transfus. Med. Rev. 2010;24(1): 22-32

11) H.T.Greinix, N.Worel, U.Just, R.Knobler: Extracorporeal photopheresis in acute and chronic graft-versus-host disease Transfusion and Apheresis Science 2014;50(3):349–357, doi: 10.1016/j.transci.2014.04.005

12) Adamski J, Kinard T, Ipe T, Cooling L: Extracorporeal photopheresis for the treatment of autoimmune diseases Transfus. Apher. Sci. 2015;52(2):171-182, doi:10.1016/j.transci.2015.02.005

13) Rutella S, Valentini CG, Ceccarelli S, Romano MT, Brescia LP, Milano GM, Locatelli F.: Extracorporeal photopheresis for paediatric patients experiencing graft-versus-host disease (GVHD) Transfus Apher Sci. 2014;50(3):340-348, doi: 10.1016/j.transci.2014.04.004

14) Spectra Optia®-Apheresesystem Grundlagenschulung-Arbeitsheft für Schulungsteilnehmer/Verfahrensschulung TerumoBCT ©2013 Terumo BCT, Inc. / 306611111

15) Cellex Collection Centre (https://www.cellex.me/de/blutstammzellspende/arten-der-entnahme/periphere-stammzellentnahme)

16) Cobe Spectra™ Apheresesystem Bedienungsanleitung zur Verwendung mit Software-Versionen 4.7, 5.1–5.9 und 6.0–6.9 COBE BCT™ © COBE Laboratories

17) Spectra Optia®-Apheresesystem Grundlagenhandbuch TerumoBCT ©

18) Cobe Spectra™ Apheresesystem Schulungsarbeitsbuch Auto-PBSC® Programm © GAMBRO BCT/September 2003

19) J.Sorensen, A.Jarisch, C.Smorta, U.Köhl, P.Bader, E.Seifried, H.Bonig: Pediatric Apheresis with a novel apheresis device with electronic interface control Transfusion 2013;53:761-765

20) E.Even-Or, A.Eden-Walker, M.Di Mola, E.McDougall, T.Schlechter, M.Ali, G.Svajger, A. Gassas, C.Licht, J.Krueger: Comparison of two apheresis systems for autologous stem cell collections in pediatric oncology patients Transfusion 2016;00:1-9

21) B.Cherqaoui, N.Rouel, A.Auvrignon, A.S. Defachelles, F.Demeocq, J.Kanold, E.Merlin: Peripheral blood stem cell collection in low-weight children: retrospective comprison of two apheresis devices Transfusion 2014;54:1371-1378

22) C. Del Fante, L.Scudeller, G.Viarengo, M.Cervio, C.Perotti: Mononuclear cell collection for extracorporeal photochemotherapy: a study comparing an automatic and a semiautomatic apheresis device Transfusion 2013;53(9):2027-2033

23) M.Schulz, H.Bialleck, K.Thorausch, G.Bug, U.Dünzinger, E.Seifried, H.Bonig: Unstimulated Leukapheresis in patients and donors: comparison of two apheresis systems Transfusion 2014; 54: 1622-1629

24) A.Brosig, V.Hähnel, E.Orso, D.Wolff, E.Holler, N.Ahrens: Technical comparison of four different extracorporeal photopheresis systems Transfusion 2016; 56: 2510-2519

25) M.-C.Jacob, O.Manches, P.Drillat, M.J.Richard, J.Plumas, L.Chaperot, H.Hegelhofer, F.Garban, R.Gresin, M.Favrot, J.-C-Bensa, M.Pernollet: Quality control for the validation of extracorporeal photopheresis process using the Vilbert-Lourmat UV-A irradiation's system Transfusion und Apheresis Science 2003;28:63-70

7 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1: Trennung der zellulären Komponenten durch Zentrifugation 5
Abb. 1.2: Schematische Darstellung einer Stammzellapherese 6
Abb. 1.3: Schematische Darstellung der Zellprozessierung bei dem Verfahren der extrakorporalen Photopherese 8
Abb. 1.4: Ansicht des 'Cobe Spectra'- und 'Spectra Optia'- Zentrifugensystems 10
Abb. 4.1: Vergleich der Effizienz der Gewinnung von CD34-Zellen 27
Abb. 4.2: Vergleich des Erythrozyten-Gehalts im Apheresat 27
Abb. 4.3: Vergleich des Apheresat-Volumens bezogen auf das Gewicht des Patienten 28
Abb. 4.4: Vergleich der Apherese-Dauer 28
Abb. 4.5: Vergleich des absoluten und prozentualen Hämoglobin- und Thrombozyten-Verlustes 29
Abb. 4.6: Vergleich der Effizienz der Gewinnung von Leukozyten im Photopheresat 32
Abb. 4.7: Vergleich der Effizienz der Gewinnung von mononukleären Zellen im Photopheresat 32
Abb. 4.8: Vergleich des Photopheresat-Volumens bezogen auf das Gewicht des Patienten 33
Abb. 4.9: Vergleich der Dauer einer extrakorporalen Photopherese 34
Abb. 4.10: Vergleich des absoluten und prozentualen Hämoglobin- und Thrombozyten-Verlustes bei ECP 35
Abb. 4.11: Vergleich der Effizienz der Gewinnung von Leukozyten im Photopheresat bei Patient 1 37
Abb. 4.12: Vergleich der Effizienz der Gewinnung von mononukleären Zellen im Photopheresat bei Patient 1 37
Abb. 4.13: Vergleich des Erythrozyten-Gehalts im Photopheresat bei Patient 1 38
Abb. 4.14: Vergleich des Photopheresat-Volumens bezogen auf das Gewicht des Patienten 1 39
Abb. 4.15: Vergleich der Dauer einer extrakorporalen Photopherese beim Patienten 1 39
Abb. 4.16: Vergleich des absoluten und prozentualen Hämoglobin- und Thrombozyten-Verlustes bei ECP bei Patient 1 40
Abb. 4.17: Vergleich der Effizienz der Gewinnung von Leukozyten im Photopheresat bei Patient 2 42
Abb. 4.18: Vergleich der Effizienz der Gewinnung von mononukleären Zellen im Photopheresat bei Patient 2 42
Abb. 4.19: Vergleich des Erythrozyten-Gehalts im Photopheresat bei Patient 2 43
Abb. 4.20: Vergleich des Photopheresat-Volumens bezogen auf das Gewicht des Patienten 2 44
Abb. 4.21: Vergleich der Dauer einer extrakorporalen Photopherese bei Patient 2 44
Abb. 4.22: Vergleich des absoluten und prozentualen Hämoglobin- und Thrombozyten-Verlustes bei ECP bei Patient 1 45

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klinische Charakteristika bei Stammzellapheresen 16
Tabelle 2: Klinische Charakteristika bei extrakorporalen Photopheresen 20
Tabelle 3: Klinische Charakteristika des Patienten 1 bei extrakorporalen Photopheresen 21
Tabelle 4: Klinische Charakteristika des Patienten 2 bei extrakorporalen Photopheresen 22
Tabelle 5: Vergleich der Prozessparameter im Rahmen der Stammzellapherese 26
Tabelle 6: Vergleich der Prozessparameter im Rahmen der extrakorporalen Photopherese 31
Tabelle 7: Vergleich der Prozessparameter im Rahmen der extrakorporalen Photopherese: Patient 1 36
Tabelle 8: Vergleich der Prozessparameter im Rahmen der extrakorporalen Photopherese: Patient 2 41