

Hochdosis-Chemotherapie mit anschließender
autologer Stammzelltransplantation

von

Stefan Wilop

Hochdosis-Chemotherapie mit anschließender autologer Stammzelltransplantation

Von der Medizinischen Fakultät der
Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen
zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors
der Medizin genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Stefan Wilop

aus Kempen

Berichter: Herr Universitätsprofessor
 Dr. med. R. Osieka

 Herr Universitätsprofessor
 Dr. med. C. Mittermayer

Tag der mündlichen Prüfung: 16.09.2002

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG.....	1
1.1	Historische Übersicht.....	1
1.2	Verfahren der Transplantation hämatopoetischer Stammzellen.....	5
1.2.1	Knochenmarktransplantation.....	5
1.2.2	Transplantation peripherer Blutstammzellen.....	5
1.2.3	Transplantation von Zellen aus Nabelschnurblut.....	6
1.2.4	Unterschiede von autologer und allogener Blutstammzelltransplantation...	6
1.2.5	Mini-Transplantation.....	8
1.3	Grundlagen der Transplantation hämatopoetischer Stammzellen.....	9
1.3.1	Die hämatopoetische Stammzelle.....	9
1.3.2	Das CD34-Antigen.....	10
1.3.3	Hämatopoese.....	12
1.3.4	Gewinnung von Blutstammzellen.....	13
1.3.4.1	Stimulation der Ausschwemmung von Blutstammzellen.....	14
1.3.4.2	Technik der Blutstammzellseparation.....	14
1.3.5	Kryokonservierung.....	16
1.3.6	Konditionierung und Transplantation.....	18
1.3.7	Langfristige Nebenwirkungen der Hochdosis-Chemotherapie.....	21
1.3.7.1	Fertilitätsstörungen.....	22
1.3.7.2	Sekundärmalignome.....	22
1.4	Richtlinien.....	23
2	PATIENTEN UND METHODEN	26
2.1	Indikationsstellung zur autologen Blutstammzelltransplantation.....	28
2.2	Beschreibung des Krankengutes.....	30
2.2.1	Hochmaligne Non-Hodgkin-Lymphome.....	31
2.2.2	Niedrigmaligne Non-Hodgkin-Lymphome.....	32
2.2.3	M. Hodgkin.....	32
2.2.4	Plasmozytome.....	33
2.2.5	Solide Tumoren / sonstige Malignome.....	33
2.3	Vorbehandlung der Patienten.....	33

2.4	Kollektionierung	35
2.5	Immunologische Aufreinigung	38
2.6	Kryokonservierung	42
2.7	Hochdosis Chemotherapie und Transplantation	43
2.7.1	Durchführung.....	43
2.7.1.1	Hochdosis-Chemotherapie.....	43
2.7.1.2	Transplantation	48
2.7.2	Verlauf und Komplikationen	50
2.7.2.1	Hämatologische Rekonstitution (=„Engraftment“)	50
2.7.2.2	Infektionsprophylaxe	55
2.7.2.3	Komplikationen.....	56
2.7.2.4	Verlauf von Laborparametern.....	57
2.7.2.5	Krankenhausaufenthalt.....	63
2.7.2.6	Nachsorge	64
3	DISKUSSION	65
3.1	Qualitätssicherung	65
3.1.1	Verlauf und Komplikationen	65
3.1.1.1	Hämatologische Rekonstitution	65
3.1.1.2	Verlauf von Laborparametern.....	67
3.1.2	Überlebenszeiten.....	68
3.1.3	Krankheitsbezogene Betrachtung.....	70
3.1.3.1	Hochmaligne Non-Hodgkin-Lymphome.....	70
3.1.3.2	Niedrigmaligne Non-Hodgkin-Lymphome	73
3.1.3.3	M. Hodgkin.....	74
3.1.3.4	Plasmozytome	75
3.1.3.5	Mammakarzinome	77
3.1.4	Lebensqualität.....	77
3.2	Stammzellgewinnung	79
3.3	Vergleich von autologer gegenüber allogener Transplantation	80
3.4	Perspektiven der Blutstammzelltransplantation	83
3.4.1	Transplantation von Zellen aus Nabelschnurblut.....	83
3.4.2	Expansion hämatopoetischer Stammzellen.....	83
3.4.3	Gentherapie.....	85

3.5	Zusammenfassung	86
4	LITERATURVERZEICHNIS.....	88
5	ANHANG	99
5.1	Abkürzungsverzeichnis.....	99
5.2	Abbildungsverzeichnis.....	101

1 Einleitung

Tumoren stellen mit etwa 25% nach den Herz-Kreislaufkrankungen die zweithäufigste Todesursache in der Bundesrepublik Deutschland dar [2]. Neben fortgeschrittenen soliden Tumoren, bei denen durch eine Operation nicht mehr die gesamte Tumormasse entfernt werden kann, ergibt sich bei sogenannten systemischen Neoplasien, z.B. malignen Lymphomen und Leukämien, bei denen eine chirurgische Intervention per se nicht möglich ist, die Notwendigkeit einer systemischen Chemotherapie.

Die Erfolgchancen der Chemotherapie sind abhängig von der möglichen „Dosisintensität“, d.h. der Menge der applizierbaren Zytostatika innerhalb eines vorgegebenen zeitlichen Rahmens. Bei vielen in der Tumorthherapie eingesetzten Zytostatika limitiert die Knochenmarktoxizität jedoch die Dosisintensität. Die Dosisintensität und damit die Heilungschance kann unter bestimmten Voraussetzungen durch eine myeloablative Hochdosis-Chemotherapie (= „Konditionierung“) mit anschließender autologer Stammzelltransplantation bei bestimmten Tumorerkrankungen gesteigert werden.

1.1 Historische Übersicht

Schon im Jahre 1863 vertrat der Königsberger Pathologe Ernst Neumann die Ansicht, daß ein Teil der im roten Knochenmark vorhandenen Lymphozyten eine Übergangsform zu roten kernhaltigen Blutkörperchen darstellen, aus denen sich später durch Abgabe des Zellkerns die eigentlichen roten Blutzellen entwickeln [65]. Diese Ansicht war jedoch nicht unumstritten: Sie bedeutete, daß damit das Knochenmark zu den blutbildenden Organen zählt, was zu damaliger Zeit nur für Milz und embryonales Gewebe vermutet wurde.

Wie empfindlich das blutbildende System gegenüber ionisierender Strahlung ist, wurde besonders zu Beginn des Nuklearzeitalters nach Ende des zweiten Weltkrieges

interessant, so daß man begann, sich für mögliche Strahlenfolgen zu interessieren. Jacobson et al. stellten fest, daß ganzkörperbestrahlte Mäuse eine schwere Anämie, Leukozytopenie und Thrombozytopenie entwickeln, und daß man diese Mäuse vor einer schweren Anämie schützen kann, indem allein die Milz vor der Strahlung abgeschirmt wird [38].

In weiteren Studien wurde belegt, daß Zellen aus dem Knochenmark im peripheren Blut zirkulieren können und dazu in der Lage sind, andere Bereiche des Knochenmarks zu besiedeln. Der im Jahre 1990 später für diese Pioniersuche mit dem Nobelpreis geehrte D. Thomas und Kollegen versuchten, durch Injektion von hämatopoetischen Knochenmarkzellen die Folgen der Knochenmarkaplasie nach Bestrahlung und Chemotherapie zu vermindern. Verwendet wurde dazu Knochenmark von eineiigen Zwillingen sowie zuvor kollektioniertes autologes Knochenmark, das bis zu seiner Verwendung kryokonserviert wurde [87].

Etwa zur gleichen Zeit gelang es Merwin et al., das Leben von Mäusen, die eine sonst tödliche Bestrahlungsdosis erhalten hatten, durch die Transfusion leukämischen Blutes zu verlängern. Dabei wurde nachgewiesen, daß anschließend die meisten Zellen der Lymphknoten und des Knochenmarks der so behandelten Mäuse aus dem transfundierten leukämischen Blut stammten [60]. Ähnliche Versuche mit Transfusionen von nichtleukämischen Leukozyten aus dem peripheren Blut von gesunden Mäusen in andere, ganzkörperbestrahlte Mäuse führten zu der Erkenntnis, daß transplantierte Leukozyten zur Proliferation in Milz, Knochenmark und Lymphknoten befähigt sind [35].

Im Jahre 1971 gelang es Chervenick et al., in vitro aus Leukozyten des peripheren Blutes gesunder Menschen Zellkolonien zu erzeugen, in denen Eosinophile, Neutrophile, Monozyten und Makrophagen nachweisbar waren [21]. Insbesondere ist die mononukleäre Zellfraktion für die Regeneration des Blutes wichtig. Dies war bis dato nur für Knochenmark- und Milzzellen von Tieren sowie für menschliche Knochenmarkzellen bekannt. Damit wurde die Existenz von Stammzellen des hämatopoetischen Systems im peripheren Blut des Menschen nachgewiesen, wenn auch in deutlich geringerer Anzahl als

Tabelle 1-1

Meilensteine auf dem Weg zur Blutstammzelltransplantation, vgl. auch [57]

1863	Beobachtung über den Übergang von Lymphozyten zu Erythrozyten-Vorläuferzellen [65]
1949	Abschirmen der Milz schützt Nagetiere vor schwerer Anämie nach Bestrahlung [38]
1958	Autologe KMT beim Menschen [42]
1959	Syngene KMT beim Menschen [87]
1959	PBSCT bei bestrahlten Nagetieren [60]
1961	Hinweise auf Stammzellen im Blut von Mäusen entdeckt [35]
1971	Identifizierung von klonogenen Stammzellen in humanem peripheren Blut [21]
1976	Erhöhung der CFU-C Konzentration im Blut nach Chemotherapie [70]
1979	Autologe PBSCT im Tierversuch am Hund studiert [29]
1979	Autologe PBSCT bei CML des Menschen [32]
1980	Syngene PBSCT beim Menschen [5]
1984	CD34-Antigen identifiziert [22]
1985	Erfolgreiche autologe PBSCT [69]
1988	GM-CSF erhöht die Stammzellkonzentration nach Chemotherapie weiter [83]

im Knochenmark. In weiteren Studien zeigte sich, daß die Konzentration von Stammzellen im peripheren Blut kurz nach einer Chemotherapie deutlich erhöht war [70]. Abrams und Kollegen postulierten bereits damals, daß durch eine zeitlich gut abgestimmte Kollektionierung nach Chemotherapie genügend mononukleäre Zellen aus dem peripheren

Blut eines Patienten gesammelt werden könnten, um die Rekonstitution des Knochenmarks nach myeloablativer Chemo- oder Radiotherapie nachhaltig zu beschleunigen [6].

Fliedner und Kollegen belegten schließlich 1979 im Tierversuch an Hunden die erfolgreiche hämatologische Restitution nach Leukapherese aus dem peripheren Blut, Kryokonservierung mit Zugabe von Dimethylsulfoxid (DMSO) als Gefrierschutz und anschließender Transplantation [29].

Die im Tierversuch vielversprechenden Methoden wurden daraufhin bei verschiedenen malignen Erkrankungen des Menschen erprobt. Goldman veröffentlichte im gleichen Jahr, daß die Transplantation von Stammzellen aus dem peripheren Blut auch beim Menschen die hämatopoetische Rekonstitution nach Chemotherapie beschleunigen kann und bei myeloablativer Chemotherapie diese sogar erst ermöglicht [32].

Besondere Bedeutung wurde der Menge der kollektionierten und transplantierten Stammzellen beigemessen, zeigte sich doch eine Abhängigkeit der Geschwindigkeit und Vollständigkeit der hämatopoetischen Rekonstitution von der transplantierten Zellzahl [29]. Die Progenitorzellen des hämatopoetischen Systems sind morphologisch nicht eindeutig als solche identifizierbar, zur Messung ihrer Konzentration mußten also andere Verfahren herangezogen werden. Dazu wurde zunächst in sogenannten Cloning-Assays die Fähigkeit dieser Zellen ausgenutzt, *in vitro* proliferieren und in Weichagar Kolonien bilden zu können, die dann mikroskopisch ausgezählt werden konnten. Einen großen Fortschritt brachte 1984 die Entdeckung und Beschreibung des Oberflächenantigens CD34 durch Civin et al., welches die frühen Vorläuferzellen des hämatopoetischen Systems kennzeichnet [22]. In Verbindung mit der Entwicklung der monoklonalen Antikörpertechnologie war es nun sehr schnell möglich, hämatopoetische Progenitorzellen zu quantifizieren. Außerdem konnten nun verschiedene Methoden entwickelt werden, CD34 positive Zellen aus Kollektaten zu selektionieren und anzureichern [15].

1.2 Verfahren der Transplantation hämatopoetischer Stammzellen

Hämatopoetische Stammzellen (Definition siehe Abschnitt 1.3.1) können aus verschiedenen Quellen gewonnen werden:

1.2.1 Knochenmarktransplantation

In der Regel erfolgt die Entnahme von Knochenmark in Vollnarkose oder Spinalanästhesie aus dem Beckenkamm. Bei dem etwa ein bis zwei Stunden dauernden Vorgang werden durch multiple Punktionen insgesamt etwa 1000ml Knochenmark vermischt mit Blut entnommen. Anschließend müssen noch mehrere Reinigungsschritte durchgeführt werden, um durch Zentrifugation und Filtration die hämatopoetischen Zellen insbesondere von Fettmark und Gerinnseln zu trennen.

Die Transplantation der Stammzellen erfolgt durch intravenöse Transfusion über einen zentralen Venenkatheter. Die Stammzellen siedeln sich dann selbständig im Knochenmark an und nehmen die Blutbildungsfunktion auf.

1.2.2 Transplantation peripherer Blutstammzellen

Einige der Stammzellen des hämatopoetischen Systems zirkulieren im Blut. Durch Zytokinstimulation kann die Konzentration hämatopoetischer Vorläuferzellen im Blut so stark angehoben werden, daß durch Kollektionierung aus dem Blut eine genügend große Anzahl hämatopoetischer Stammzellen für die Transplantation (engl: peripheral blood stem-cell transplantation, PBSCT) gewonnen werden kann (vgl. auch Abschnitt 1.3.4). Dazu werden über einen doppellumigen zentralen Venenkatheter oder über zwei periphere Zugänge mittels Zellseparators mononukleäre Zellen aus dem Blut des Patienten zentrifugiert und angereichert.

1.2.3 Transplantation von Zellen aus Nabelschnurblut

Nach postpartaler Durchtrennung der Nabelschnur befinden sich noch ca. 100-150ml Blut in den Gefäßen der Nabelschnur und der Plazenta, die ohne Risiko für Mutter und Kind verwendet werden können. Gluckman et al. haben gezeigt, daß sich etwa 15×10^8 mononukleäre Zellen mit einem hohen Anteil an hämatopoetischen Stammzellen darin befinden [31]. Diese Zahl wird als ausreichend angesehen, die Hämatopoese nach einer Hochdosis-Chemotherapie bei einem Kind wiederherzustellen. Laughlin et al. konnten an 68 Patienten zeigen, daß die Transplantation von Zellen aus Nabelschnurblut auch bei Erwachsenen dazu in der Lage ist, die Blutbildung nach myeloablativer Chemotherapie oder Bestrahlung wiederherzustellen und mit einer akzeptablen Rate des Auftretens einer Graft-versus-Host-Reaktion verbunden ist [45].

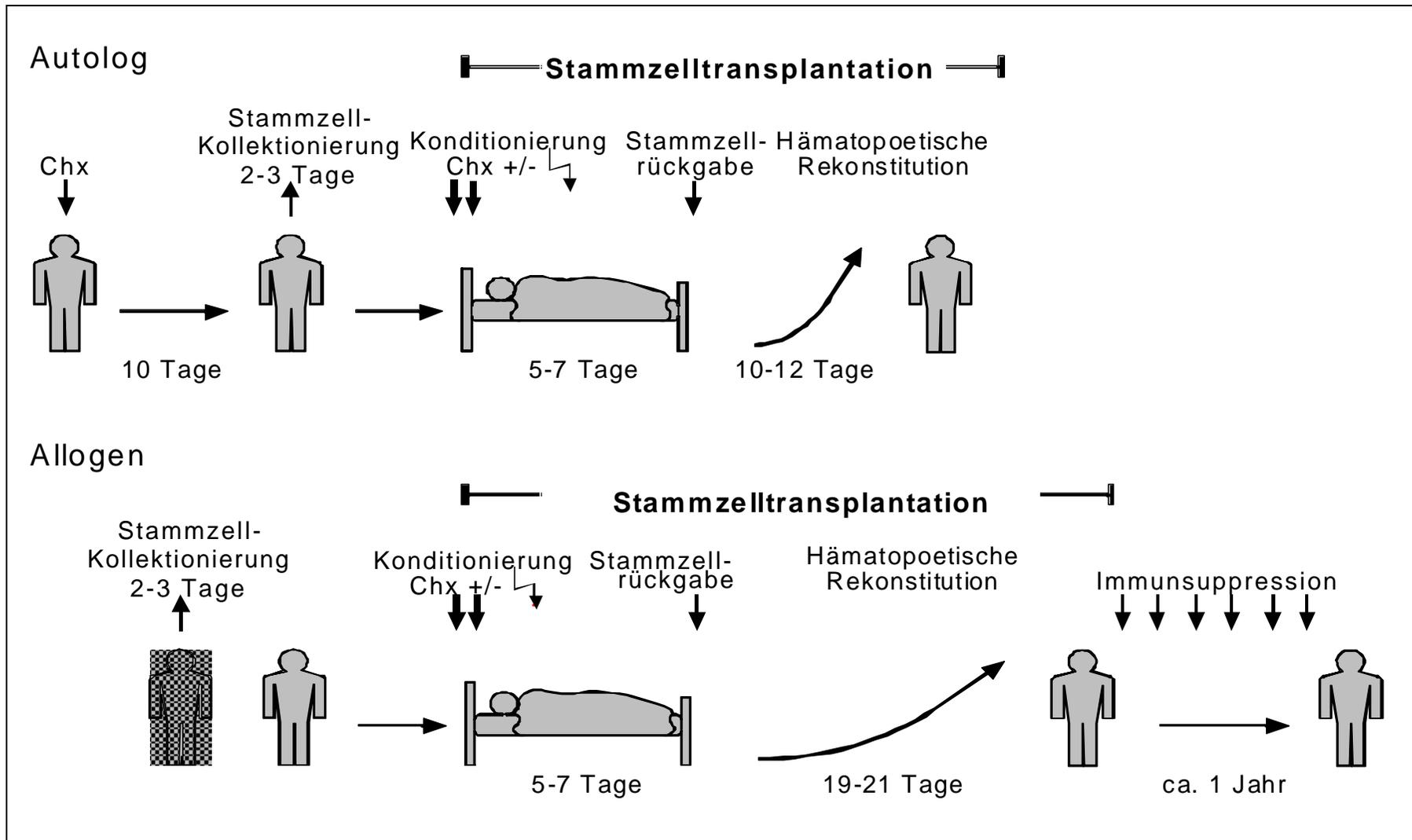
1.2.4 Unterschiede von autologer und allogener Blutstammzelltransplantation

Stammen die transplantierten Zellen von dem Patienten selbst, so spricht man von **autologer** Transplantation.

Eine weitere Möglichkeit ist die Verwendung von Stammzellen eines „gesunden“ Spenders. Hier spricht man von **allogener** Transplantation. Da Spender und Empfänger außer bei eineiigen Zwillingen (**syngene** Transplantation) jedoch genetisch nicht identisch sind, kommt es zu Abstoßungsreaktionen. Verbliebene Immunzellen des Empfängers greifen dann das Transplantat an (sog. Host-versus-Graft Reaktion, HvG) und führen evtl. sogar zu einer Abstoßung. Aus diesem Grund ist nach der Transplantation eine Immunsuppression des Empfängers notwendig.

Abbildung 1-1

Ablauf autologer und allogener Stammzelltransplantation



Bei der Graft-versus-Host Reaktion (GvH) werden Gewebe des Empfängers durch die im Transplantat enthaltenen immunkompetenten Zellen des Spenders angegriffen. Zielorgane der akuten GvH-Reaktion sind vor allem Haut, Leber und der Gastrointestinaltrakt. Im Bereich der Haut manifestiert sich die GvHD (Graft-versus-Host Disease) mit Exanthenen bis zur schmerzhaften generalisierten Erythrodermie mit Exfoliation. Die Leberbeteiligung äußert sich vor allem in einem cholestatischen Ikterus mit Bilirubinerhöhung. Die Beteiligung des Gastrointestinaltraktes kann zu Durchfällen mit starken Flüssigkeitsverlusten führen.

Für das Auftreten einer akuten GvH-Reaktion sind vor allem T-Lymphozyten des Spenders im Transplantat verantwortlich. Durch die Reduktion des T-Zell-Gehaltes des Transplantats (z.B. durch immunologische Separationsverfahren) läßt sich die akute GvH-Reaktion weitgehend vermeiden, allerdings führt die Unterdrückung der GvH-Reaktion zu einem erhöhten Risiko für das Wiederauftreten der leukämischen Erkrankung nach der Transplantation. Man spricht in diesem Zusammenhang auch vom Graft-versus-leukemia Effekt.

1.2.5 Mini-Transplantation

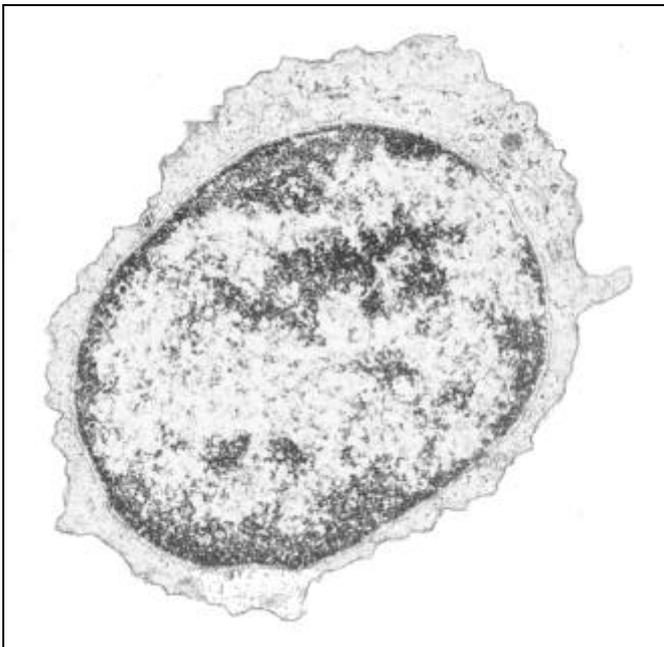
Der Graft-versus-leukemia Effekt kann auch therapeutisch genutzt werden: Bei der als „Mini-Transplantation“ bezeichneten Methode werden allogene hämatopoetische Stammzellen ohne vorherige myeloablative Hochdosis-Chemotherapie transplantiert. Der antineoplastische Effekt beruht hierbei in erster Linie nicht auf einer Tumorzellreduktion durch die vorangehende Chemotherapie, sondern auf einer immunologischen Reaktion immunkompetenter Zellen des Spenders, die die Tumorzellen als „fremd“ erkennen (vgl. auch Abschnitt 3.2).

1.3 Grundlagen der Transplantation hämatopoetischer Stammzellen

1.3.1 Die hämatopoetische Stammzelle

Abbildung 1-2

Vorläuferzelle des hämatopoetischen Systems
(Elektronenmikroskopie) [98]



Die Stammzelle des blutbildenden Systems (engl: „haematopoietic stem cell“, HSC) wird als primitive Zelle charakterisiert, die die Fähigkeit zur Selbsterneuerung besitzt. Diese wird durch asynchrone Teilungen erreicht, bei der die eine Tochterzelle als Stammzelle verbleibt, während sich die andere in eine Vorläuferzelle (engl: „haematopoietic progenitor cell“, HPC) einer oder mehrerer Zelllinien differenziert. Voraussetzung hierfür ist ein geeignetes „Microenvironment“ aus Stromazellen, das sich typischerweise im gesunden menschlichen Knochenmark findet. Durch weitere Teilungs- und Differenzierungsschritte entstehen dann die verschiedenen ausdifferenzierten Blutzellen, die zu keiner weiteren Teilung mehr befähigt sind. Eine rein morphologische

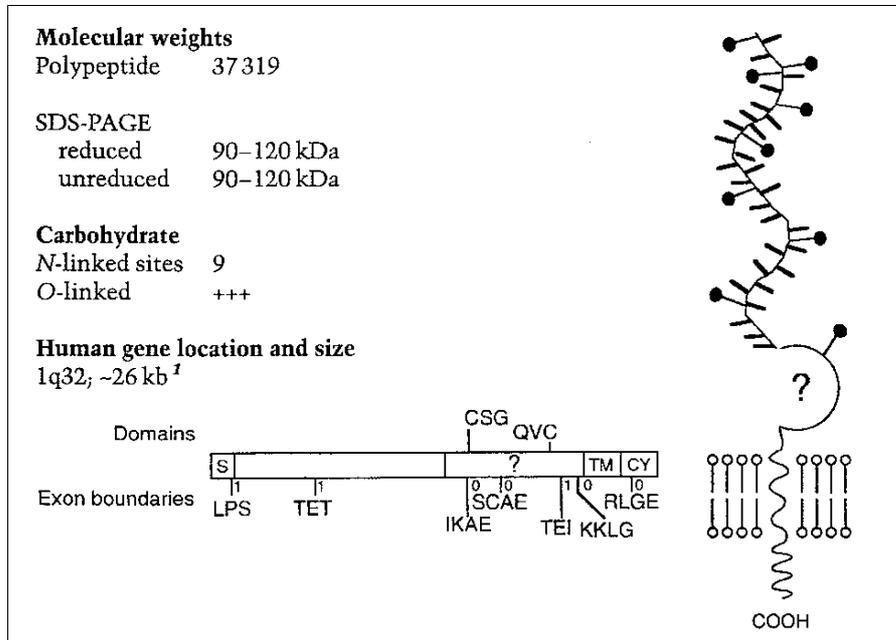
Identifikation der Stammzellen ist nicht möglich. Inzwischen sind jedoch eine Anzahl immunzytochemischer Merkmale gefunden worden, die zur Identifikation herangezogen werden können: CD34⁺, CD38⁻, CD33⁻, Thy-1, lin⁻. Mit lin⁻ ist das Fehlen weiterer Antigene bezeichnet, die bei weiterer Determination der Zellen typisch sind [68]. Ein weiteres Merkmal von HPC ist der c-kit-Rezeptor. Andrews et al. zeigten, daß eine Stimulation mit rekombinantem humanen stem-cell-factor (SCF), dem Liganden des c-kit-Rezeptors, bei Pavianen die Zahl der im Blut zirkulierenden hämatopoetischen Vorläuferzellen erhöht [8].

1.3.2 Das CD34-Antigen

Im Jahre 1984 wurde von Civin et al. ein Oberflächenantigen - heute als CD34-Antigen bekannt - gefunden, das unreife Vorläuferzellen des hämatopoetischen Systems kennzeichnet [22]. Beim CD34-Antigen handelt es sich um ein glykosiliertes Transmembranprotein aus 385 Aminosäuren. Das codierende Gen befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 1 (1q32). Obwohl die genaue Funktion des Proteins bislang noch unbekannt ist, gibt es Hinweise auf einen Zusammenhang mit der Zelladhäsion und der Regulation der Hämatopoese [34, 41]. Bei gesunden Probanden finden sich unter den mononukleären Zellen des Knochenmarks 1-4% CD34-Antigen exprimierende Zellen. Im peripheren Blut finden sich vergleichsweise weniger als 0,5% [22, 41]. Die Population von CD34⁺-Zellen des Knochenmarks enthält in einem hohen Maße Zellen, die morphologisch Blasten ähneln [41]. Neben den Vorläuferzellen der Hämatopoese tragen noch weitere Zellpopulationen das CD34-Antigen, so z.B. Kapillarendothelzellen [41]. Die Funktion ist aber ebenfalls noch nicht vollständig geklärt.

Abbildung 1-3

Das CD34-Antigen [11]



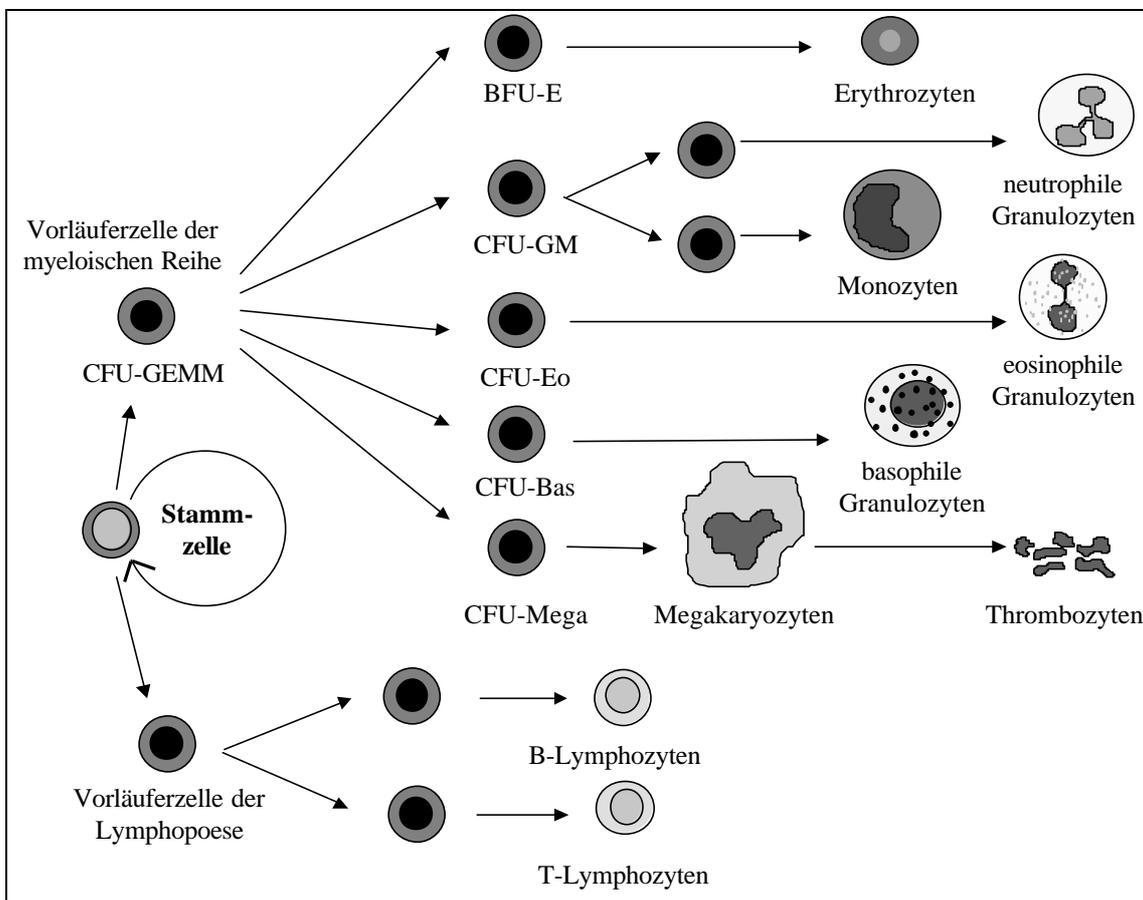
Das CD34-Antigen gilt als Kennzeichen der hämatopoetischen Stammzelle. Fluoreszenz-markierte Antikörper gegen das CD34-Antigen werden dazu benutzt, in Kollektaten den Stammzellgehalt zu bestimmen, und mit Hilfe des CD34-Antigens können Stammzellen aus den Kollektaten angereichert werden (vgl. auch Abschnitt 2.5). Seit einiger Zeit mehren sich allerdings die Hinweise darauf, daß nicht alle primitiven Stammzellen das CD34-Antigen exprimieren [34]. Sato et al. beschrieben, daß ein Großteil der Stammzellen, die für die dauerhafte Rekonstitution der Hämatopoese bei Mäusen verantwortlich sind, CD34⁻ sind. Aus den weiteren Ergebnissen der von ihnen durchgeführten Experimente folgerten Sie, daß die Expression des CD34-Antigens den reversiblen Aktivierungszustand hämatopoetischer Stammzellen widerspiegelt [78].

1.3.3 Hämatopoese

Aus den noch omnipotenten hämatopoetischen Stammzellen gehen pluripotente Vorläuferzellen hervor, die sich entweder in Richtung Granulopoese oder Lymphopoese entwickeln. Als primitive Vorläuferzelle der gesamten Myelopoese gilt die CFU-GEMM (colony-forming-unit für Granulozyten, Erythrozyten, Monozyten und Megakaryozyten). Die Proliferation der Vorläuferzellen wird durch Zytokine gesteuert, die von Fibroblasten, Endothelzellen, aber auch von hämatopoetischen Zellen selbst produziert werden. Besonders zu nennen sind in diesem Zusammenhang die Wachstumsfaktoren SCF (stem cell factor), G-CSF (colony-stimulating-factor für Granulozyten) und GM-CSF

Abbildung 1-4

Stammbaumschema der Hämatopoese (vereinfacht)



(colony-stimulating-factor für Granulozyten und Monozyten). Kommerziell als rekombinante Zytokine verfügbar sind G-CSF und GM-CSF, in eingeschränktem Umfang auch SCF. Sie werden zur Optimierung der Kollektionierung und zur Beschleunigung der Rekonstitution der Leukozytenwerte nach der Chemotherapie eingesetzt.

Durch weitere Zellteilungs- und Differenzierungsschritte entwickeln sich über die verschiedenen Vorläuferzellen der einzelnen Zelllinien die reifen Zellen des Knochenmarks und schließlich des Blutes. Die Bildung der B- und T-Lymphozyten erfolgt ebenfalls über gemeinsame Vorläuferzellen. Als Vorläuferzellen des hämatopoetischen Systems im Knochenmark sind zu nennen:

- burst-forming-unit für Erythrozyten = BFU-E
- colony-forming-unit für neutrophile Granulozyten und Makrophagen = CFU-GM
- colony-forming-unit für eosinophile Granulozyten = CFU-Eo
- colony-forming-unit für basophile Granulozyten = CFU-Bas
- colony-forming-unit für Megakaryozyten = CFU-Mega

1.3.4 Gewinnung von Blutstammzellen

Eine Transplantation von mindestens $2-2,5 \times 10^6$ CD34⁺-Zellen pro kg Körpergewicht führt zu einer vollständigen und dauerhaften Rekonstitution der Hämatopoese [94]. Die Gewinnung der für eine Transplantation benötigten Anzahl von Stammzellen ist durch eine direkte Entnahme von Knochenmark - z.B. aus dem Beckenkamm - möglich. Für diesen Eingriff ist jedoch eine Vollnarkose notwendig.

Als Alternative bietet sich eine Kollektionierung von Stammzellen aus dem zirkulierenden Blut des Patienten an. Während im Knochenmark etwa 1-4% der mononukleären Zellen das CD34-Antigen exprimieren [22], finden sich im Blut normalerweise

nur wenige Vorläuferzellen des hämatopoetischen Systems. Die Anzahl der CFU-GM beträgt laut Socinski et. al im Median 50-100/ml, die Anzahl der BFU-E 150/ml [83].

1.3.4.1 Stimulation der Ausschwemmung von Blutstammzellen

Schon seit 1976 ist bekannt, daß die Anzahl der im Blut zirkulierenden Vorläuferzellen des hämatopoetischen Systems nach der Behandlung eines Patienten durch Chemotherapie vorübergehend stark ansteigt [70]. Durch die Gabe von G-CSF erreichten Socinski et al. eine Steigerung der im peripheren Blut nachweisbaren CFU-GM auf das 18fache und der BFU-E auf das 8fache. Durch die Gabe von G-CSF im Anschluß an eine zytotoxische Chemotherapie erreichte die Zahl im Blut nachweisbarer CFU-GM das 60fache des Ausgangswertes [83].

In den letzten Jahren hat sich die CD34-Messung zur Quantifizierung des Stammzellgehaltes gegenüber Cloning-Assays nicht nur wegen der rascheren Verfügbarkeit, sondern auch wegen einer deutlich höheren Reproduzierbarkeit durchgesetzt.

Die Ausbeute an CD34⁺-Zellen bei der Kollektionierung wird nicht nur von dem Zeitpunkt, sondern auch von der Art und der Intensität der Vorbehandlung beeinflusst. Sie ist signifikant niedriger bei Patienten, die mit einer größeren Anzahl an Chemotherapiezyklen vorbehandelt wurden oder eine Bestrahlung erhalten haben [14]. Auch ein Knochenmarkbefall durch den Tumor geht mit einer durchschnittlich geringeren Ausbeute an CD34⁺-Zellen einher [14].

1.3.4.2 Technik der Blutstammzellseparation

Während bei der Gewinnung von Blutstammzellen aus dem Knochenmark eine Operation in Vollnarkose notwendig ist, gelingt durch die durch Chemotherapie und Wachstums-

faktoren erreichte Stimulation der Ausschwemmung von Vorläuferzellen in das periphere Blut eine genügend hohe Ausbeute durch die Technik der Zellseparation:

Die hämatopoetischen Stammzellen befinden sich in der Fraktion der mononukleären Zellen des Blutes. Ziel ist die Kollektionierung einer möglichst hohen Anzahl an Stammzellen mit nur geringer Verunreinigung durch andere zelluläre Bestandteile des Blutes, da es bei Erythrozyten, Thrombozyten und Granulozyten zu einer Lyse während des Einfriervorganges kommt. Für die Trennung der Zellen anhand ihrer Dichte durch Zentrifugation stehen automatische Systeme zur Verfügung. Zu unterscheiden sind die kontinuierlich von den diskontinuierlich arbeitenden Systemen. Bei den letztgenannten wird dem Patienten wiederholt ein kleines definiertes Blutvolumen entnommen, durch Zentrifugation die gewünschte Trennung vorgenommen und anschließend dem Patienten reinfundiert. Durchgesetzt haben sich inzwischen jedoch die kontinuierlich arbeitenden Systeme, da hier weniger Nebenwirkungen im Sinne einer Kreislaufbelastung durch die Volumenverschiebung auftreten.

Bei der Kollektionierung durch ein mikroprozessorgesteuertes automatisiertes System (z.B. Baxter CS-3000® Blutzellseparator) wird dem Patienten mit einer kontinuierlichen Flußrate (ca. 50ml/min) Blut entnommen. Um eine ausreichende Flußrate ohne Hämolyse zu gewährleisten, wird ein Sheldon®-Katheter als zentraler Venenzugang verwendet. Das Blut wird durch Zentrifugation anhand der Dichtegradienten der jeweiligen Bestandteile getrennt. Die gewünschte Zellfraktion wird in einem Auffangbeutel gesammelt, die restlichen Bestandteile werden dem Patienten über den zweiten Schenkel des Venenzugangs reinfundiert.

Aufgrund dieser Arbeitsweise kommt es während der Kollektionierung zu keiner größeren Volumenverschiebung. Durch eine Komplexbildung mit dem als Antikoagulanz verwendeten Citrat kann es jedoch insbesondere bei einem beeinträchtigten Citratmetabo-

lismus zu einer Hypokalziämie kommen. Als weitere Komplikationen kommen z.B. Hypothermien durch Abkühlung an der großen Oberfläche des Schlauchsystems sowie mögliche Komplikationen des Venenzugangs wie Entzündung oder Luftembolien bei Diskonnektion in Frage. Komplikationen durch Fehlfunktionen des Gerätes treten aufgrund der kontinuierlichen Selbstüberwachung und sofortiger Selbstabschaltung des Gerätes bei Problemen nur sehr selten auf.

1.3.5 Kryokonservierung

Um einen zeitlichen Spielraum zwischen der Kollektionierung und der geplanten Transplantation der Zellen zu ermöglichen, mußte ein Verfahren für die Aufbewahrung der Stammzellen entwickelt werden. Für kurze Aufbewahrungszeiten von wenigen Stunden ist eine Lagerung bei 4°C möglich. Die Anzahl der CFU-GM bezogen auf den Ausgangswert sinkt dabei von 82%-84% nach 24h über 17-48% nach 72h auf nur noch 7-8% nach 120h Lagerung [67]. Für eine längerfristige Lagerung über Monate und Jahre hinweg eignet sich die Kryokonservierung in flüssigem Stickstoff bei -196°C. Um die Vitalität der Stammzellen möglichst wenig zu beeinträchtigen, müssen bei der Aufbereitung der Stammzellpräparate und beim Einfriervorgang verschiedene Punkte berücksichtigt werden (vgl. auch Abschnitt 2.6):

Durch den Einfriervorgang, die Lagerung und das Auftauen wird ein Teil der Stammzellen geschädigt. Humpe et al. kamen bei 116 untersuchten Kollektaten zu dem Ergebnis, daß die Überlebensrate für CFU-GM bei kontrolliertem Einfriervorgang, Verwendung von 10% DMSO als Kryoprotektivum, Lagerung bei -196°C und Auftauen im 37°C Wasserbad 42,3% (0,0% - 304,8%) beträgt. Die Anzahl der CFU-GM war nach der Kryokonservierung signifikant ($p < 0.001$) niedriger als vorher. Weiterhin fiel auf, daß die Überlebensrate der CFU-GM-Zellen bei männlichen Patienten, die vor der Kollektionierung mit mehr als fünf Zyklen Chemotherapie behandelt wurden, besonders

niedrig ist. Dies ist ein Hinweis darauf, daß vorangegangene Chemotherapie die Vitalität und Proliferationsaktivität von Stammzellen unter Kryokonservierung beeinflusst [37].

Rowley et al. berichten bei 108 unter ähnlichen Bedingungen eingefrorenen Kollektaten von einer Rate für CFU-GM von 45,3 % (0% - 217,8%). Bei den dort untersuchten Proben wurde außerdem festgestellt, daß die Zellkonzentration während der Kryokonservierung keinen signifikanten Einfluß auf die Überlebensrate der CFU-GM hat [74].

Die weite Spanne der Dauer der Kryokonservierung wirft die Frage auf, welchen Einfluß die Lagerungsdauer auf die Vitalität und Anzahl der Stammzellen hat. In einer diesbezüglichen Studie von Attarian et al. wurde kein signifikanter Einfluß der Lagerungsdauer auf die Anzahl von CFU-GM Kolonien ($p=0.65$) und BFU-E ($p=0.57$) während einer Lagerung in Stickstoff bei -196°C zwischen 2,0 und 7,7 Jahren gefunden [10].

Eine weitere Möglichkeit für die Kryokonservierung bietet die Lagerung bei -80°C unter Verwendung von 6% Hydroxyethylstärke (HAES) und 5% DMSO als Kryoprotektivum. Der Einfriervorgang ohne Temperaturkontrolle und die Lagerung erfolgen hier in einem elektrischen Kühlaggreat. Hier wurden Überlebensraten für CFU-GM von 73,8%. ($\pm 4,1\%$) gemessen [55]. Bei einem Versuch, bei dem Knochenmark für drei Jahre entweder in Trockeneis (-79°C bis -69°C , Zusatz von Glycerol) oder in flüssigem Stickstoff (-196°C bis -150°C , Zusatz von DMSO) kryokonserviert wurde, stellten Malinin et al. fest, daß die in Trockeneis gelagerten Knochenmarkzellen fast vollständig zerstört waren, während die in flüssigem Stickstoff gelagerten Zellen morphologisch weitgehend intakt waren [56].

1.3.6 Konditionierung und Transplantation

Das Prinzip der Hochdosis-Chemotherapie beruht auf der Steigerung der Wirkung auf den Tumor durch eine Erhöhung der Dosisintensität. Ob sich jedoch ein Zytostatikum für die Hochdosis-Chemotherapie eignet, hängt von mehreren Faktoren ab:

Wichtig ist eine steile Dosis-Wirkungs-Beziehung über einen möglichst ausgedehnten Bereich, so daß durch eine Steigerung der Dosis auch die Wirkung maximal gesteigert werden kann. Es gibt jedoch mehrere Gründe, durch die eine starke Abflachung der Dosis-Wirkungs-Beziehung entstehen kann. Bei manchen Substanzen (z.B. Antimetabolite und Vinca-Alkaloide) steigt die Wirkung auf die Tumorzellen ab einer bestimmten Dosis nicht weiter an [16]. Ein zweiter Grund für eine nicht mehr zu steigernde Wirkung auf den Tumor kann in einer schlechten Durchblutung im Zentrum eines soliden Tumors liegen, so daß hier lokal keine wirksameren Chemotherapeutikakonzentrationen erreicht werden können [16].

Durch die Dosissteigerung wird allerdings nicht nur die gewünschte Wirkung auf die Tumorzellen gesteigert, sondern es wächst auch die unerwünschte Schädigung anderer gesunder Gewebe des Körpers. Unerwünschte Nebenwirkungen der Chemotherapie treten besonders an den schnell proliferierenden Geweben des Körpers auf, zu denen das hämatopoetische System gehört. Dementsprechend stellt die Blutbildung häufig den limitierenden Faktor für die Toleranz der zytostatischen Chemotherapie dar. Aus diesem Grund ist ein großer Abstand zwischen Dosis-Wirkungs- und Dosis-Nebenwirkungs-Kurve, also eine große therapeutische Breite für einen Einsatz eines Zytostatikums bei der Hochdosis-Chemotherapie von Vorteil.

Wenn durch die Transplantation von Stammzellen im Anschluß an die Hochdosis-Chemotherapie die vorher limitierende hämatologische Toxizität überwunden werden kann, rücken die nichthämatologischen Nebenwirkungen der Chemotherapie in das Blickfeld. In Tabelle 1-2 sind die organbezogenen Toxizitäten einiger in der Hochdosis-Chemotherapie eingesetzter Substanzen angegeben, die die applizierbare Dosis nach oben hin begrenzen.

Tabelle 1-2

Nichthämatologische Nebenwirkungen ausgewählter Chemotherapeutika

Thiotepa	Schleimhaut, ZNS, Lunge
Busulfan	Lunge, ZNS, Leber
Etoposid	Schleimhaut, Niere
Carboplatin	Nerven, Niere
Melphalan	Schleimhaut
Cyclophosphamid	Herz
Doxorubicin	Schleimhaut, Herz

Im Gastrointestinaltrakt kommt es häufig zur Mukositis, Stomatitis, erheblichen Diarrhoen oder auch Obstipation. Außerdem treten vermehrt Entgleisungen des Elektrolythaushaltes auf [50]. An der Lunge treten Infektionen infolge der Immunsuppression, insbesondere interstitielle Pneumonien auf [50], die initial von einer zytostatisch induzierten Pneumonitis, die später in eine Lungenfibrose übergehen kann, schwer zu unterscheiden sind. Als häufigste infektiöse Komplikation ist das Fieber unklarer Genese (fever of unknown origin, FUO) ohne lokalisierbare Infektmanifestation oder Keimnachweis zu nennen. Die Leberfunktion ist nach der Hochdosis-Chemotherapie oft vorübergehend eingeschränkt, was sich in Gerinnungsstörungen durch verminderte Produktion von Gerinnungsfaktoren äußern kann.

Unerwünschte Wirkungen an der Niere und den ableitenden Harnwegen treten u.a. in Form von Nierenversagen oder hämorrhagischer Zystitis, seltener in Form eines Fanconi-Syndroms auf [50]. Einige Zytostatika können eine Kardiomyopathie verursachen, deren Bandbreite von leichten EKG-Veränderungen bis zur Herzinsuffizienz reichen kann [50, 90]. Als Hautveränderungen treten Erytheme, reversible Alopezie, Blutungen und Infektionen auf [50].

Eine seltene aber lebensbedrohliche Komplikation ist das Lebervenenverschluß-Syndrom (engl: hepatic veno-occlusive disease, VOD). Es ist durch eine schmerzhafte Hepatomegalie, Ikterus und Flüssigkeitsretention charakterisiert und wird durch Obliteration der terminalen Lebervenen verursacht - die genaue Pathogenese ist jedoch noch unklar. Als Folge kann es schließlich zu einem Multiorganversagen kommen. Die Häufigkeit des VOD bei Knochenmarktransplantationen liegt bei bis zu 54%, dabei zeigte sich eine Korrelation mit niedrigen prätherapeutischen Protein-C Werten, sowie dem Vorliegen der Faktor V Leiden-Mutation [13, 28, 59]. Häufigkeit und Schweregrad des VOD können durch die prophylaktische Gabe von Heparin vermindert werden, die Letalität von Patienten, bei denen während einer Knochenmarktransplantation ein VOD aufgetreten ist, liegt jedoch bei bis zu 67% [13, 19].

Das Auftreten von Nebenwirkungen hängt jedoch nicht nur von der verabreichten Zytostatikadosis ab. So wurden erhebliche Schwankungen der Plasmaspiegel bei verschiedenen Patienten aber gleicher verordneter Dosis pro kg Körpergewicht festgestellt. Für die Fläche unter der Plasmaspiegel-Zeit-Kurve bei Applikation von 14mg/kg Körpergewicht Busulfan wurde z.B. eine Schwankung bis zum Faktor 8,4 gemessen [16].

Wenige Tage nach Hochdosis-Chemotherapie sinkt die Anzahl der Leukozyten auf Werte um 0,1 G/l, die Anzahl der Thrombozyten auf unter 50 G/l. Um die Zeit bis zur aus-

reichenden Rekonstitution durch die transplantierten Stammzellen zu überbrücken, sind intensive supportive Maßnahmen erforderlich:

Durch das Absinken der Thrombozytenzahlen ist bei einem großen Teil der Patienten die wiederholte Gabe von Thrombozytenkonzentraten nötig, um der Blutungsgefahr zu begegnen. Es werden nur HLA-kompatible, Cytomegalievirus negative und mit einer Dosis von 30 Gy bestrahlte Blutprodukte über einen Leukozytenfilter transfundiert.

Die Infektabwehr der Patienten ist durch die niedrigen Leukozytenzahlen stark geschwächt. Nicht selten besteht daher ein Fieber unklarer Genese (FUO). Einer besonderen Bedeutung kommt daher der Infektprophylaxe zu. Zu nennen sind hier Voraussetzungen der Krankenhaushygiene: Die Transplantation erfolgt unter Isolation des Patienten in einem Krankenzimmer mit gefilterter Luft (OP-Qualität). Vor Betreten des Zimmers wird Personal und Besuchern eine gründliche Händedesinfektion und die Benutzung steriler Kittel bzw. von Einmalhauben, -handschuhen und Überschuhen empfohlen. Als Infektprophylaxe werden während der Transplantation eine selektive Darmdekontamination mit Fluconazol, Colistin und Levofloxacin sowie regelmäßige Mundspülungen mit Ampho-Moronal-Suspension und Hexitidin durchgeführt. Bei manifesten Infektionen wird nach Gewinnung von Blut-, Urin- und Sputumkulturen eine empirische Behandlung nach Richtlinien der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für neutropenische Patienten begonnen.

1.3.7 Langfristige Nebenwirkungen der Hochdosis-Chemotherapie

Wenn durch die Hochdosis-Chemotherapie eine Heilung erreicht werden kann, müssen - vor allem bei der Behandlung von jüngeren Patienten - die Langzeitfolgen berücksichtigt werden:

1.3.7.1 Fertilitätsstörungen

Durch die Hochdosis-Chemotherapie kommt es bei vielen Patienten zu Einschränkungen der Fertilität. In einer Studie von Sanders et al. wurde dieser Aspekt an 331 Patienten untersucht, die durch Hochdosis-Chemotherapie mit anschließender allogener Knochenmarktransplantation behandelt wurden. Von 176 Frauen wiesen nur 57 nach der Transplantation wieder einen normalen Zyklus auf, 25 davon wurden während der Nachbeobachtungszeit schwanger. Bei nur 75 der 155 Männern war anschließend eine Produktion vitaler Spermien festzustellen. Dabei wurden 28 Partnerinnen der behandelten Männer schwanger. Eine erhöhte Rate an Spontanaborten wurde nicht festgestellt, jedoch wurden acht von 44 Kindern der transplantierten Frauen vor der 37. Schwangerschaftswoche entbunden. Von den 55 Lebendgeburten der Partnerinnen der transplantierten Männer wurden nur zwei vor der 37. SSW entbunden [77].

1.3.7.2 Sekundärmalignome

Als weitere relevante Spätkomplikation ist das Auftreten von Sekundärmalignomen anzusehen. Durch die relativ kurze Nachbeobachtungszeit ist es z.Zt. nicht möglich, genaue Angaben zu machen, in welcher Weise das Risiko für das Auftreten eines Sekundärmalignoms ansteigt. Die Angaben für die kumulative Inzidenz von myelodysplastischen Syndromen oder akuten Leukämien fünf Jahre nach autologer Knochenmarktransplantation schwanken zwischen 4% und 14,5%, für das Auftreten von soliden Zweittumoren wird ein Wert von 8,9% nach fünf Jahren angegeben [27]. Für die allogene Transplantation geben Curtis et al. eine Inzidenz von 2,2% nach zehn Jahren bzw. 6,7% nach 15 Jahren für solide Tumoren an [26].

1.4 Richtlinien

Blutstammzellpräparate gelten nach § 2 Abs. 1 Arzneimittelgesetz (AMG) als Arzneimittel [1]. Neben den gesetzlichen Vorschriften existieren Richtlinien für die Herstellung, Lagerung und Verwendung von Stammzellprodukten, die von der *European Group for Blood and Marrow Transplantation* herausgegeben wurden.

Im Jahre 1979 wurde die *European Foundation for Bone Marrow Transplantation* (EBMT) von verschiedenen europäischen Teams gegründet, um den Wissenstransfer zwischen den verschiedenen Gruppen zu erleichtern, Probleme zu lösen und neue Behandlungsprotokolle zu erstellen. Nach verschiedenen Erweiterungen ging aus ihr schließlich 1995 die *European Group for Blood and Marrow Transplantation* (EBMT) hervor, in der inzwischen nahezu 400 Transplantationseinheiten organisiert sind.

Zu den Aufgaben der EBMT gehört die Auswertung der durch die Teams erfaßten Daten über durchgeführte Transplantationen, die Koordination der verschiedenen Arbeitsgruppen und die Herausgabe von Richtlinien in Bezug auf besondere Voraussetzungen, die Zentren, die Stammzelltransplantationen oder Knochenmarktransplantationen durchführen, erfüllen sollten:

Dazu gehören die räumlichen Voraussetzungen zur Isolation der Patienten während der immunsupprimierten Phase und die technische Ausstattung mit den Geräten zur Kollektionierung, Stammzellpräparation, Kryokonservierung und Qualitätskontrolle.

Der Leiter des Zentrums sollte nach den Empfehlungen der EBMT ein Facharzt für Innere Medizin oder Kinderheilkunde mit Zusatzqualifikation in den Bereichen Hämatologie oder Onkologie sein. Weiterhin ist erforderlich, daß das ärztliche und pflegerische Personal Erfahrungen im Umgang mit immunsupprimierten Patienten hat.

Die Transplantationseinheit sollte in eine größere Klinik eingebunden sein, da dort die interdisziplinäre Unterstützung durch andere Fachrichtungen und Einrichtungen gewähr-

leistet ist. Wichtig ist die Möglichkeit der zeitnahen optimalen mikrobiologischen Diagnostik zur Qualitätskontrolle und bei der Patientenbehandlung. Weiterhin sollten Untersuchungen der klinischen Chemie und alle radiologischen Untersuchungsmethoden durchgehend verfügbar sein. Gleiches gilt für die Blutbank, die in der Lage sein sollte, HLA-kompatible, CMV negative und bestrahlte Blutprodukte bereitzustellen.

Die regelmäßigen Nachuntersuchungen der Patienten sollten - wenn möglich - im Transplantationszentrum selbst durchgeführt und die erhobenen Daten computergestützt erfaßt werden, so daß statistische Analysen zur regelmäßigen Qualitätskontrolle durchgeführt werden können. Weiterhin können die Daten auf diese Weise an eine nationale oder internationale Datenbank, z.B. an die EBMT oder an die *International Bone Marrow Transplantation Registry* (IBMTR) weitergeleitet werden [52].

In Tabelle 1-3 sind die Empfehlungen der EBMT zur Indikationsstellung der autologen Stammzelltransplantation aus dem Jahre 1998 aufgeführt.

Als nationales Organ zur Registrierung von Stammzelltransplantationen in Deutschland wurde 1998 das *Deutsche Register für Stammzelltransplantationen* (DRST) gegründet, dessen erfaßte Daten ebenfalls an die EBMT weitergeleitet werden. Alle in Aachen durchgeführten Transplantationen werden seit 1998 an das DRST gemeldet.

Tabelle 1-3

Angaben der EMBT zur Indikation der autologen PBSCT bei Erwachsenen
[33, 79]

Erkrankung	Remissionsstatus	Empfehlung
ALL	1./2. CR, beginnendes Rezidiv eingetretenes Rezidiv	Routine nicht empfehlenswert
NHL lymphoblastisch hochmaligne niedrigmaligne	wie ALL 1. CR 1. CR, Rezidiv, 2. CR	Routine Routine im Rahmen von Studienprotokollen
M. Hodgkin	1. CR 1. Rezidiv, 2. und 3. CR therapierefraktär	im Rahmen von Studienprotokollen Routine im Rahmen von Pilotstudien
Plasmozytom	Stadium 1 alle anderen Stadien	im Rahmen von Studienprotokollen Routine
Mammakarzinom	adjuvant inflammatorisch	im Rahmen von Studienprotokollen im Rahmen von Studienprotokollen
Keimzelltumoren	therapiesensitives Rezidiv therapierefraktär	Routine im Rahmen von Pilotstudien
Ovarialkarzinom	minimal residual disease therapierefraktär	im Rahmen von Studienprotokollen nicht empfehlenswert
kleinzelliges Bronchialkarzinom	limited disease	im Rahmen von Studienprotokollen

2 Patienten und Methoden

Tabelle 2-1

Patientenübersicht

Pat.Nr.	Geschlecht	Alter	Diagnose	rfÜ Tage	ÜLZ Tage	Status am 30.06.01
1	männlich	42	zentroblastisch-zentrozytisches NHL	1348	2256	kein Kontakt
2	männlich	51	kleinzelliges Bronchialkarzinom	106	288	verstorben
3	männlich	23	Chorionkarzinom des Hodens	-	781	verstorben
4	männlich	46	Morbus Hodgkin vom Mischtyp	941	941	kein Kontakt
5	männlich	32	Chorionkarzinom des Hodens	90	393	verstorben
6	männlich	27	zentroblastisches NHL	-	13	kein Kontakt
7	weiblich	41	zentroblastisch-zentrozytisches NHL	260	1083	verstorben
8	männlich	60	zentroblastisches NHL	268	413	kein Kontakt
9	weiblich	44	zentroblastisch-zentrozytisches NHL	1856	1856	kein Kontakt
10	weiblich	24	Osteosarkom des Femurs	344	615	verstorben
11	männlich	24	lymphoblastisches NHL	-	87	verstorben
12	männlich	54	zentroblastisches NHL	255	749	kein Kontakt
13	weiblich	46	Lymphogranulomatosis X	-	141	verstorben
14	weiblich	18	großzellig anaplastisches (Ki 1) NHL	1157	1514	kein Kontakt
15	weiblich	30	lobuläres Mammakarzinom	1463	1463	kein Kontakt
16	weiblich	31	Hämangioperizytom	-	21	kein Kontakt
17	männlich	31	M. Hodgkin vom lymphozytenreichen Typ	954	954	kein Kontakt
18	männlich	28	hochmalignes NHL	-	1681	keine CR post Tx
19	weiblich	59	zentroblastisches Lymphom	-	458	verstorben
20	männlich	58	Ependymom	-	12	verstorben
21	männlich	62	Burkitt-Lymphom des Hodens	65	81	verstorben
22	weiblich	41	zentroblastisch-zentrozytisches NHL	842	2035	Rezidiv
23	weiblich	19	zentroblastisches NHL	-	40	verstorben
24	weiblich	12	Ependymom	26	26	kein Kontakt
25	weiblich	54	sekundär zentroblastisches NHL	-	1905	keine CR post Tx
26	männlich	52	niedrigmalignes NHL	901	901	verstorben
27	weiblich	35	inflammatorisches Mammakarzinom	94	94	kein Kontakt
28	männlich	33	ALL	247	247	kein Kontakt
29	männlich	25	ALL	34	56	verstorben
30	männlich	18	ALL	-	106	verstorben
31	männlich	53	Plasmozytom	797	1099	kein Kontakt
32	weiblich	31	Mammakarzinom	1358	1358	lebt rezidivfrei
33	weiblich	50	Plasmozytom	1060	1723	Rezidiv
34	weiblich	44	Mammakarzinom	50	50	verstorben
35	männlich	13	M. Hodgkin vom nodulär-sklerosierenden Typ	375	527	kein Kontakt
36	weiblich	43	großzellig anaplastisches (Ki 1) NHL	1554	1554	lebt rezidivfrei
37	männlich	47	zentroblastisches NHL	428	1471	Rezidiv
38	männlich	30	duktales Mammakarzinom	124	124	kein Kontakt
39	männlich	58	Plasmozytom	186	734	verstorben
40	männlich	32	hochmalignes NHL	-	50	verstorben

rfÜ = rezidivfreie Überlebenszeit ('-' = keine komplette Remission nach Transplantation)

ÜLZ = Überlebenszeit

Tabelle 2-1 Fortsetzung

Pat.Nr.	Geschlecht	Alter	Diagnose	rfÜ Tage	ÜLZ Tage	Status am 30.06.01
41	männlich	42	zentroblastisch-zentrozytisches NHL	1452	1452	lebt rezidivfrei
42	weiblich	56	zentroblastisches NHL	-	144	verstorben
43	männlich	62	Plasmozytom	383	971	Rezidiv
44	weiblich	33	M. Hodgkin vom nodulär sklerosierenden Typ	1331	1331	lebt rezidivfrei
45	männlich	58	zentroblastisch-zentrozytisches NHL	343	827	Rezidiv
46	männlich	35	ISH-Lymphom	1312	1312	lebt rezidivfrei
47	weiblich	56	sekundär zentroblastisches NHL	-	325	verstorben
48	weiblich	40	Plasmozytom	1231	1231	lebt rezidivfrei
49	männlich	58	Plasmozytom	1180	1180	lebt rezidivfrei
50	männlich	59	Plasmozytom	502	1178	Rezidiv
51	männlich	34	zentroblastisch-zentrozytisches NHL	1135	1135	lebt rezidivfrei
52	weiblich	44	Mammakarzinom	1124	1124	lebt rezidivfrei
53	weiblich	47	Plasmozytom	1114	1114	lebt rezidivfrei
54	männlich	66	Plasmozytom	1097	1114	Rezidiv
55	weiblich	54	zentroblastisches NHL	-	1020	keine CR post Tx
56	männlich	62	zentroblastisches NHL	-	988	keine CR post Tx
57	männlich	58	zentroblastisches NHL	-	33	verstorben
58	männlich	67	Plasmozytom	586	841	Rezidiv
59	weiblich	56	niedrigmalignes NHL	-	950	keine CR post Tx

rfÜ = rezidivfreie Überlebenszeit ('-' = keine komplette Remission nach Transplantation)

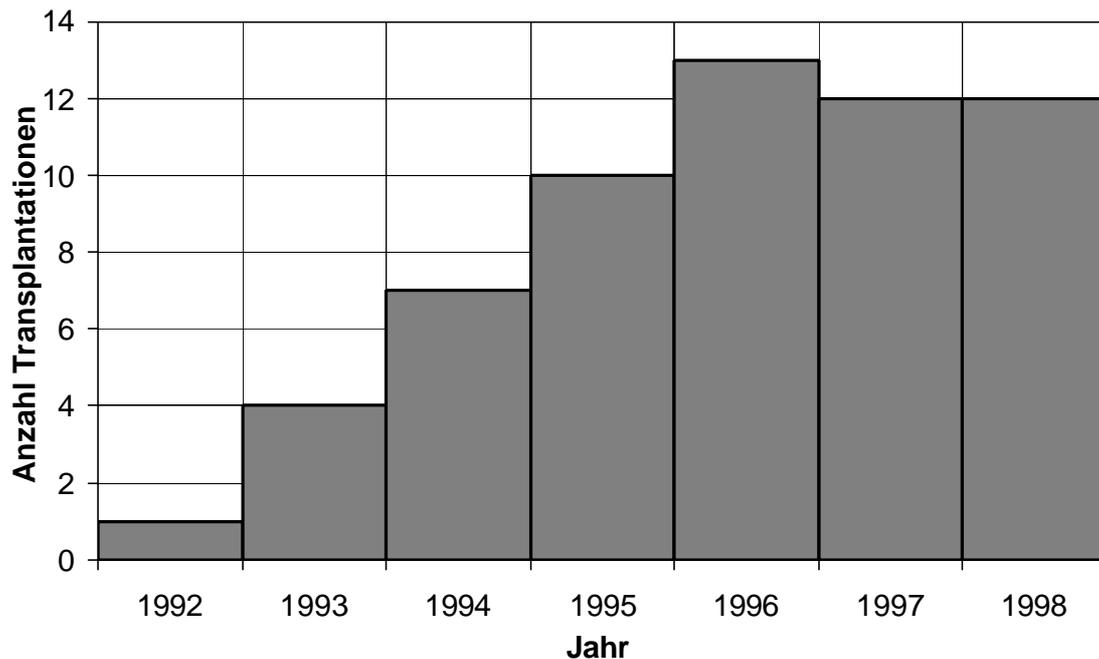
ÜLZ = Überlebenszeit

Ausgewertet wurden alle Patienten, bei denen eine myeloablative Hochdosis-Chemotherapie mit anschließender autologer Stammzelltransplantation bis zum 31.12.1998 in der Medizinischen Klinik IV des Universitätsklinikums der RWTH-Aachen durchgeführt wurde. Bei Behandlungsprotokollen mit mehreren sequentiellen Hochdosis- und Transplantationskursen fand hier jeweils nur die erste Transplantation Berücksichtigung. Die Auswertung der klinischen Daten endete am 30.06.2001.

2.1 Indikationsstellung zur autologen Blutstammzelltransplantation

Abbildung 2-1

Anzahl durchgeführter Transplantationen



n = 59

Die Hochdosis-Chemotherapie mit anschließender autologer Stammzelltransplantation wird bei einer Reihe von Erkrankungen eingesetzt. Eine Übersicht über die z.Zt. von der *European Group for Blood and Marrow Transplantation* empfohlenen Indikationen gibt die Tabelle 1-3 in Abschnitt 1.4.

Von den insgesamt 59 in Aachen transplantierten Patienten waren 25 weiblich und 34 männlich. Das mittlere Alter bei Transplantation betrug 44 Jahre (Median). Der jüngste Patient war zum Zeitpunkt der Transplantation 12 Jahre, der älteste Patient 67 Jahre alt. Nach den aktuellen Empfehlungen der EBMT aus dem Jahre 1998 wird als Altersgrenze

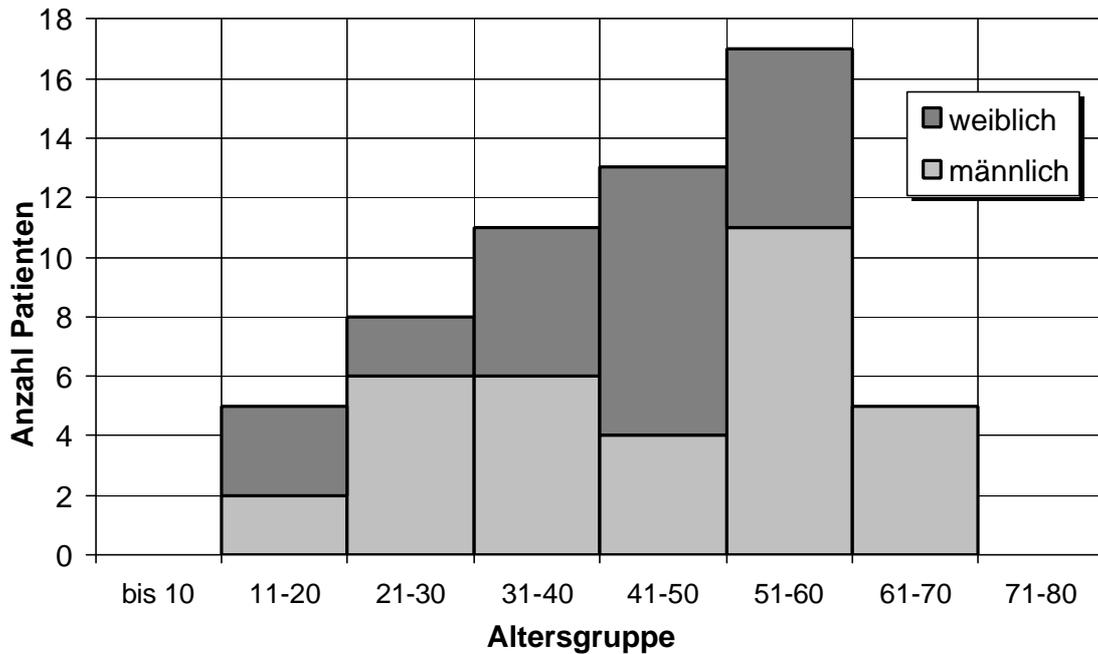
für eine autologe Stammzelltransplantation ein Lebensalter von etwa 65 Jahren angesehen [33].

Im Verlauf der Jahre wurden die Altersgrenzen für eine Transplantation immer mehr ausgedehnt. Faßt man jeweils die Jahre '92/'93, '94/'95 und '96/'97 zusammen, so war der jüngste Patient entsprechend 23, 18 bzw. 12 Jahre alt, während das Alter des ältesten Patienten zum Zeitpunkt der Transplantation in den jeweiligen Jahren 51, 62 bzw. 62 Jahre betrug.

2.2 Beschreibung des Krankengutes

Abbildung 2-2

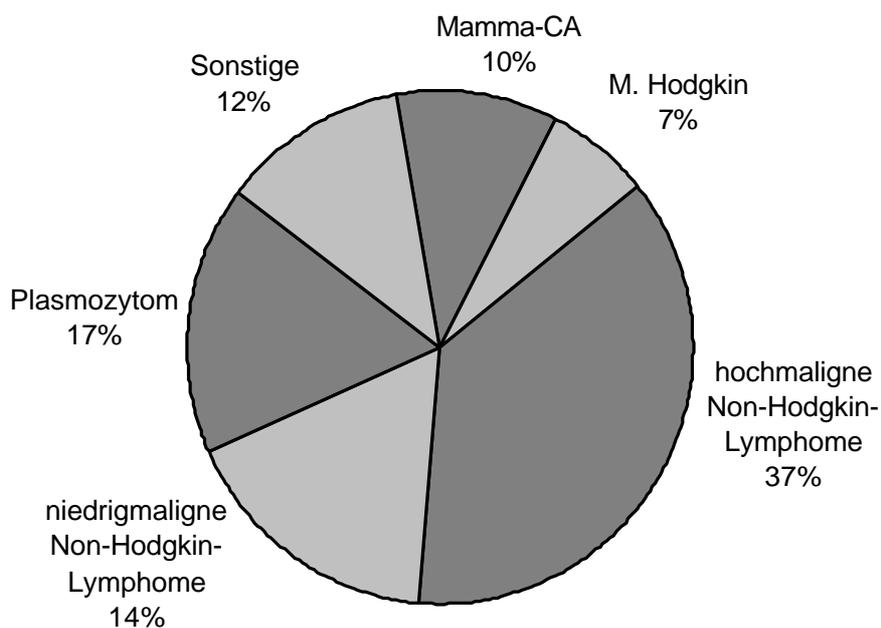
Alter der Patienten bei Transplantation



n = 59

Abbildung 2-3

Verteilung der Diagnosen



n = 59

Bei den 59 Patienten lagen verschiedene Diagnosen zugrunde. Die größte Gruppe an Erkrankungen stellten mit insgesamt 36 Patienten die malignen Lymphome dar (22 hochmaligne NHL, 10 niedrigmaligne NHL, 4 M. Hodgkin). Hinzu kamen 6 Mammakarzinome, 10 Plasmazytome und 7 sonstige Diagnosen.

2.2.1 Hochmaligne Non-Hodgkin-Lymphome

Tabelle 2-2
Hochmaligne NHL

Anzahl	Subtyp
12	Zentroblastisches Lymphom
3	ALL
2	Anaplastisches großzelliges Lymphom
1	Angioimmunoblastisches Lymphom
1	B-lymphoblastisches Lymphom
1	Burkitt Lymphom
2	nicht näher bestimmbar

Die Behandlung von hochmalignen Non-Hodgkin-Lymphomen durch die autologe Stammzelltransplantation erfolgt europaweit. Nach einer Auswertung der der European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) gemeldeten Transplantationen wird die autologe Stammzelltransplantation routinemäßig in erster kompletter Remission durchgeführt [33, 79].

In der Medizinischen Klinik IV des Aachener Universitätsklinikums wurden 22 Patienten mit hochmalignen Non-Hodgkin-Lymphomen transplantiert. Die Verteilung der Subtypen zeigt Tabelle 2-2.

Bei insgesamt 16 Patienten konnte durch vorangegangene konventionelle Chemotherapien keine komplette Remission erreicht werden, bei drei Patienten (Pat.Nr. 37, 47 und 55) handelte es sich dabei um sekundär hochmaligne NHL mit Persistenz des niedrigmalignen

Anteils. In erster kompletter Remission befanden sich zum Zeitpunkt der Transplantation zwei Patienten (Pat.Nr. 8 und 14), in zweiter kompletter Remission weitere vier Patienten (Pat.Nr. 12, 21, 28 und 29). Bei zwei Patienten (Pat.Nr. 19 und 23) im ersten Rezidiv kam es zu einem Progreß der Erkrankung unter konventioneller Chemotherapie, so daß eine autologe Stammzelltransplantation durchgeführt wurde. Insgesamt drei Patienten (Pat.Nr. 11, 30 und 57) erhielten eine Hochdosis-Chemotherapie im zweiten Rezidiv ihrer Erkrankung.

2.2.2 Niedrigmaligne Non-Hodgkin-Lymphome

Unter den zehn niedrigmalignen Non-Hodgkin-Lymphomen waren sieben zentroblastisch-zentrozytische und ein NHL vom unreifen Sinushistiozytose Typ (ISH-Lymphom). Die genaue Histologie von zwei niedrigmalignen NHL war nicht näher klassifizierbar.

Die Transplantation bei niedrigmalignen Non-Hodgkin-Lymphomen sollte laut EBMT im Rahmen klinischer Studienprotokolle durchgeführt werden, da die Überlegenheit gegenüber der konventionellen Therapie bisher nicht eindeutig nachgewiesen werden konnte [33, 79].

2.2.3 M. Hodgkin

Bei den vier transplantierten Patienten mit Hodgkin-Lymphomen lag bei einem Patienten ein M. Hodgkin vom Mischtyp (Stadium IV B, Pat.Nr. 4), bei einem eine lymphozytenreiche (Stadium IV B, Pat.Nr. 17) und bei zwei Patienten eine nodulär-sklerosierende (Stadium II A bzw. III A, Pat.Nr. 35 und 44) Form vor.

Die Empfehlungen der EBMT beinhalten eine Transplantation im ersten Rezidiv oder in nachfolgenden Remissionen [33, 79]. Ob eine Konsolidierung durch Transplantation in erster kompletter Remission bei M. Hodgkin sinnvoll ist, ist noch Gegenstand von weiteren Studien.

2.2.4 Plasmozytome

Unter den 59 Patienten befanden sich insgesamt 10 mit der Diagnose eines Plasmozytoms (7 im Stadium III A, 3 im Stadium III B nach Salmon und Durie). Die autologe Stammzelltransplantation kann laut EBMT und anderen Studien in allen Krankheitsstadien dazu beitragen, die rezidivfreie Zeit und die Überlebenszeit zu verlängern - eine definitive Heilung kann zur Zeit jedoch auch durch eine Hochdosis-Chemotherapie nicht erreicht werden [4, 33, 79].

2.2.5 Solide Tumoren / sonstige Malignome

Die größte Gruppe der soliden Tumoren stellen die Mammakarzinome mit einer Anzahl von insgesamt 6 dar, wovon eines bei einem 30jährigen Mann aufgetreten ist (Pat.Nr. 38). Nach Empfehlungen der EBMT von 1998 kann eine adjuvante Stammzelltransplantation in kompletter Remission durchgeführt werden, wenn mehr als acht befallene Lymphknoten festgestellt wurden [33, 79].

Weitere Transplantationen wurden durchgeführt bei einem Fall von einem Hämangioperizytom (Stadium IV), einem Osteosarkom (Stadium IV), zwei Ependymomen (jeweils WHO-Grad III), zwei Chorionkarzinomen des Hodens (jeweils Stadium IV) und bei einem kleinzelligen Bronchialkarzinom im Stadium Extensive-Disease II.

2.3 Vorbehandlung der Patienten

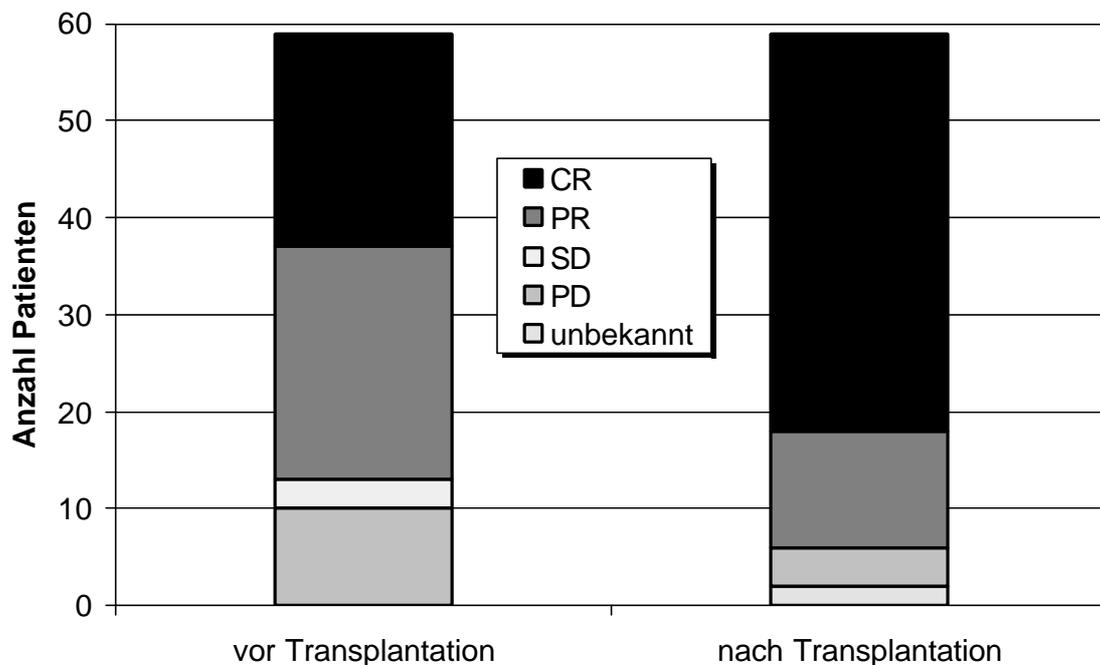
Die Patienten wurden vor der Hochdosis-Chemotherapie mit anschließender autologer Stammzelltransplantation bereits durch konventionelle Chemotherapie, Operation oder Radiatio behandelt.

Das Ansprechen eines Tumorleidens auf eine Therapie kann allgemein durch folgende Begriffe beschrieben werden: Eine komplette Remission (engl: complete remission, CR) wird erreicht durch das vollständige Verschwinden aller klinisch nachweisbaren Tumormparameter. Wird nur eine Tumorreduktion erreicht, die aber mindestens 50% der Tumorausdehnung vor der Therapie umfaßt, so spricht man von einer partiellen Remission (engl: partial remission, PR). Schreitet die Tumorausdehnung trotz der Therapie um mehr als 25% fort, so spricht man von einem Progredienz (engl: progressive disease, PD). Wird weder eine Reduktion von mehr als 50% erreicht, noch liegt eine Zunahme von mehr als 25% vor, so spricht man von keiner Änderung (engl: stable disease, SD).

Die Verteilung der Remissionsstadien unmittelbar vor Hochdosis-Chemotherapie zeigt die

Abbildung 2-4

Remissionsstatus vor und in erster Verlaufskontrolle nach Transplantation



n = 59

Abbildung 2-4. Bei 22 Patienten war bereits vor der Hochdosis-Chemotherapie keine Tumormanifestation mehr klinisch nachweisbar. Die Behandlung zielte hier auf eine Verringerung des Rezidivrisikos ab.

Etwa sechs Wochen bis drei Monate nach der Transplantation wird jeder Patient erneut stationär aufgenommen. Im Rahmen dieses Aufenthaltes wird ein Staging der Tumorerkrankung durchgeführt, um Aussagen über das Ansprechen auf die Therapie treffen zu können. Die durchgeführte Diagnostik beinhaltet je nach zugrundeliegender Erkrankung radiologische Untersuchungen wie die Durchführung von Computertomographien, serologische Untersuchungen z.B. von Tumormarkern, histologische Begutachtung von Beckenkammbiopsien und nuklearmedizinische Untersuchungen wie die Positronenemissionstomographie. Für die PET konnten Cremerius et al. eine signifikante prognostische Relevanz bei malignen Lymphomen nachweisen und empfehlen eine Durchführung besonders bei einer Persistenz von Residualbefunden [25].

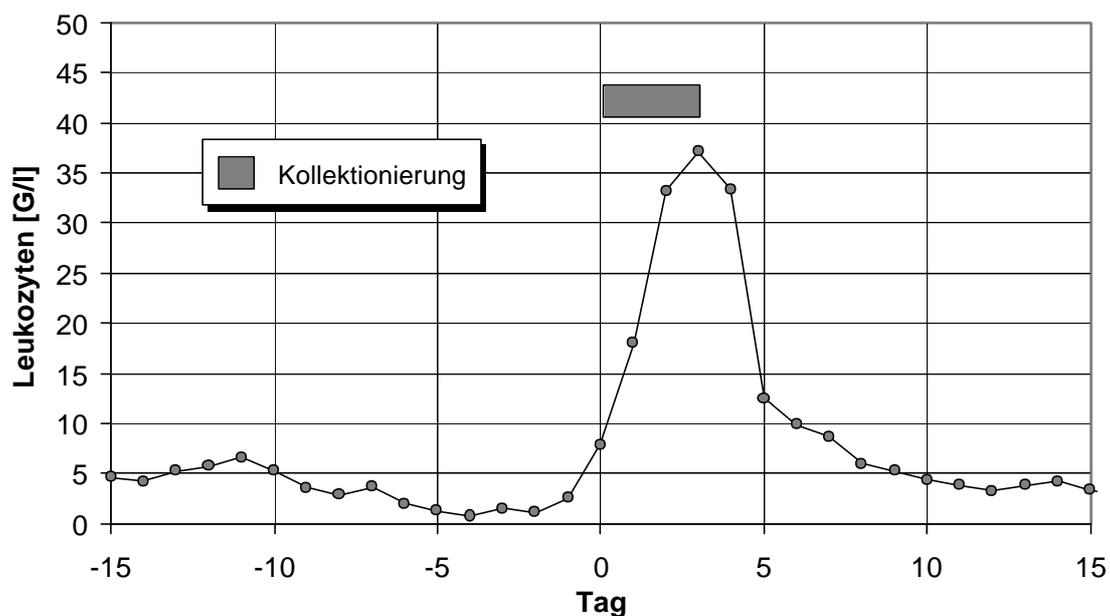
Nach der Hochdosis-Chemotherapie war bei 16 Patienten noch eine Tumormanifestation nachweisbar, 41 Patienten befanden sich in kompletter Remission. Da die Nachkontrollen nach der Transplantation bei einigen Patienten von anderen Kliniken - z.T. auch im Ausland - übernommen wurden, ist der Remissionsstatus von 2 Patienten nicht mehr zu ermitteln.

2.4 Kollektionierung

Um eine ausreichende Anzahl zirkulierender Stammzellen zu erreichen, wird eine Kombination aus Chemotherapie und anschließende Gabe von Wachstumsfaktoren (G-CSF) angewendet.

In Abbildung 2-5 ist der Median der Leukozytenwerte von 36 Patienten während der Kollektionierungsphase dargestellt, von denen die entsprechenden Daten zur Verfügung standen. In den folgenden Abschnitten werden exemplarisch die Werte bei Kollektionierung und immunologischer Aufreinigung der Kollektate eines Patienten (Pat.Nr. 43, vgl. auch Tabelle 2-1) dargestellt. Die Abbildung 2-6 zeigt den Verlauf der Leukozytenwerte dieses Patienten während der Kollektionierungsphase.

Abbildung 2-5
Verlauf des Medians der Leukozytenwerte



n = 36

In den ersten Tagen nach der Chemotherapie kommt es zu einem vorübergehenden Abfall der Leukozytenwerte. Durch die anschließende Gabe von G-CSF ab dem 8. Tag nach Chemotherapie tritt eine rasche und überschießende Erholung auf, bei der besonders sonst nur im Knochenmark vorhandene unreife Vorläuferzellen des hämatopoetischen Systems ausgeschwemmt werden. Bei dem hier genannten Patienten erreichten die Konzentrationen

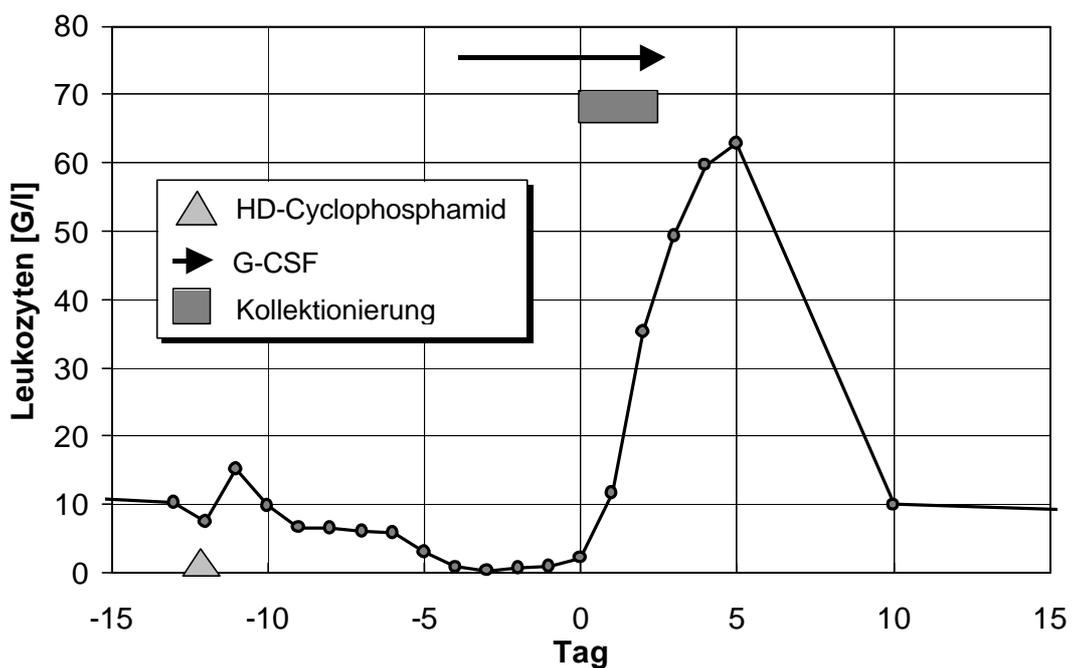
von CD34⁺-Zellen im Blut an den vier Tagen der Kollektionierung Werte bis fast 200 pro μl .

Die hohe Konzentration an Stammzellen hält jedoch nur wenige Tage an, so daß in dieser Zeit die Kollektionierung möglichst intensiv durchgeführt werden sollte.

Die Patienten erhielten dazu einen doppellumigen Shaldon-Katheter, der genügend hohe Flußraten erlaubt. Für die Stammzellseparation wurde entweder ein CS-3000 oder ein CS-3000 PLUS Blutzellseparator (BAXTER/FENWAL) verwendet.

Abbildung 2-6

Exemplarischer Verlauf der Leukozytenwerte bei Kollektionierung (Pat.Nr. 43)



Nach jedem Separationsdurchgang wurde u.a. die Anzahl der Leukozyten (Cobas Minos STE, Roche Diagnostica), die Anzahl der Lymphozyten und die Anzahl CD34⁺-Zellen im Kollektat bestimmt (Coulter Epics XL, Coulter Electronics Inc.; CD34-Antikörper von Becton Dickinson GmbH).

Bei dem o.g. Patienten wurde an vier Tagen in jeweils zwei Durchgängen kollektioniert. Das Durchlaufvolumen bei der Zytapherese betrug insgesamt 56,0 Liter bei einer Flußrate von 68ml/min, dabei wurden $58.300,0 \times 10^6$ Leukozyten kollektioniert, darunter $3.267,6 \times 10^6$ CD34⁺-Zellen. Bei einem Körpergewicht des Patienten von 94kg zum Zeitpunkt der Kollektionierung entsprechen diese ca. 35×10^6 CD34⁺-Zellen pro kg. Die empfehlende Mindestmenge für eine Transplantation wurde somit weit überschritten. In diesen Fällen bietet sich an, bei der Transplantation nur einen Teil der Stammzellen zu verwenden, um evtl. für später weitere nötige Transplantationen auf diese Reserve zurückgreifen zu können.

Während der Kollektionierung von Stammzellen aus dem peripheren Blut können jedoch auch eine Reihe von Komplikationen auftreten. Bei bis zu 10% der Patienten tritt ein thrombotischer Verschuß des zentralvenösen Katheters auf, der eine Entfernung des Katheters nötig macht. Auch thrombotische Verschlüsse der Venen, in denen der Katheter liegt, werden regelmäßig beobachtet [23, 39]. Weiterhin stellt der zentralvenöse Katheter eine Eintrittspforte für Bakterien dar, wodurch es in bis zu 14% der Fälle durch den Katheter zu Bakteriämien kommen kann [39].

2.5 Immunologische Aufreinigung

Als „Purging“ werden Verfahren der in-vitro Behandlung von Kollektaten bezeichnet, die zu einer geringeren Tumorzellkontamination führen sollen.

Liegt bei Diagnosestellung der Tumorerkrankung eine Knochenmarkbeteiligung oder eine Ausschwemmung von Tumorzellen in das Blut vor, ist eine Kontamination des Kollektates durch Tumorzellen - auch bei erst später durchgeführter Kollektionierung - nicht auszuschließen. Diese Tumorzellen können die Zeit bis zu einem Rezidiv verkürzen

oder bei sonst durch die Hochdosis-Chemotherapie tumorfreien Patienten erst ein Rezidiv hervorrufen.

Eine Möglichkeit, die Tumorzellkontamination eines Kollektates zu vermindern, bietet die in-vitro Behandlung mit Zytostatika, die die Tumorzellpopulation in größerem Maße schädigt als die im Kollektat enthaltenen Stammzellen („Purging“ im engeren Sinne) [61, 62].

Weitere Aufreinigungsverfahren basieren auf der Anreicherung von Stammzellen anhand des CD34-Oberflächenantigens. In Aachen wurde zu diesem Zweck ein Verfahren der Firma Cellpro eingesetzt. Gleichzeitig wird auch die Anzahl anderer im Kollektat enthaltenen Zellen wie z.B. Lymphozyten vermindert, dabei muß jedoch an die Möglichkeit einer längerfristigen Immunsuppression des Rezipienten durch Lymphozytendepletion gedacht werden [62].

In Aachen wurde bei 17 Patienten eine immunologische Aufreinigung mittels des CEPRATE SC Systems (Fa. Cellpro) durchgeführt.

Das Kollektat wird zunächst mehrfach mit einer Lösung (phosphate-buffered-saline = PBS) gewaschen und nach Zugabe von 500µl 20% Humanalbumin pro 100ml Kollektat mit biotinylierten Antikörpern inkubiert, die gegen das CD34-Antigen gerichtet sind. Nach Abschluß der 25minütigen Inkubationszeit werden die überschüssigen Antikörper durch Waschen in PBS entfernt und die Zellen in 320ml PBS resuspendiert. Der weitere Vorgang wird durch das CEPRATE SC System zu einem großen Teil automatisch durchgeführt: Beim Durchfluß der Zellen durch eine Säule mit avidinbeschichteten Kügelchen werden die durch die Antikörper markierten CD34⁺-Zellen an den Kügelchen gebunden, da Avidin eine hohe Affinität zu den biotinylierten Antikörpern besitzt. Die nicht markierten Zellen fließen ungehindert durch die Säule hindurch (=„Eluat“). Anschließend können die gebundenen CD34⁺-Zellen mechanisch durch Rühren gelöst und aus der Säule

ausgespült werden. Die angereicherten Stammzellen werden erneut in PBS gewaschen und in einer Lösung aus PBS mit 20% Dimethylsulfoxid (DMSO), 4% Humanalbumin und 6 I.E./ml Heparin resuspendiert, so daß sich eine Zellzahl von 20×10^6 /ml ergibt. Das Einfrieren erfolgt direkt nach dem Umfüllen in Einfrierbeutel oder -röhrchen durch das Standard-Einfrierprogramm (vgl. auch Abschnitt 2.6).

Bei dem bereits in den vorangegangenen Abschnitten als Beispiel angeführten Patienten wurde eine immunologische Aufreinigung mit der Ausbeute des dritten Kollektionierungstages durchgeführt: Im Separationsbeutel befanden sich am Ende der Kollektionierung $21.900,0 \times 10^6$ Leukozyten, darunter $1.731,0 \times 10^6$ CD34⁺-Zellen (ca. 8%). Nach dem Waschen, der Inkubation mit den biotinylierten anti-CD34-Antikörpern und dem erneuten Waschen betrug die Menge der Leukozyten vor dem Beginn der eigentlichen immunologischen Aufreinigung $19.520,0 \times 10^6$. Nach der Durchführung fanden sich 476×10^6 Leukozyten, davon $391,4 \times 10^6$ CD34⁺ im Beutel der angereicherten Fraktion. Dies entspricht einem Prozentsatz von nun ca. 82% CD34⁺-Zellen. Obwohl nur ein Teil der insgesamt kollektionierten Zellzahl verwendet wurde und trotz der Verluste durch die Aufreinigung blieben noch $4,16 \times 10^6$ CD34⁺-Zellen pro kg, legt man das Körpergewicht bei Kollektionierung zugrunde.

Der Anteil der CD34⁺-Zellen an der Gesamtleukozytenanzahl im Kollektat betrug bei den transplantierten Kollektaten nach der immunologischen Aufreinigung (insgesamt 15 Kollektate) im Mittel aller Patienten 68,15%. In den Kollektaten ohne immunologische Aufreinigung (42 Kollektate) lag der Anteil im Mittel nur bei 3,03%. Bei 2 Patienten wurde ein Gemisch aus Kollektaten mit und ohne immunologische Aufreinigung transplantiert.

In einer multizentrischen Phase III-Studie wurde bei insgesamt 131 Patienten mit Plasmom der Einfluß einer immunologischen Aufreinigung mit dem CEPRATE SC System auf die Tumorkontamination des Kollektates und das Engraftment nach Transplantation untersucht. Vescio et al. fanden durch die immunologische Aufreinigung eine Reduktion der im Kollektat enthaltenen Tumorzellen um im Median 3,10 (1,56 - 6,02) log-Einheiten, konnten jedoch keinen Einfluß auf die Rezidivhäufigkeit nach Transplantation nachweisen. Die immunologische Aufreinigung verlängerte jedoch signifikant die Zeit bis zur Rekonstitution der Thrombopoese von 10 (Kollektate ohne immunologische Aufreinigung) auf 11 (Kollektate mit immunologischer Aufreinigung) Tage ($p < 0,01$), während die Zeit bis zum Erreichen eines Leukozytenwertes von über 0,5 G/l unbeeinflusst blieb. Die Verlängerung wurde auf die im Median kleinere Gesamtzahl an CD34⁺-Zellen zurückgeführt, die die Patienten erhielten, bei denen eine immunologische Aufreinigung der Kollektate durchgeführt wurde [88].

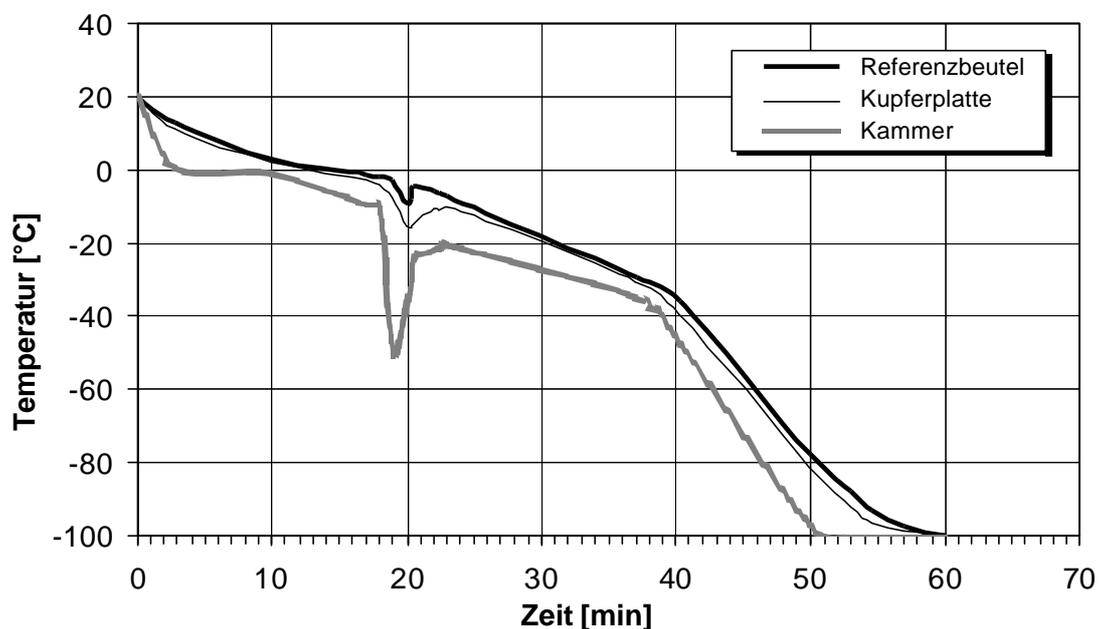
Mit der Anwendung der immunologischen Aufreinigung müssen also auch einige Nachteile beachtet werden. Gleichzeitig mit der Reduktion der Tumorzellkontamination kommt es auch zu einer Abnahme der absoluten Stammzellzahl, die zu einer verspäteten Rekonstitution der Hämatopoese führen kann. Außerdem kann durch die in-vitro Manipulation trotz aller Vorsichtsmaßnahmen eine bakterielle Kontamination des Kollektates auftreten, die bei der späteren Transplantation zu Komplikationen führen kann [62].

2.6 Kryokonservierung

Je 50ml Kollektat werden mit 40ml Plasma und 10ml DMSO als Kryoprotektivum aufgefüllt und in 100ml fassende Einfrierbeutel (Baxter) überführt. Der Einfriervorgang findet unter kontrollierten Temperaturbedingungen durch eine computergesteuerte Einfrieranlage (BV-25 Biological Freezer, Cryoson) statt. Der Kryokonservierungsbeutel befindet sich dazu zwischen zwei 6mm starken Kupferplatten. Damit wird zum einen eine gleichmäßige Dicke des Beutels, zum anderen eine verbesserte Wärmeleitung vom Beutel zur Einfrierkammer erreicht.

Abbildung 2-7

Beispielhafter Temperaturverlauf bei der Kryokonservierung



Die Temperatur der Kammer (gepunktete Linie, siehe Abbildung 2-7) wird zunächst innerhalb der ersten zwei Minuten auf 0°C reduziert und dort für 10 Minuten gehalten und dann gleichmäßig innerhalb von weiteren 9 Minuten auf -10°C reduziert. Die Temperatur

des Kollektates selbst kann dabei nicht direkt gemessen werden, es wird jedoch die Temperatur eines mit Plasma gefüllten Referenzbeutels gemessen (dicke ausgezogene Linie).

Sie folgt der Temperatur der Kammer und der Kupferplatten jedoch nicht direkt, sondern sinkt in den ersten 18 Minuten relativ gleichmäßig auf einen Wert knapp oberhalb des Gefrierpunktes. In der 19. Minute sinkt die Kammertemperatur dann sehr schnell auf -50°C , um dann innerhalb der nächsten 4-5 Minuten wieder auf -20°C zu steigen. In dieser Zeitspanne unterschreitet die Temperatur des Kollektates den Gefrierpunkt, und es wird schnell auf etwa -10°C abgekühlt. Die dabei entstehende Kristallisationswärme erwärmt das Kollektat dann wieder um einige Grad. Durch die vorherige rasche Abkühlung wird jedoch der Schmelzpunkt nicht wieder erreicht. Dies führt zu einer gleichmäßigen und für das Kollektat schonenden Kristallisation. Im Anschluß an diese für den Einfriervorgang kritische Phase wird das Kollektat dann in weiteren 15 Minuten auf -30°C und dann auf -100°C abgekühlt, die es nach ca. einer Stunde erreicht. Anschließend wird das Kollektat bei ca. -180°C in der Gasphase von flüssigem Stickstoff gelagert. Zwischen Kollektionierung und Transplantation lagen bei den in Aachen transplantierten Patienten im Median 2 (1 - 13) Monate, in denen die Zellen bei ca. -180°C gelagert wurden.

2.7 Hochdosis Chemotherapie und Transplantation

2.7.1 Durchführung

2.7.1.1 Hochdosis-Chemotherapie

Zur Konditionierung der Patienten vor der Transplantation werden je nach zugrundeliegender Diagnose verschiedene Chemotherapieprotokolle eingesetzt, die im Rahmen von internationalen Studien entwickelt und optimiert wurden. Für ein optimales Ergebnis

sind nicht nur Art und Dosierung der verwendeten Zytostatika, sondern auch die zeitliche Abfolge der Verabreichung wichtig.

Folgende Chemotherapieschemata wurden verwendet:

CBV-Schema

Tabelle 2-3
Applizierte Zytostatikadosen

Tag	Zytostatikum	Dosis
-5	Etoposid	150mg/m ²
	Cyclophosphamid	1500mg/m ²
	BCNU	300mg/m ²
	Etoposid	150mg/m ²
-4	Etoposid	150mg/m ²
	Cyclophosphamid	1500mg/m ²
	Etoposid	150mg/m ²
-3	Etoposid	150mg/m ²
	Cyclophosphamid	1500mg/m ²
	Etoposid	150mg/m ²
-2	Cyclophosphamid	1500mg/m ²
0	Stammzelltransplantation	

Das CBV-Schema (Cyclophosphamid, BCNU und Etoposid = Yepesid[®]) findet heute bei der Hochdosis-Chemotherapie der malignen Lymphome Verwendung. Bei den Aachener Patienten wurde bei insgesamt 27 Patienten die Hochdosis-Chemotherapie nach diesem Schema durchgeführt. Die Durchführung einer Hochdosis-Chemotherapie nach dem CBV-Schema mit anschließender autologer Stammzelltransplantation wurde bei Kessinger et al. an Patienten mit einem Rezidiv eines M. Hodgkin erstmals beschrieben [49].

BEAM-SchemaTabelle 2-4

Applizierte Gesamtdosen

Zytostatikum	Dosis
BCNU	300mg/m ²
Etoposid	800mg/m ²
Cytarabinosid	1600mg/m ²
Melphalan	140mg/m ²

Das BEAM-Schema (BCNU, Etoposid, Cytarabinosid = Alexan® und Melphalan) wird bei Patienten mit M. Hodgkin eingesetzt. In einer Studie von Linch et. al konnten eine überlegene Wirksamkeit der Hochdosis-BEAM-Chemotherapie mit anschließender autologer Knochenmarktransplantation gegenüber dem niedriger dosierten „Mini-BEAM“ ohne Transplantation für Patienten mit M. Hodgkin nachgewiesen werden [49].

Hochdosis-Melphalan-SchemaTabelle 2-5

Applizierte Zytostatikadosis

Tag	Zytostatikum	Dosis
-2	Melphalan	200mg/m ²
0	Stammzelltransplantation	

Das Standardchemotherapeutikum zur Behandlung des Plasmozytoms ist das Melphalan. Im Rahmen der Hochdosis-Chemotherapie wird es in einer myeloablativ wirkenden Dosis von 200mg/m² Körperoberfläche verwendet. Bei allen in Aachen transplantierten Patienten mit Plasmozytom wurde die Konditionierung nach diesem Schema durchgeführt.

Studienprotokoll der GABG-4/EH-93 Studie

Tabelle 2-6
 Applizierte Zytostatikadosen

Tag	Zytostatikum	Dosis
-6	Cyclophosphamid	1500mg/m ²
	Thiotepa	150mg/m ²
	Mitoxantron	10mg/m ²
-5	Cyclophosphamid	1500mg/m ²
	Thiotepa	150mg/m ²
	Mitoxantron	10mg/m ²
-4	Cyclophosphamid	1500mg/m ²
	Thiotepa	150mg/m ²
	Mitoxantron	10mg/m ²
-3	Cyclophosphamid	1500mg/m ²
	Thiotepa	150mg/m ²
	Mitoxantron	10mg/m ²
0	Stammzelltransplantation	

Alle Patienten mit einem Mammakarzinom wurden nach dem Studienprotokoll der GABG-4/EH-93 Studie behandelt. Ziel der Studie ist die Klärung der Frage, ob eine adjuvante Hochdosis-Chemotherapie bei Patienten mit Hochrisiko-Mammakarzinom sinnvoll ist [97].

ALL-ProtokollTabelle 2-7

Applizierte Gesamtdosen

Tag	Zytostatikum	Dosis
-4	Etoposid	250mg/m ²
	BCNU	300mg/m ²
	Dexamethason	40mg
	Etoposid	250mg/m ²
-3	Etoposid	250mg/m ²
	Dexamethason	40mg
	Etoposid	250mg/m ²
-2	Dexamethason	12mg
-1	Dexamethason	12mg
0	Stammzelltransplantation	
+1	Cyclophosphamid	2000mg/m ²
	Dexamethason	40mg
+2	Dexamethason	20mg

Die Tabelle 2-7 zeigt das für die Hochdosis-Chemotherapie der akuten lymphatischen Leukämie bei den drei Patienten mit ALL eingesetzte Schema.

Sonstige

Insgesamt fünf Patienten mit soliden Tumoren wurden mit einer Hochdosis-Chemotherapie mit den Substanzen Cyclophosphamid, Etoposid bzw. Teniposid und Carboplatin behandelt. Die Tabelle 2-8 zeigt die jeweils applizierten Gesamtdosen während der Konditionierung.

Tabelle 2-8

Applizierte Gesamtdosen

Pat.Nr.	Diagnose	Cyclophosphamid	Etoposid	Carboplatin
2	Kleinzelliges Bronchialkarzinom	10000mg	1000mg	2000mg
3	Chorionkarzinom des Hodens	4000mg	600mg	1000mg
5	Chorionkarzinom des Hodens	14400mg	*900mg	1200mg
10	Osteosarkom	6000mg	1200mg	1500mg
16	Hämangioperizytom	6000mg	1200mg	2100mg

* Teniposid statt Etoposid

Die zwei Patienten mit der Diagnose eines Ependymoms erhielten im Rahmen der Konditionierung insgesamt 1000mg Carboplatin und 300mg BCNU (Pat.Nr. 20) bzw. 1460mg Carboplatin, 990mg Thiotepa und 1260mg Etoposid (Pat.Nr. 24), bei einer Patientin mit zentroblastischem Non-Hodgkin-Lymphom wurden während der Hochdosis-Chemotherapie 320mg Melphalan appliziert (Pat. Nr. 23).

Zur Hochdosis-Chemotherapie gehören eine Reihe weiterer Medikamente zur Prophylaxe und Behandlung der möglichen Nebenwirkungen. Wichtig ist z.B. die Gabe von Mesna bei Cyclophosphamid enthaltenden Therapien, um einer hämorrhagischen Zystitis vorzubeugen. Weiterhin erhalten die Patienten eine Flüssigkeits- und Elektrolytsubstitution, Heparin zur Prophylaxe eines Veno-occlusive Disease der Leber sowie Antiemetika in ausreichender Dosierung.

2.7.1.2 Transplantation

Die Rückgabe (Retransfusion) der kollektionierten Stammzellen erfolgt in einem zeitlichen Abstand von 1-2 Tagen zur letzten Zytostatikagabe abhängig von der jeweiligen Halbwertszeit, um eine Schädigung der Stammzellen zu verhindern. Bei den meisten Patienten wurden alle Zellen an einem Tag retransfundiert, bei insgesamt sechs Patienten

wurde die Rückgabe an zwei (Pat.Nr. 13, 14, 42 und 46) bzw. drei (Pat.Nr. 7 und 12) aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt, um eine zu große Volumenbelastung durch die hohe Anzahl transfundierter Kollektate zu vermeiden. Definitionsgemäß wird jeweils der Tag der ersten Stammzellrückgabe als Tag 0 bezeichnet.

Zur Transplantation werden die Kollektatbeutel aus dem Stickstofftank entnommen und anschließend im Patientenzimmer im Wasserbad innerhalb weniger Minuten auf 37°C erwärmt. Da es sich um ein Blutprodukt handelt, wird in einem Bedside-Test erneut die Blutgruppe des Empfängers sowie die Blutgruppe der im Kollektat enthaltenen Zellen kontrolliert. Anschließend erfolgt die Transfusion des Kollektates über einen zentralen Venenkatheter.

Die Anzahl der Leukozyten (white blood cells, WBC) betrug bei den verabreichten 42 Transplantaten, bei denen keine immunologische Aufreinigung durchgeführt wurde, im Mittel $253,7 \times 10^8$ ($18,8 - 958,8 \times 10^8$), während die 15 Transplantate, bei denen durch vorherige immunologische Aufreinigung eine Anreicherung der CD34⁺-Zellen vorgenommen wurde, im Mittel nur noch $3,5 \times 10^8$ ($2,0 - 5,6 \times 10^8$) Leukozyten enthielten. Bei 2 Patienten wurde ein Gemisch aus Kollektaten mit und ohne immunologische Aufreinigung transplantiert.

Die durchschnittliche absolute Anzahl von CD34⁺-Zellen aller 59 Transplantate betrug $334,0 \times 10^6$ ($70,9 - 1.381,0 \times 10^6$), auf das Körpergewicht des jeweiligen Patienten bezogen ergeben sich $4,8 \times 10^6/\text{kg}$ ($1,1 - 16,2 \times 10^6/\text{kg}$). In der Literatur wird eine Anzahl von mindestens $2,5 \times 10^6$ CD34⁺-Zellen pro kg Körpergewicht für eine schnelle Rekonstitution empfohlen, jedoch kann auch bei transplantierten Zellzahlen von $1,17 - 2,48 \times 10^6$ CD34⁺-Zellen pro kg Körpergewicht eine ausreichende, wenn auch leicht verzögerte Rekonstitution beobachtet werden [94].

Tabelle 2-9

Zellgehalt und immunologische Aufreinigung der transplantierten Kollektate

Pat.Nr.	WBC 10 ⁸	CD34+ 10 ⁶	CD34+/kg 10 ⁶	Purging	Pat.Nr.	WBC 10 ⁸	CD34+ 10 ⁶	CD34+/kg 10 ⁶	Purging
1	191,6	135,6	1,96	-	31	2,7	219,0	3,45	X
2	244,0	1381,0	16,23	-	32	4,4	231,7	2,39	X
3	491,0	247,2	2,98	-	33	139,0	277,5	4,66	-
4	646,0	169,1	2,20	-	34	5,2	288,0	5,15	X
5	186,9	98,4	1,48	-	35	131,0	318,7	7,66	-
6	257,9	742,5	10,44	-	36	2,1	145,2	2,97	X
7	148,6	85,5	1,55	-	37	2,4	185,4	1,96	X
8	249,3	343,8	4,98	-	38	4,6	252,1	2,42	X
9	250,5	149,2	2,28	-	39	150,0	204,2	2,52	-
10	111,4	127,4	1,92	-	40	235,0	452,7	10,73	-
11	139,0	311,0	3,85	-	41	70,9	211,0	2,78	-
12	958,8	258,7	3,27	-	42	131,8	290,2	6,11	-
13	373,7	220,7	4,79	-	43	4,8	391,0	4,07	X
14	286,9	235,0	4,86	-	44	186,7	387,7	6,81	-
15	372,3	958,0	15,09	-	45	760,0	541,7	5,26	-
16	144,0	384,7	5,83	-	46	392,5	317,8	3,97	-
17	198,8	286,2	3,43	-	47	18,8	284,0	4,73	-
18	192,0	511,2	7,20	-	48	2,0	138,6	2,34	X
19	397,5	368,0	4,08	-	49	5,4	426,5	5,80	X
20	449,5	933,4	13,61	-	50	2,6	206,0	2,65	X
21	335,5	451,2	5,23	-	51	5,6	411,4	4,33	X
22	150,6	417,2	5,88	-	52	2,2	126,4	2,47	X
23	125,5	145,0	2,88	-	53	75,6	233,4	3,57	-/X
24	147,2	117,7	2,86	-	54	2,6	190,9	2,33	X
25	22,6	1043,9	14,91	-	55	2,3	154,1	2,23	X
26	234,5	556,8	7,91	-	56	26,1	297,1	3,36	-/X
27	3,4	170,0	1,86	X	57	51,1	194,1	2,54	-
28	242,5	494,9	5,56	-	58	291,0	160,3	1,77	-
29	211,0	476,3	5,77	-	59	148,0	70,9	1,11	-
30	190,0	278,2	4,92	-					

Purging: Kollektate mit (X) und ohne (-) Purging

2.7.2 Verlauf und Komplikationen

2.7.2.1 Hämatologische Rekonstitution (=„Engraftment“)

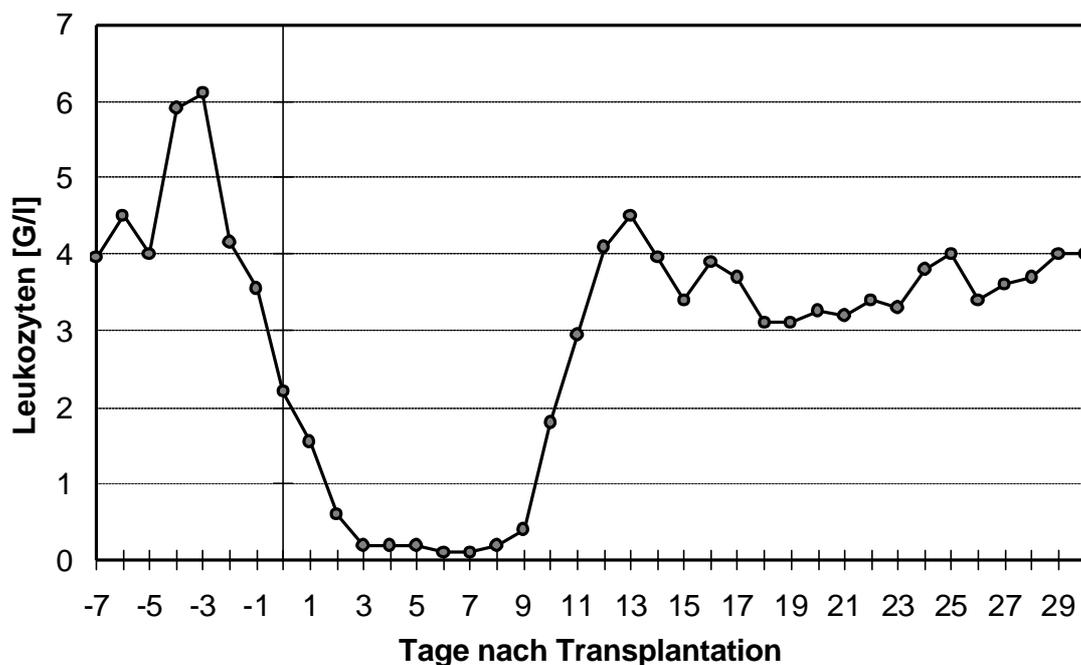
Wie in Kapitel 1.3.6 bereits angesprochen, können im Rahmen einer myeloablativen Hochdosis-Chemotherapie eine Reihe von Komplikationen auftreten. Obligat ist das Auftreten einer Schädigung des blutbildenden Systems. Alle Patienten durchlaufen eine Phase

der Panzytopenie, bis die Blutbildung durch die Transplantation der hämatopoetischen Stammzellen dauerhaft wiederhergestellt werden kann.

Die Abbildung 2-8 zeigt den Verlauf des Medians der Leukozytenwerte aller Patienten. Nach der Hochdosis-Chemotherapie sinkt die Anzahl der Leukozyten im Blut innerhalb weniger Tagen auf Werte unter 0,2 G/l.

Abbildung 2-8

Verlauf der medianen Leukozytenwerte im Rahmen der Blutstammzelltransplantation



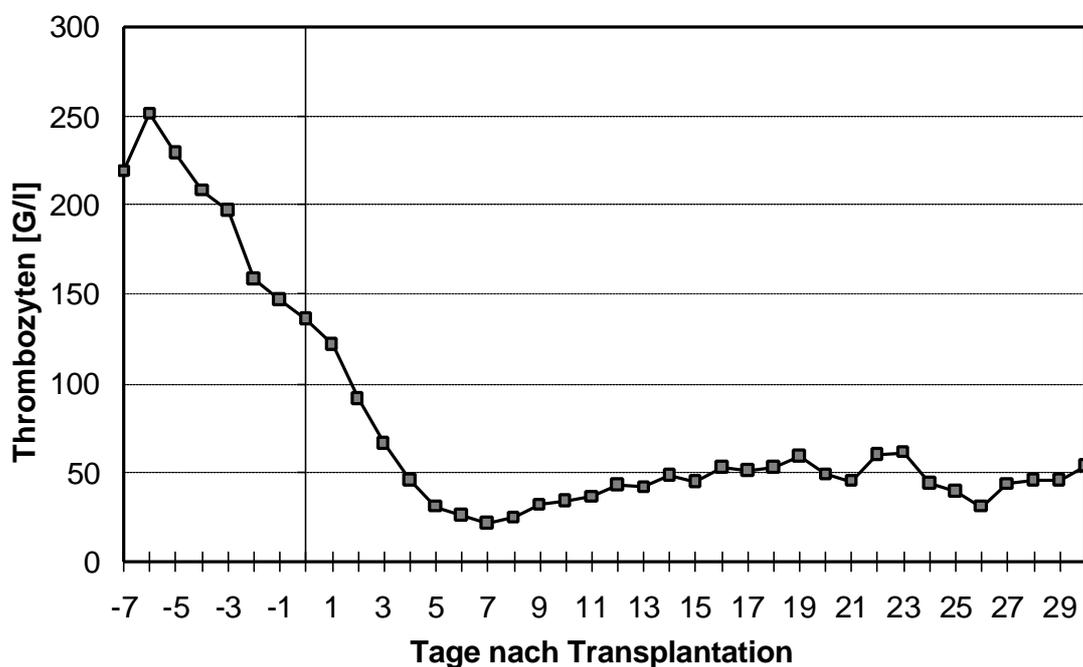
n = 59

Durch die Hochdosis-Chemotherapie wird zusammen mit den anderen hämatopoetischen Zellen die Thrombopoese geschädigt. Entsprechend der durchschnittlichen Lebensdauer der Thrombozyten nahm die Anzahl im peripheren Blut nach Beginn der Hochdosis-Chemotherapie kontinuierlich ab und unterschritt im Median an Tag 6 nach der

Transplantation die Grenze der Substitutionsbedürftigkeit von etwa 30 G/l (vgl. Abbildung 2-9).

Abbildung 2-9

Verlauf der medianen Thrombozytenzahlen im Rahmen der Blutstammzelltransplantation



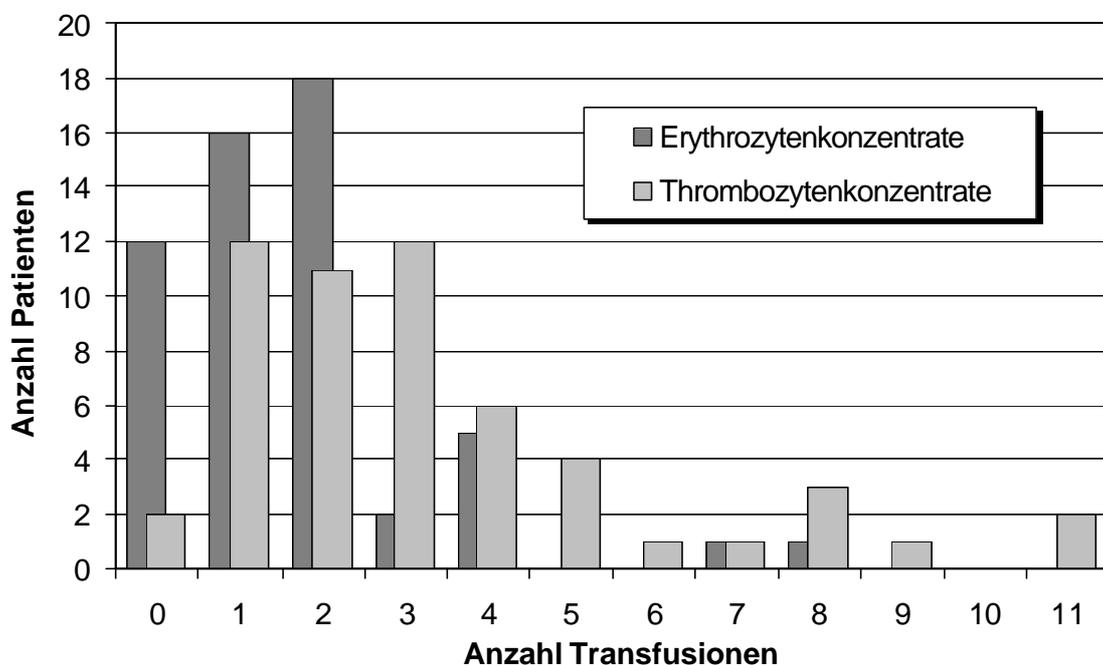
n = 59

Während der Thrombozytopenie wurden den Patienten im Median an 3 Tagen Thrombozytenkonzentrate verabreicht. Unter den Patienten befanden sich jedoch auch zwei (Pat.Nr. 1 und 14), die keine Substitution benötigten, während zwei Patienten (Pat.Nr. 30 und 40), die vor Einleitung der Hochdosis-Chemotherapie nicht substitutionsbedürftig waren, an insgesamt 11 Tagen Thrombozytenkonzentrate bis zur Rekonstitution der Thrombopoese verabreicht werden mußten.

Aufgrund des Absinkens des Hämoglobinwertes erhielten die Patienten im Median einmalig Erythrozytenkonzentrate, das erste im Median am Tag 5 nach Transplantation. Hier benötigten jedoch 12 Patienten keine Substitution, während ein Patient (Pat.Nr. 40) an 8 Tagen Erythrozytenkonzentrate erhielt.

Abbildung 2-10

Anzahl der transfundierten Blutprodukte



n = 55

Alle Patienten erhielten ausschließlich bestrahlte und HLA-typisierte Blutprodukte. Zusätzlich erhielten die Patienten vor jeder Transfusion 100mg Prednison zur Vermeidung eines Graft versus Host-Effekts. Die Bestrahlung von Thrombozyten- und Erythrozytenkonzentraten verhindert eine Übertragung von noch aktiven Leukozyten. Durch sie kann bei den immungeschwächten Empfängern eine Graft-versus-Host-Reaktion ausgelöst werden [48].

Durch die Transplantation der kryokonservierten Stammzellen wird die Blutbildung der Patienten wiederhergestellt.

Die schnellste Erholung zeigen die Leukozytenwerte. Mit der Transplantation werden nicht nur pluripotente Stammzellen, sondern auch reife hämatopoetische Vorläuferzellen übertragen, die zu einem schnellen kurzfristigen Anstieg der Leukozytenwerte im peripheren Blut beitragen. Die langfristige Regeneration erfolgt dann durch multipotente Stammzellen, die sich im Knochenmark des Empfängers ansiedeln [44].

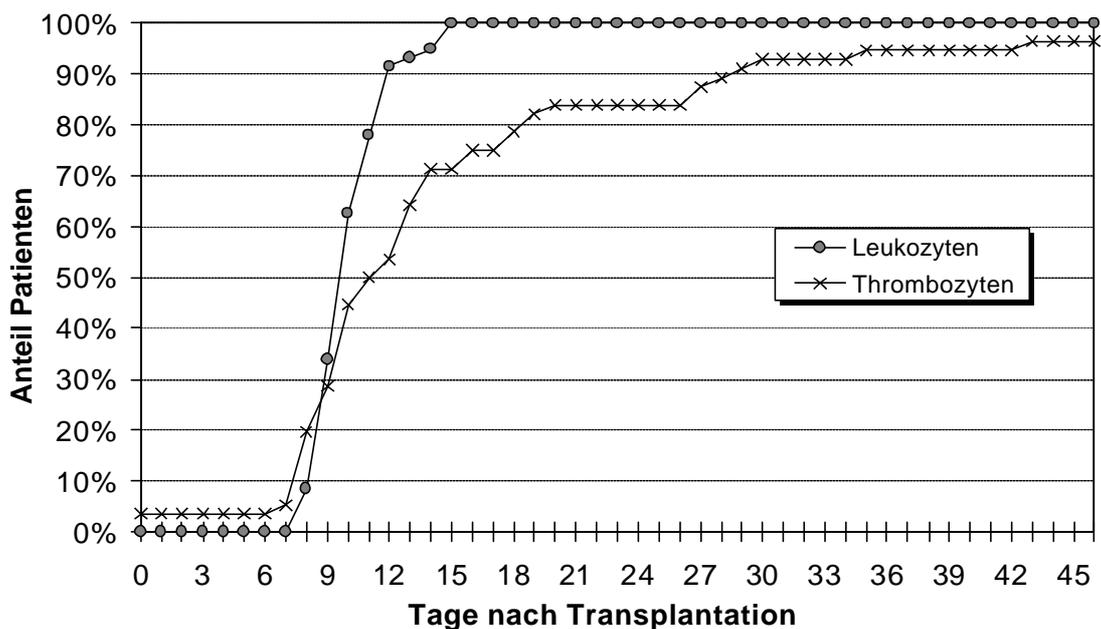
In Abbildung 2-11 ist der Verlauf der Rekonstitution der Hämatopoese dargestellt. Als Kriterium für eine erfolgte Rekonstitution der Leukozytenwerte galt die erstmalige Messung eines Leukozytenwertes von mindestens 1,0 G/l. Diesen Wert erreichten die Patienten im Median an Tag 10 (8 - 15) nach Transplantation.

Etwas langsamer erholten sich die Thrombozytenwerte. Als erster Tag der Rekonstitution galt hier ein Thrombozytenwert, der ohne Transfusion mindestens sieben Tage über 30 G/l lag. Hier betrug die kürzeste Zeit bis zur Erfüllung dieser Kriterien 7 Tage nach Transplantation. Im Median dauerte die Thrombozytopenie 12 Tage an, während die Erholung der Thrombozytenwerte bei einem Patienten längstens 43 Tage dauerte. Bei drei Patienten blieb jedoch eine Rekonstitution der Thrombozytenwerte aus: Ein Patient blieb bis zu seinem Tod durch Tumorprogression am Tag 40 nach Transplantation substituionspflichtig, bei zwei Patienten wurde nach 10 bzw. 37 Tagen eine erneute Stammzellrückgabe angeschlossen. Bei zwei Patienten fiel die Anzahl der Thrombozyten zu keiner Zeit unter einen Wert von 30 G/l.

Für 3 Patienten liegen keine ausreichenden Daten vor.

Abbildung 2-11

Rekonstitution der Hämatopoese (Leukozyten $\geq 1\text{G/l}$ bzw. Thrombozyten $\geq 30\text{G/l}$)



n = 56

2.7.2.2 Infektionsprophylaxe

In der Phase der Leukozytopenie sind die Patienten besonders anfällig für Infektionen. Deshalb wird eine reverse Isolation durchgeführt. Die reverse Isolation beinhaltet die Einbringung hochsteril filtrierter Raumluft unter leichtem Überdruck sowie die Verwendung steriler Überkittel, Mundschutz und Handschuhe. Die reverse Isolation der Patienten erfolgt auch, weil die Versorgung blutstammzelltransplantierter Patienten räumlich nicht wesentlich getrennt von der Versorgung der übrigen Patienten durchgeführt wird.

Alle Patienten erhalten einmalig ein Immunglobulin-Präparat (10g Endobulin®). Weiterhin erhalten die Patienten eine antibiotische Prophylaxe mit Ofloxacin (Tarivid®, 2 x

200mg) zur Vermeidung bakterieller Infektionen, sowie als systemisches Antimykotikum Itraconazol (Sempera®, 2 x 100mg) oder Fluconazol (Diflucan®, 2x 100mg). In einer multizentrischen Studie konnte gezeigt werden, daß die prophylaktische Gabe von Fluconazol während der Neutropenie bei Knochenmarktransplantationen signifikant die Inzidenz von oberflächlichen und systemischen Mykosen herabsetzt, sowie die Mortalität an akuten systemischen Mykosen vermindert .

Zusätzliche Mundspülungen mit Hexitidin (Hexoral®) und Amphotericin B (Ampho-Moronal®) sollen einer Sekundärinfektion bei Stomatitis vorbeugen.

2.7.2.3 Komplikationen

Doch auch die Prophylaxe kann eine Infektion nicht immer verhindern. So trat bei 65% der Patienten mindestens eine Phase mit erhöhter Temperatur von über 38,5°C auf. Ein wichtiges Problem stellt das Fieber unklarer Genese (fever of unknown origin, FUO) ohne Hinweis auf einen umschriebenen Infektionsherd dar. Bei 8% der Patienten konnte jedoch eine Pneumonie als Ursache festgestellt werden, die bei 50% dieser Patienten beidseitig auftrat. Zu erwähnen ist jedoch auch die mit einer weiterführenden Diagnostik (z.B. Durchführung radiologischer Untersuchungen) verbundenen Notwendigkeit der Aufhebung der Umkehrisolation, die eine zusätzliche Gefährdung des Patienten darstellen kann.

Durch frühzeitige breite antibiotische Therapie konnten die Infektionen in den meisten Fällen schnell beherrscht werden, so daß das Fieber im Schnitt nur wenige Tage anhielt. Die maximale Anzahl von Tagen mit Fieber bis zur Entlassung betrug jedoch 16 Tage, wobei die Infektion mit bis zu fünf Antibiotika und Antimykotika behandelt werden mußte.

Während der Leukozytopenie trat außerdem bei insgesamt 37% der Patienten eine Stomatitis auf, zu 42% als schwer (WHO Grad III-IV) eingestuft. Ein Herpes labialis wurde bei 17% aller transplantierten Patienten diagnostiziert.

Trotz der Vielzahl möglicher Komplikationen ist die Hochdosis-Chemotherapie mit anschließender autologer Stammzelltransplantation sicher durchführbar. Eine Patientin (Pat.Nr. 34) entwickelte jedoch während der Leukozytopeniephase eine CMV-Pneumonie und verstarb nach 50 Tagen an einem Multiorganversagen.

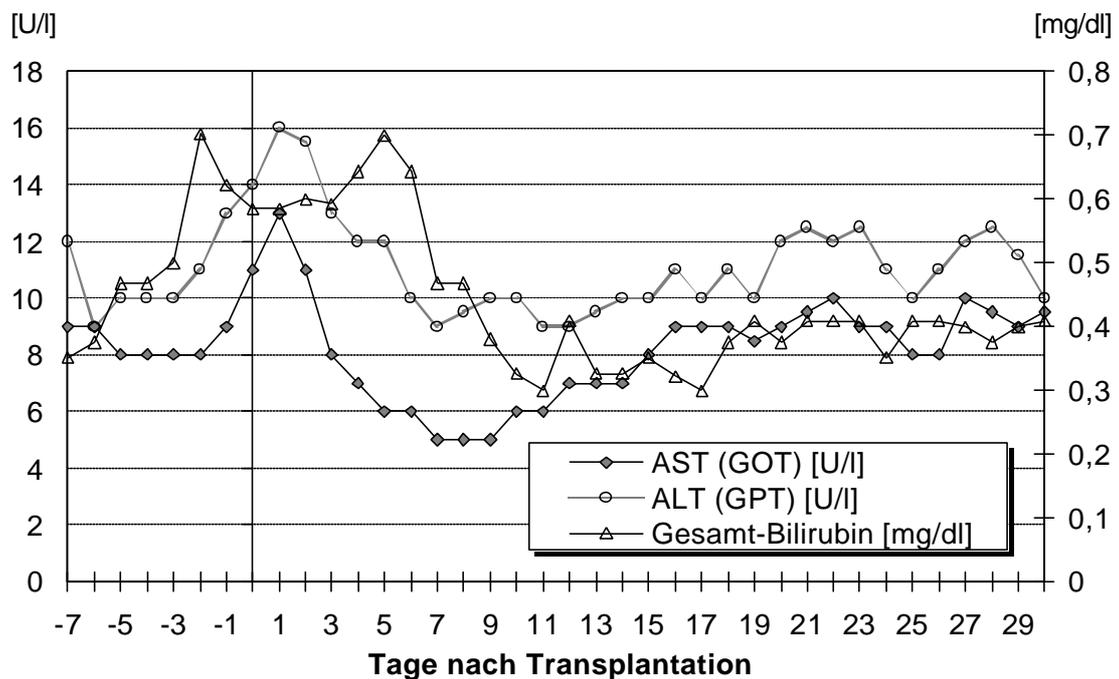
2.7.2.4 Verlauf von Laborparametern

In Abbildung 2-12 bis Abbildung 2-16 ist der Verlauf weiterer Laborparameter dargestellt. Da einige Patienten früher entlassen werden konnten, liegen für die Zeitpunkte >11 Tage die jeweiligen Meßdaten nicht mehr vollständig vor. Angegeben werden Medianwerte, die durch die fehlenden Werte mutmaßlich nur wenig beeinflußt werden.

Ein Anstieg des Gesamt-Bilirubins auf Werte über 2mg/dl, Gewichtszunahme von mehr als 2% durch Flüssigkeitsretention sowie schmerzhafte Hepatomegalie sind Kriterien für das Lebervenenverschluß-Syndrom [59]. Obwohl der Median der gemessenen Bilirubinwerte zwischen den Tagen -3 und 8 leicht anstieg (vgl. Abbildung 2-12), wurde bei keinem der Patienten ein Wert von über 2mg/dl gemessen. Zur gleichen Zeit zeigen die Mediane der Aspartataminotransferase (AST) und der Alaninaminotransferase (ALT) ebenso einen vorübergehenden leichten Anstieg, der sich auf die Lebertoxizität der eingesetzten Zytostatika zurückführen läßt.

Abbildung 2-12

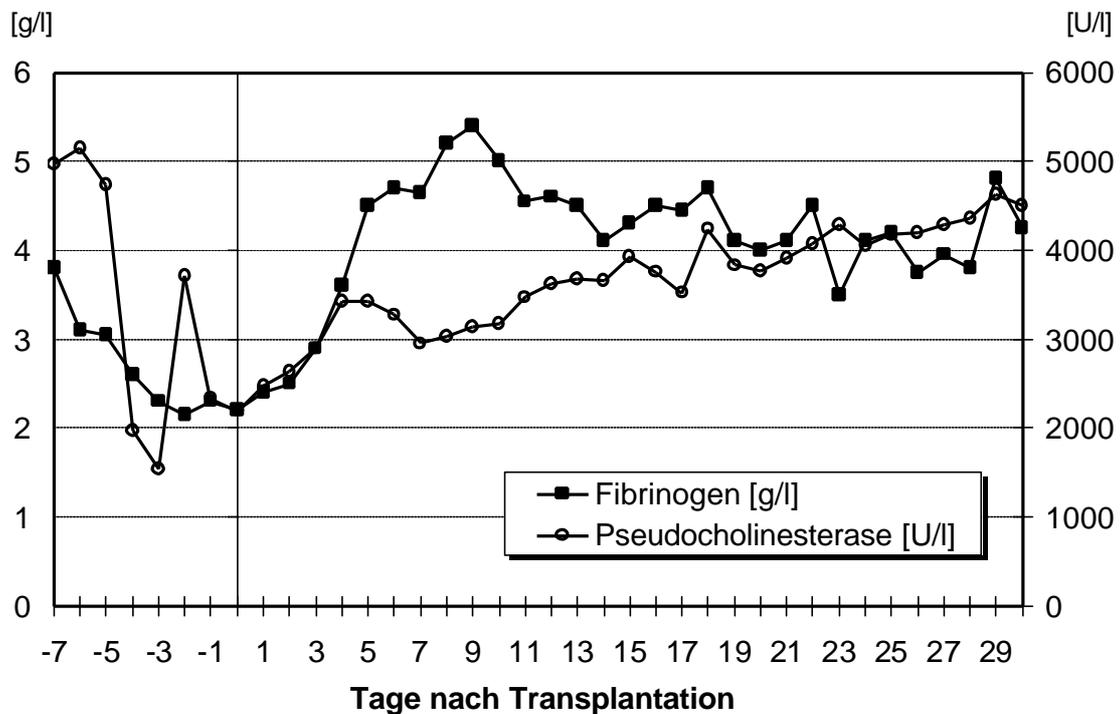
Verlauf von Aspartataminotransferase (AST), Alaninaminotransferase (ALT) und Gesamt-Bilirubin



Durch die zeitweilige Störung der Syntheseleistung der Leber fällt gleichzeitig der Gehalt an Fibrinogen und der Pseudocholinesterase (PCHE) im Serum nach der Hochdosis-Chemotherapie vorübergehend deutlich ab (vgl. Abbildung 2-13). Der Abfall der Pseudocholinesterase kann auch Folge einer spezifischen Enzymhemmung durch Cyclophosphamid sein [40].

Abbildung 2-13

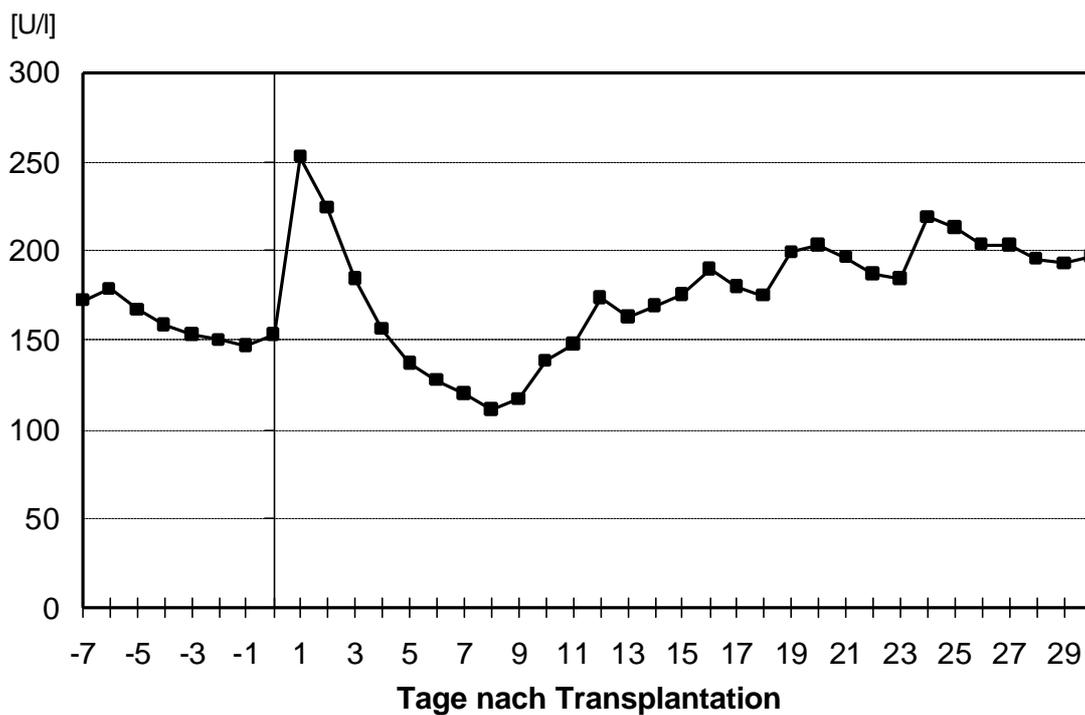
Verlauf von Fibrinogen und Pseudocholinesterase (PCHE)



Der Wert der Laktatdehydrogenase zeigt einen Anstieg mit einem Peak an Tag 1 nach der Stammzellrückgabe. Bei 86% der Patienten, die in Aachen transplantiert wurden, wurde ein Anstieg der LDH innerhalb der Tage 1 bis 5 nach Zellretransfusion im Vergleich zum Ausgangswert (Median der an den Tagen -7 bis -1 gemessenen Werte) beobachtet. Bei 55% der Patienten stieg die LDH um mindestens 50%. Der LDH-Anstieg lässt sich auf die Lyse eines Teils der im Kollektat enthaltenen Zellen zurückführen.

Abbildung 2-14

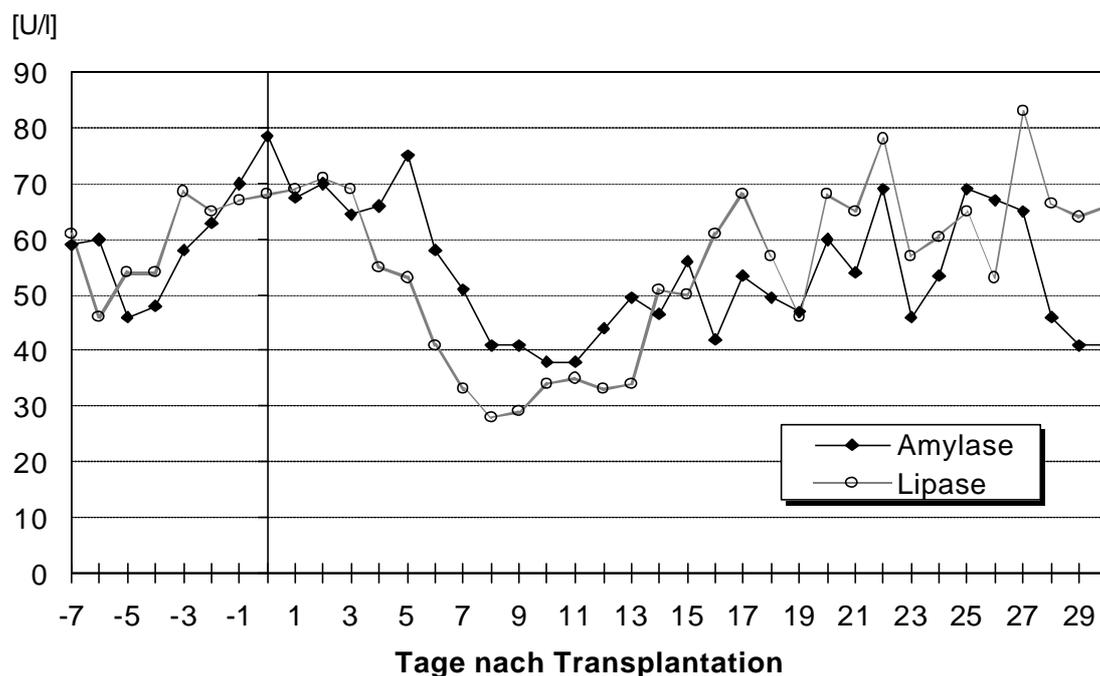
Verlauf der Laktatdehydrogenase (LDH)



Die Werte der Enzyme Amylase und Lipase als Parameter für (entzündliche) Prozesse des Pankreas zeigten bei den meisten Patienten nur eine moderate Erhöhung in den ersten Tagen nach der Hochdosis-Chemotherapie (vgl. Abbildung 2-15). Bei vier Patienten kam es jedoch zu einem starken Anstieg der Lipase im Serum. Bei drei Patienten stieg die Lipase aus dem Normbereich (<160 U/l) innerhalb von ein bis zwei Tagen auf Werte über 500 U/l, fiel dann aber innerhalb der nächsten ein bis zwei Tage wieder in den Normbereich zurück. Der maximale Wert wurde an den Tagen -3, 3 bzw. 8 gemessen. Klinisch und sonographisch ergaben sich bei den Patienten keine Hinweise auf eine Pankreatitis. Bei dem vierten Patienten blieb die Lipase im Serum von Tag 7 bis zu seiner Entlassung an Tag 22 erhöht, bis einschließlich Tag 18 wurden Werte von über 300 U/l gemessen. Dieser Patient klagte bis zum Tag 15 über kolikartige Ober- und Unterbauchschmerzen und es wurde ein diffuser abdomineller Druckschmerz festgestellt.

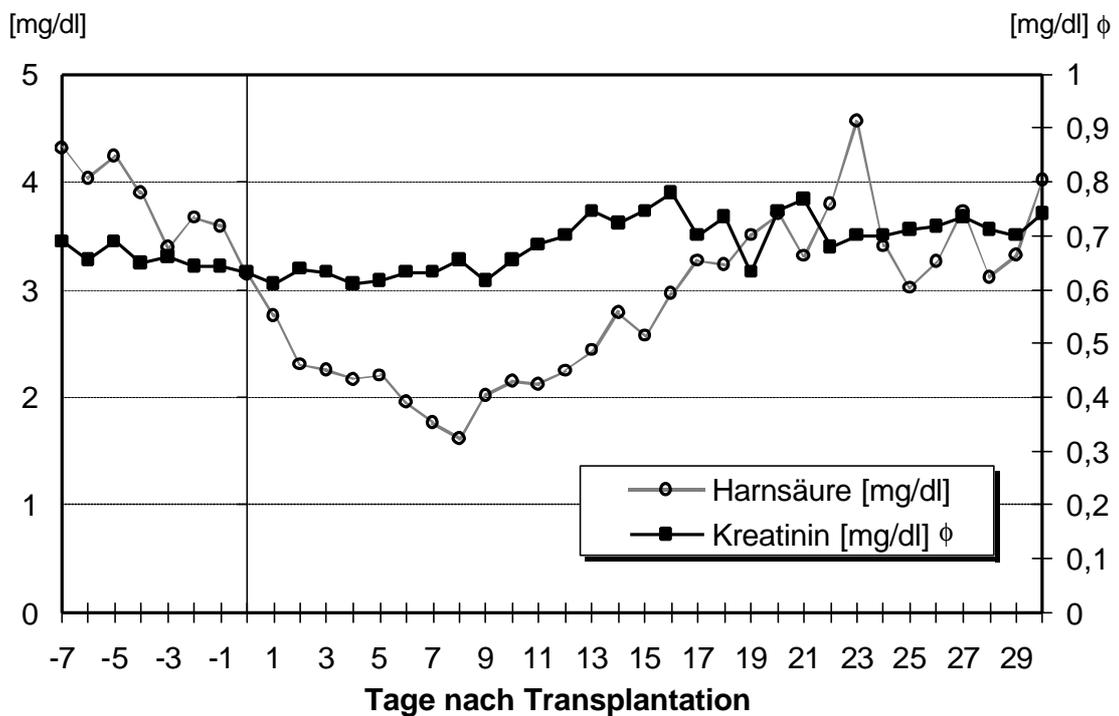
Abbildung 2-15

Verlauf von Amylase und Lipase



Die vorübergehende Verminderung des Harnsäuregehaltes im Serum läßt sich auf eine intensive medikamentöse Prophylaxe, sowie eine iatrogene Steigerung der Diurese zurückführen (vgl. Abbildung 2-16).

Abbildung 2-16
Verlauf von Harnsäure und Kreatinin



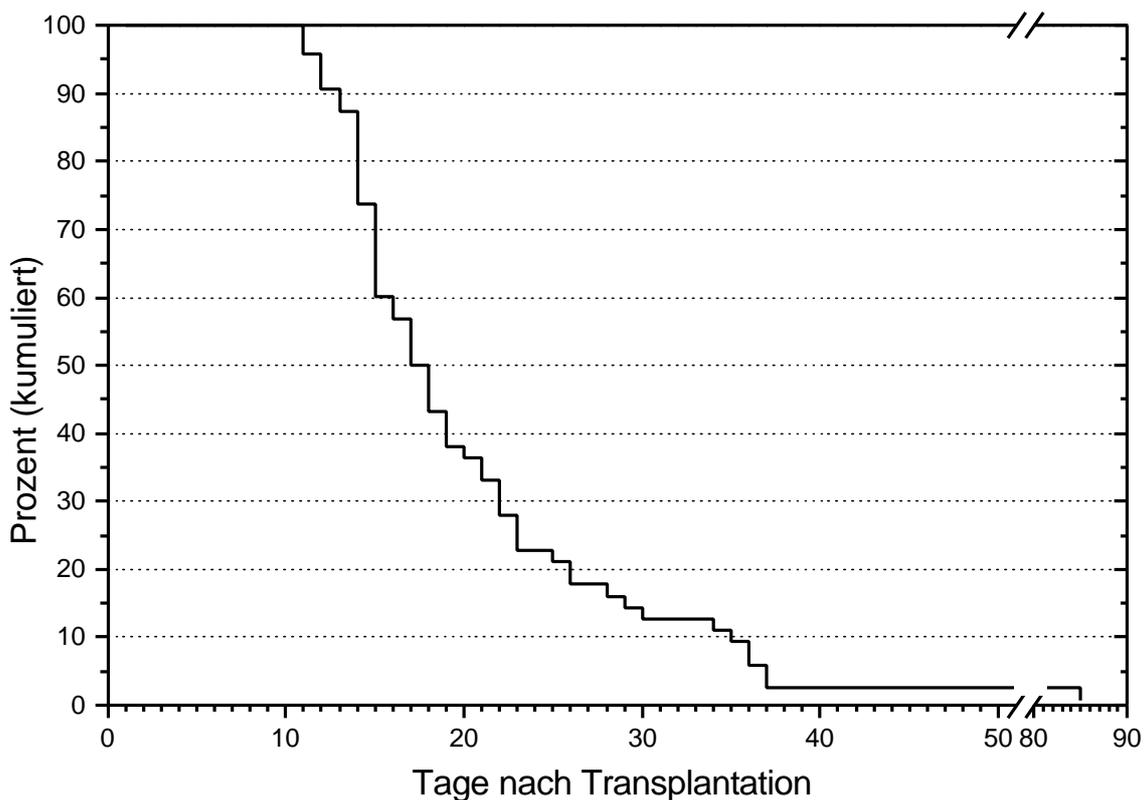
2.7.2.5 Krankenhausaufenthalt

Für den Zeitpunkt der Entlassung entscheidend war in den meisten Fällen die erfolgte Rekonstitution der Thrombopoese.

Eine Übersicht über die Dauer des Krankenhausaufenthaltes vom Tag der Transplantation bis zur ersten Entlassung zeigt die Abbildung 2-17. Der mediane Aufenthalt betrug 17 Tage (11 - 85 Tage). Ein Patient (Pat.Nr. 20) verstarb 12 Tage nach Transplantation an einem zerebralen Tumorrezidiv, ohne zuvor aus dem Krankenhaus entlassen worden zu sein. Legros et al. berichten bei den von Ihnen transplantierten Patienten von einem medianen Krankenhausaufenthalt von 18 Tagen (12 - 26) nach Transplantation [47].

Abbildung 2-17

Dauer des stationären Krankenhausaufenthaltes nach Transplantation



n = 59

2.7.2.6 Nachsorge

Nach der Entlassung erfolgte eine regelmäßige ambulante Vorstellung der Patienten in der Transplantationssprechstunde. Etwa drei Monate nach der Stammzelltransplantation wurden die Patienten erneut stationär aufgenommen. Im Rahmen dieses Aufenthaltes wurde bei den Patienten eine vollständige Durchuntersuchung (Staging) durchgeführt, um das Ansprechen auf die Therapie evaluieren zu können. Diese beinhaltete in der Regel eine Ganzkörpercomputertomographie, eine PET-Studie (Vgl. auch [25]) und bei entsprechender Indikation eine gezielte MRT-Untersuchung (häufig wurde die Wirbelsäule untersucht, da so auch ein medullärer Befall nachgewiesen werden kann). Konnte nach diesen Untersuchungen von einer kompletten Remission (CR) ausgegangen werden, wurden zusätzlich zu den regelmäßigen ambulanten Kontrollen erneute stationäre Nachsorgeuntersuchungen im Abstand von etwa sechs Monaten durchgeführt.

Wie in Abschnitt 2.3 bereits erwähnt wurde, war nach der Hochdosis-Chemotherapie bei 16 Patienten noch eine Tumormanifestation nachweisbar: Bei 12 Patienten konnte nur eine partielle Remission erreicht werden, bei insgesamt 4 Patienten mußte eine Tumorprogression trotz Hochdosis-Chemotherapie festgestellt werden.

In kompletter Remission befanden sich 41 Patienten. Von 2 Patienten konnte der Remissionsstatus nicht ermittelt werden, da die weitere Nachsorge von anderen Zentren übernommen wurde.

3 Diskussion

3.1 Qualitätssicherung

3.1.1 Verlauf und Komplikationen

3.1.1.1 Hämatologische Rekonstitution

Wie in Abschnitt 2.7.2.1 bereits erwähnt wurde, kam es bei den in Aachen transplantierten Patienten im Median an Tag 10 (8 - 15) zu einem Anstieg der Leukozyten auf über 1 G/l. In einer Studie von Legros et al. erfolgte der Anstieg der Leukozyten auf Werte über 0,5 G/l im Median an Tag 12 (9 - 84), Bensinger et al. beschreiben bei 239 Patienten eine mediane Dauer bis zu einem Anstieg der Leukozyten auf über 1,0 G/l von 12 Tagen (7 - 46) [14, 47].

Alle in Aachen transplantierten Patienten erhielten nach der Transplantation G-CSF, um eine schnellere Erholung der Leukozytenwerte zu erreichen. In der Literatur wird die Gabe von G-CSF unterschiedlich bewertet:

Souëtre et al. zeigten, daß die Gabe von G-CSF nach autologer Knochenmarktransplantation die Dauer der Neutropenie, die Anzahl von Infektionen sowie die Dauer des Krankenhausaufenthaltes vermindert [85]. In einer Studie von Bensinger et al. wurde nachgewiesen, daß die Gabe von G-CSF oder GM-CSF nach Stammzelltransplantation die Erholung der Leukozyten signifikant beschleunigt. Es zeigte sich gleichzeitig aber ein signifikanter negativer Einfluß auf die Erholung der Thrombozytenwerte bei Patienten, die bei der Transplantation zuvor weniger als 5×10^6 CD34⁺-Zellen/kg erhalten hatten [14]. Legros et al. konnten hingegen in einer Plazebo-kontrollierten Doppelblind-Studie mit 50 Patienten weder einen signifikanten Einfluß einer GM-CSF-Gabe auf die Rekonstitution von Leukozyten oder Thrombozyten noch auf die Dauer des Krankenhausaufenthaltes oder

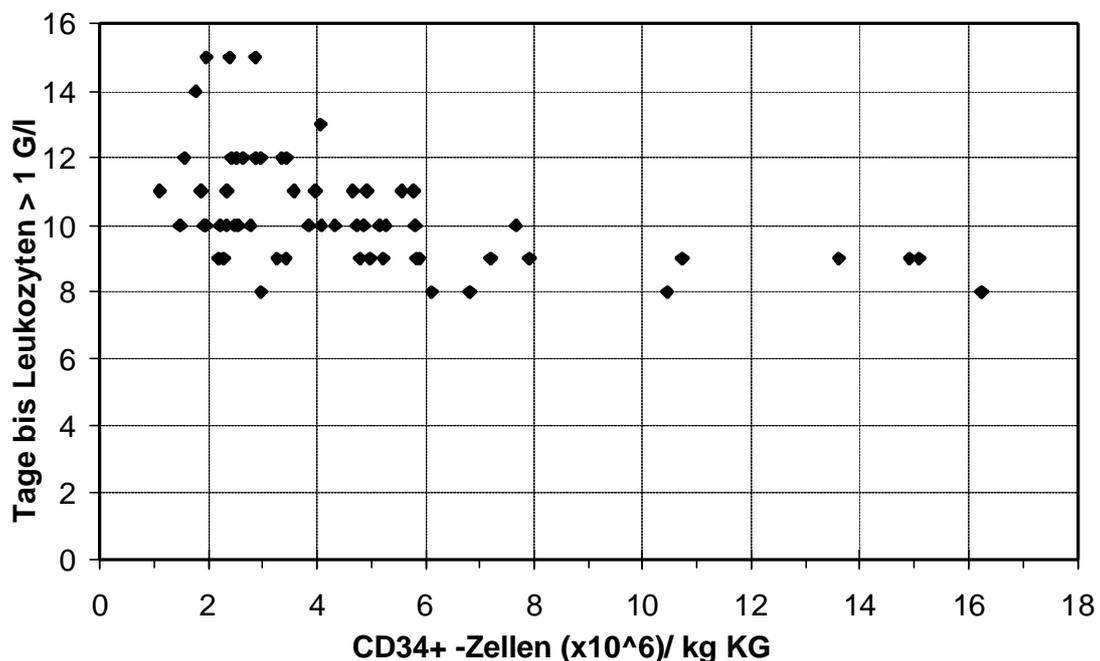
auf Anzahl und Dauer von Infektionen nach autologer Stammzelltransplantation nachweisen [47].

Die Dauer der Thrombozytopenie dauerte bei den in Aachen transplantierten Patienten im Median 12 Tage an. Bensinger et al. berichten von einer Erholung der Thrombozyten im Median an Tag 10 (6 - 65), Legros et al. an Tag 14 (6 - 102) [14, 47].

Die hämatopoetische Regeneration ist abhängig von der Anzahl der transplantierten Stammzellen:

Abbildung 3-18

Abhängigkeit der Leukozyten-Rekonstitution von der Zahl transplantiertes CD34⁺-Zellen



n = 59

Mit steigender Anzahl transplantiertes CD34⁺-Zellen/kg Körpergewicht war bei den Aachener Patienten die Dauer der Leukozytopenie ($p < 0,001$) und auch die Anzahl der Tage mit Fieber über 38,5°C nach Transplantation signifikant kürzer ($p < 0,001$). Keine

signifikante Korrelation ließ sich jedoch für die Dauer der Thrombozytopenie ($p=0,05$) sowie der Dauer des Krankenhausaufenthaltes ($p=0,28$) nachweisen. Mit steigender Gesamtzahl der im Transplantat vorhandenen Leukozyten verringerte sich signifikant sowohl die Dauer von Leukozytopenie ($p<0,001$) und Thrombozytopenie ($p<0,001$), als auch die Dauer des Krankenhausaufenthaltes ($p<0,05$)¹.

In der Literatur wird ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Anzahl transplantiertes $CD34^+$ -Zellen/kg und einer kürzeren Zeit bis zur Erholung der Thrombozytenzahlen und Leukozytenwerte gezeigt [14, 94].

3.1.1.2 Verlauf von Laborparametern

Der Wert der LDH zeigte bei 86% der in Aachen transplantierten Patienten einen Anstieg mit einem Peak an Tag 1 nach Stammzellrückgabe, bei 55% kam es zu einem Anstieg um mindestens 50%. Ähnliches wurde bereits von Bolwell et al. beschrieben: Bei 194 retrospektiv untersuchten Patienten zeigten 99% eine Erhöhung der Serum-LDH nach der Retransfusion von Stammzellen, 91% sogar einen Anstieg um mindestens 50%. Bolwell et al. fanden eine hochsignifikante negative Korrelation zwischen der Gesamtzahl infundierter $CD34^+$ -Zellen und dem prozentualen Anstieg der LDH - der LDH-Anstieg war umso geringer, je mehr $CD34^+$ -Zellen transplantiert wurden [17].

Bei den 58 auswertbaren in Aachen transplantierten Patienten ergab sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen transplantiertes Zahl $CD34^+$ -Zellen und dem LDH-Anstieg in den ersten fünf Tagen nach Transplantation. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Bolwell et al. war hier jedoch ein positiver Zusammenhang festzustellen: Der LDH-Anstieg war umso stärker, je mehr $CD34^+$ -Zellen transplantiert wurden ($p<0,05$).

¹ alle nach SPEARMAN'scher Rangkorrelation

Wesentlich deutlicher zeigte sich der Zusammenhang zwischen LDH-Anstieg und höherem Gesamt-Leukozytengehalt des Transplantates ($p < 0,001$)². Der LDH-Anstieg lässt sich auf die Lyse eines Teils der im Kollektat enthaltenen Zellen zurückführen.

3.1.2 Überlebenszeiten

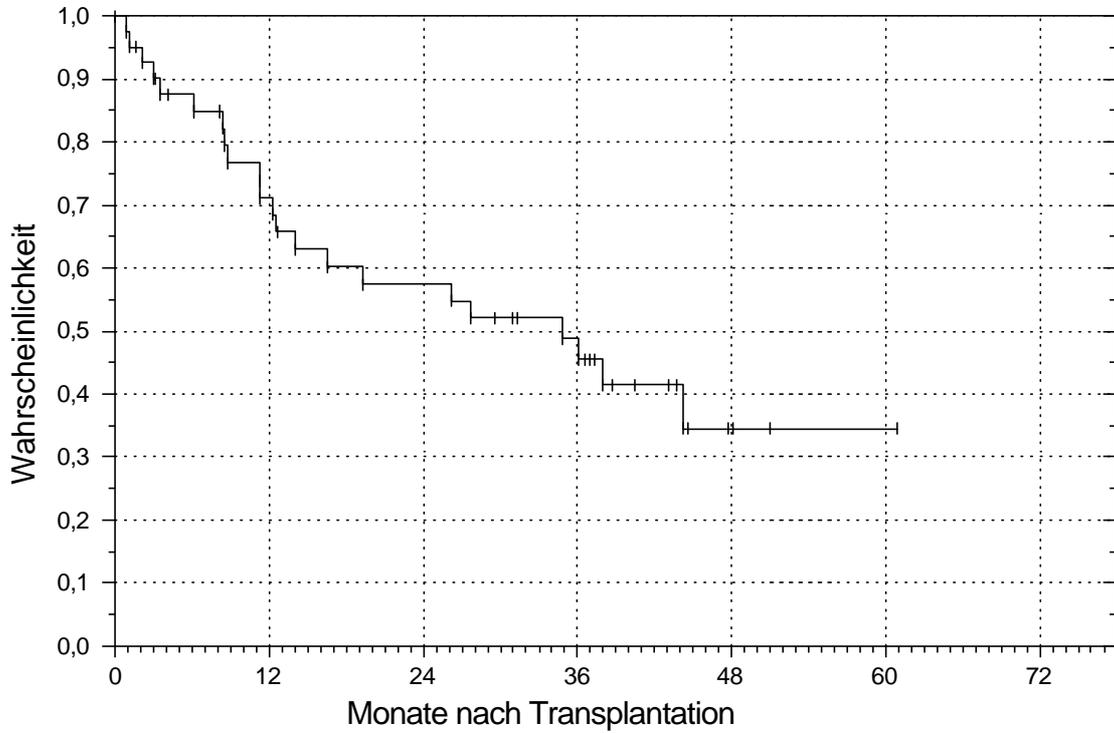
Insgesamt 41 Patienten befanden sich bei der ersten Kontrolluntersuchung nach Hochdosis-Chemotherapie mit autologer Stammzelltransplantation in kompletter Remission. Die Abbildung 3-1 zeigt die Wahrscheinlichkeit für Rezidivfreiheit nach Kaplan und Meier für diese Patienten. Die mittlere geschätzte rezidivfreie Überlebenszeit lag bei 34 Monaten. Die Mehrzahl der Rezidive traten innerhalb der ersten beiden Jahre nach Transplantation auf, es wurden jedoch auch Spätrezidive (bei Plasmozytomen und niedrigmalignen Non-Hodgkin-Lymphomen) beobachtet.

Für die Berechnung der Überlebenswahrscheinlichkeit wurden alle 59 transplantierten Patienten berücksichtigt. So betrug die Wahrscheinlichkeit 1 Jahr nach Hochdosis-Chemotherapie und anschließender autologer Stammzelltransplantation 76%, wenn sowohl Art der Erkrankung als auch der Remissionsstatus vor Transplantation unberücksichtigt blieben. Nach einem Zeitraum von etwa drei Jahren bildet sich ein Plateau bei einer Überlebenswahrscheinlichkeit von 61% heraus (vgl. Abbildung 3-2).

² alle nach SPEARMAN'scher Rangkorrelation

Abbildung 3-1

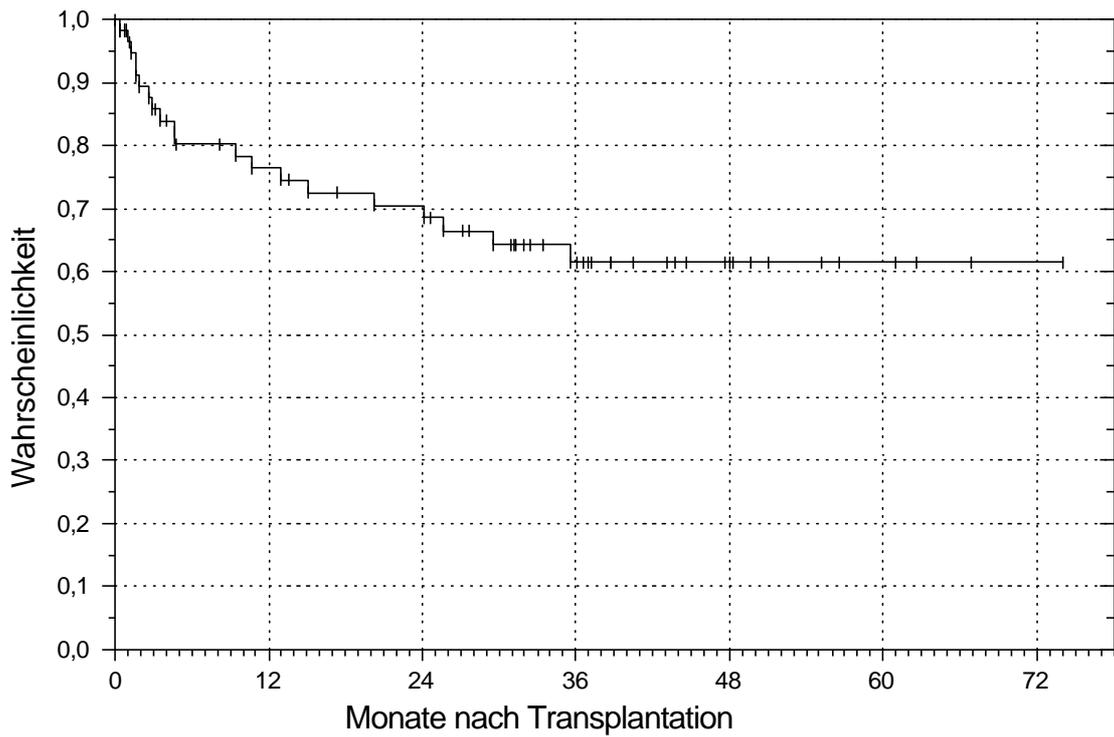
Wahrscheinlichkeit für rezidivfreies Überleben (alle Patienten)



n = 41

Abbildung 3-2

Überlebenswahrscheinlichkeit (alle Patienten)



n = 59

Um genauere Aussagen über die Rezidivhäufigkeiten und Überlebenswahrscheinlichkeiten nach autologer Stammzelltransplantation treffen zu können, müssen die verschiedenen zugrunde liegenden Erkrankungen berücksichtigt werden.

3.1.3 Krankheitsbezogene Betrachtung

Die Non-Hodgkin-Lymphome stellen die größte Gruppe der Erkrankungen dar. Von den insgesamt 32 Patienten mit Non-Hodgkin-Lymphomen befanden sich nach Hochdosis-Chemotherapie und anschließender autologer Stammzelltransplantation nur 17 in kompletter Remission. Für diese Patienten lag die Wahrscheinlichkeit, sich nach einem Jahr weiterhin in kompletter Remission zu befinden, bei 63% und nach drei Jahren bei 50% (ohne Abbildung).

3.1.3.1 Hochmaligne Non-Hodgkin-Lymphome

In der Literatur wird von der *International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project Group* für Patienten mit hochmalignen Non-Hodgkin-Lymphomen, die mit einer nicht myeloablativen Kombinations-Chemotherapie behandelt wurden, eine Wahrscheinlichkeit für Rezidivfreiheit nach fünf Jahren von 40%-70% - abhängig von der Anzahl der Risikofaktoren - angegeben. Als Risikofaktoren wurden hier ein Alter über 60 Jahren, Ann-Arbor-Stadium III oder IV, zwei oder mehr extranodale Manifestationen, schlechter Performance-Score (ECOG 2 bis 4) und ein erhöhter LDH-Spiegel im Serum identifiziert [81]. In einer Studie an 158 Patienten mit hochmalignen NHL, die mit Hochdosis-Chemotherapie und anschließender autologer Knochenmark- oder Stammzelltransplantation behandelt wurden, ergab sich eine Wahrscheinlichkeit für rezidivfreies Überleben nach drei Jahren von 29%. In dieser Studie konnten Vose et al. ebenfalls eine Anzahl von Risikofaktoren identifizieren:

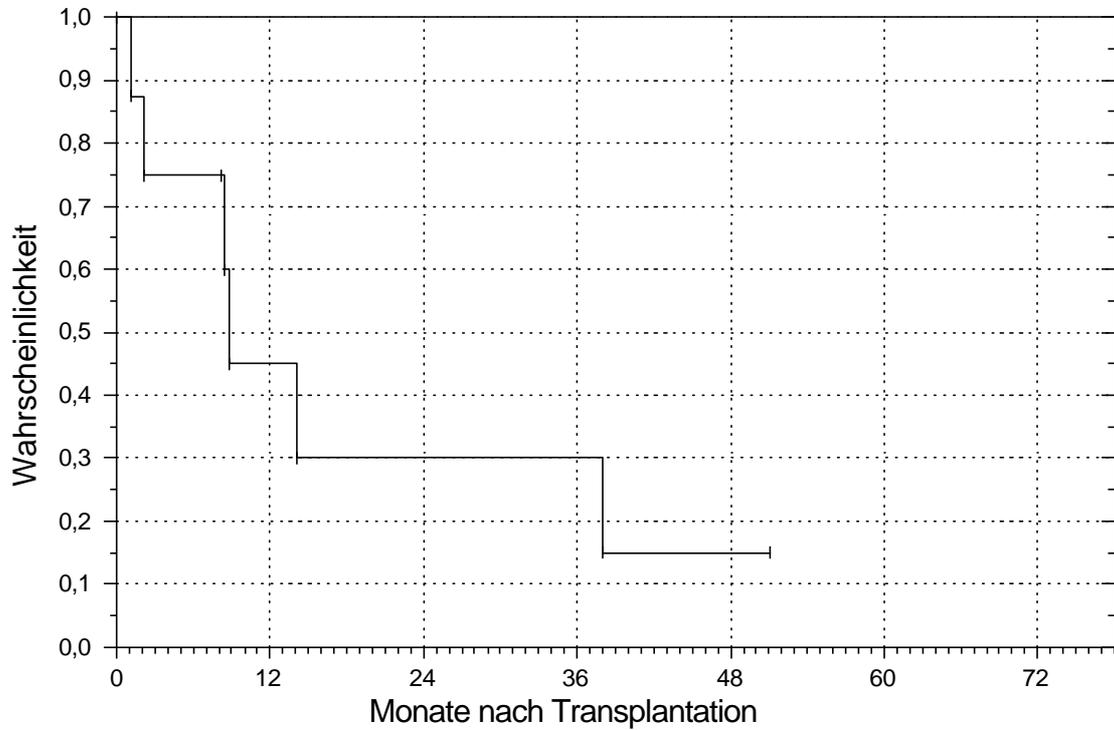
Für eine gute Prognose sprachen das Fehlen einer Tumormasse mit einem Durchmesser von mehr als 10cm und das Vorliegen von höchstens einem der folgenden Risikofaktoren: Drei oder mehr vorherige Chemotherapien, eine erhöhte LDH oder fehlendes Ansprechen auf die vorherige Chemotherapie. In dieser Gruppe fand sich eine Wahrscheinlichkeit für rezidivfreies Überleben nach drei Jahren von 45%. Für Patienten mit einer Tumormasse von mehr als 10cm Durchmesser oder dem Vorhandensein von zwei oder mehr der obengenannten Risikofaktoren ergab sich eine Wahrscheinlichkeit von 10% [91].

Von den 22 in Aachen transplantierten Patienten mit hochmalignen Non-Hodgkin-Lymphomen befanden sich 8 nach der Transplantation in kompletter Remission.

Die Überlebenswahrscheinlichkeit für in Aachen transplantierte Patienten mit hochmalignen Non-Hodgkin-Lymphomen betrug nach PBSCT nach einem Jahr 52%. Nach etwa 15 Monaten erreicht die Überlebenswahrscheinlichkeit ein Plateau bei 46% (vgl. Abbildung 3-4). Die Wahrscheinlichkeiten nach Kaplan und Meier für andauernde Rezidivfreiheit für die Patienten mit hochmalignen Non-Hodgkin-Lymphomen, die sich nach Transplantation in kompletter Remission befanden, zeigt die Abbildung 3-3.

Abbildung 3-3

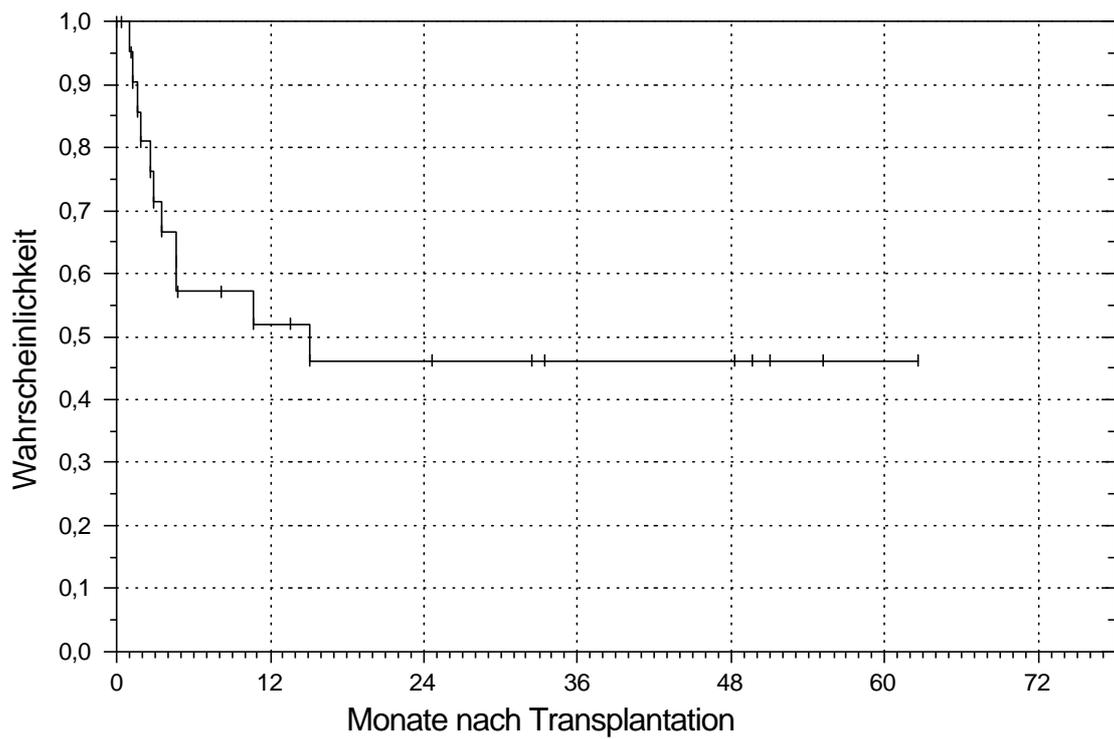
Wahrscheinlichkeit für rezidivfreies Überleben (hochmaligne NHL)



n = 8

Abbildung 3-4

Überlebenswahrscheinlichkeit (hochmaligne NHL)



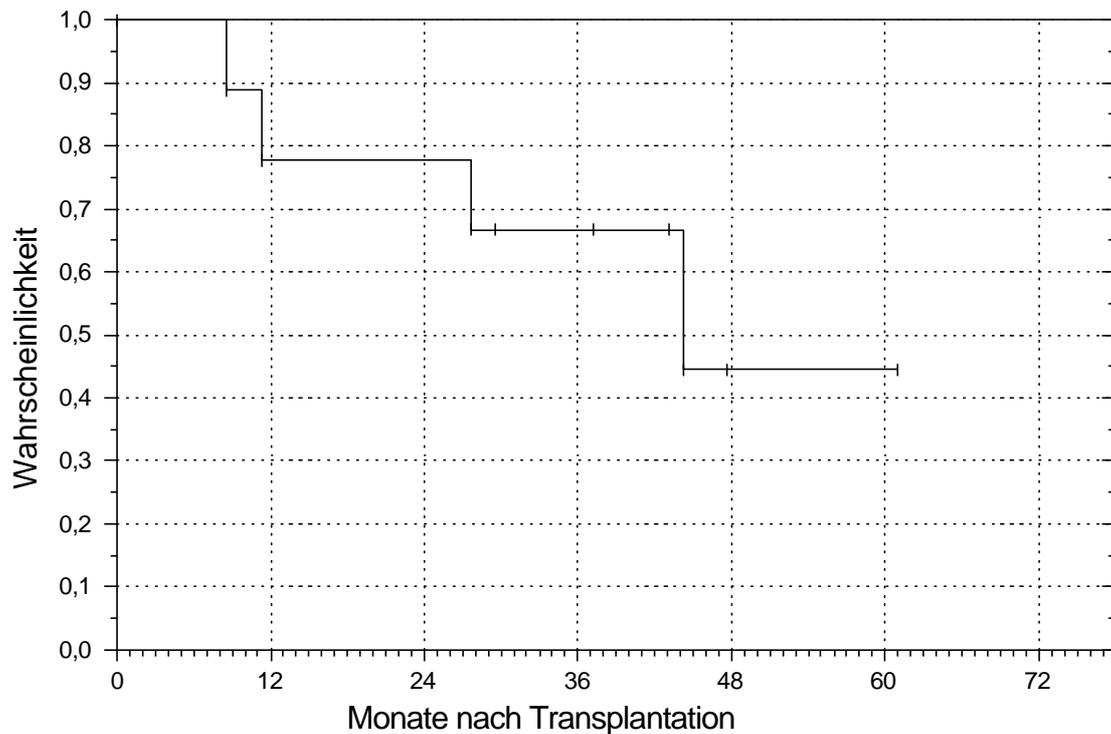
n = 22

3.1.3.2 Niedrigmaligne Non-Hodgkin-Lymphome

Für die in Aachen transplantierten Patienten mit niedrigmalignem Non-Hodgkin-Lymphom, die sich direkt nach der Transplantation in kompletter Remission befanden, betrug die Wahrscheinlichkeit, sich nach einem Jahr weiterhin in kompletter Remission zu befinden, 78% (67% nach drei Jahren bzw. 44% nach fünf Jahren).

Abbildung 3-5

Wahrscheinlichkeit für rezidivfreies Überleben (niedrigmaligne NHL)

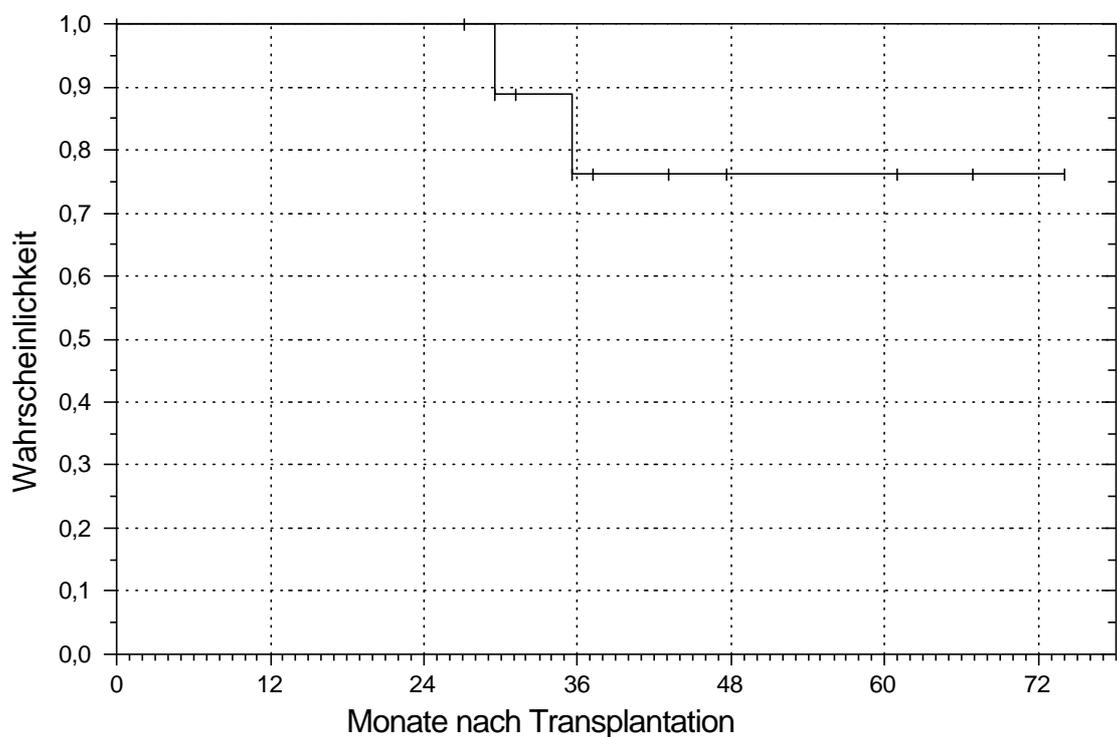


n = 9

Für Patienten mit niedrigmalignen Non-Hodgkin-Lymphomen errechnet sich für die in Aachen transplantierten Patienten eine 1-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von 100%. Nach drei und nach fünf Jahren ergibt sich ein Wert von 76% (vgl. Abbildung 3-6).

Die *International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project Group* gibt je nach Anzahl der Risikofaktoren (s.o.) 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeiten von 32%-83% an [81].

Abbildung 3-6
Überlebenswahrscheinlichkeit (niedrigmaligne NHL)



n = 10

3.1.3.3 M. Hodgkin

Moreau et al. berichten für Patienten mit fortgeschrittenem M.Hodgkin von einer 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von 75,2%, für eine Rezidivfreiheit nach fünf Jahren ergibt sich ein Wert von 66,1% [63]. In Aachen wurden insgesamt vier Patienten durch eine PBSCT behandelt. Alle vier Patienten befanden sich nach Transplantation in

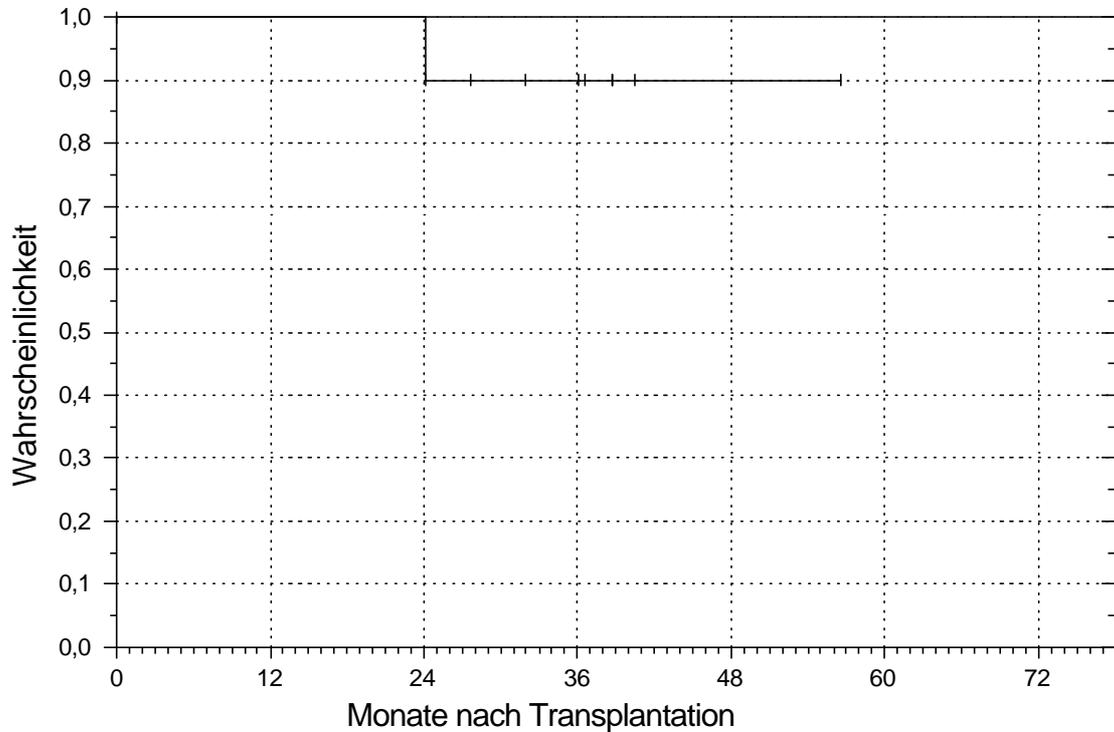
kompletter Remission. Bisher wurde bei einem Patienten ein Rezidiv nach 375 Tagen beobachtet (Pat.Nr. 35).

3.1.3.4 Plasmozytome

Durch eine Hochdosis-Chemotherapie mit anschließender autologer Stammzelltransplantation kann bei Patienten mit Plasmozytom zwar sowohl die rezidivfreie als auch die Gesamtüberlebenszeit verlängert werden, eine definitive Heilung kann jedoch zur Zeit nicht erreicht werden [4].

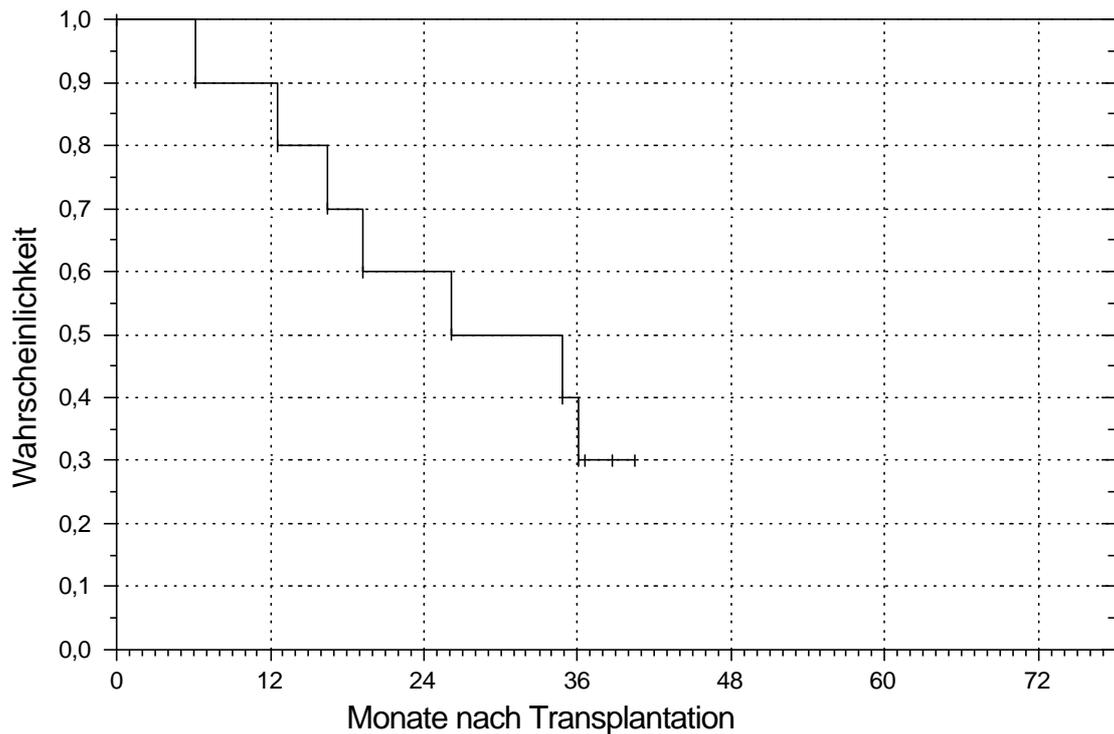
Vesole et al. führten bei 470 Patienten eine Hochdosis-Chemotherapie mit 200mg/m² Melphalan und anschließender autologer Stammzelltransplantation durch, davon erhielten 363 Patienten eine zweite Hochdosis-Chemotherapie mit Stammzelltransplantation. Es fand sich eine mittlere rezidivfreie Überlebenszeit von 26 Monaten. Die mittlere Gesamtüberlebenszeit betrug 41 Monate. [89]. Palumbo et al. zeigten, daß auch bei älteren Patienten (55-75 Jahre) die Hochdosis-Chemotherapie (mit reduzierter Melphalan-Dosis) mit anschließender autologer Stammzelltransplantation gegenüber einer Standardtherapie mit Melphalan und Prednison überlegen ist. Die mittlere rezidivfreie Überlebenszeit für die mit Hochdosis-Melphalan behandelten Patienten betrug 34 Monate [66].

Abbildung 3-8
Überlebenswahrscheinlichkeit (Plasmozytome)



n = 10

Abbildung 3-7
Wahrscheinlichkeit für rezidivfreies Überleben (Plasmozytome)



n = 10

Von den insgesamt zehn Patienten, die sich alle nach Transplantation in kompletter Remission befanden, wurde bisher bei sieben Patienten ein Rezidiv beobachtet, ein Patient (Pat.Nr. 39) verstarb 24 Monate nach Transplantation an seiner Tumorerkrankung.

3.1.3.5 Mammakarzinome

In Aachen wurde bei sechs Patienten mit Mammakarzinom mit ungünstiger Prognose (mehr als zehn befallene Lymphknoten) eine adjuvante Hochdosis-Chemotherapie mit autologer Stammzelltransplantation durchgeführt. Bei einem Patienten handelte es sich um einen Mann (Pat.Nr. 38). Bei keinem der Patienten wurde bisher ein Rezidiv beobachtet, eine Patientin (Pat.Nr. 34) verstarb ca. sieben Wochen nach der Transplantation an einer CMV-Pneumonie.

In einer Übersicht des *Breast Cancer Working Committee of the Autologous Blood and Marrow Transplant Registry of North America* berichten Antman et al. von einer rezidivfreien Überlebenswahrscheinlichkeit nach drei Jahren von 65% für Mammakarzinome im Stadium II und 60% im Stadium III [9]. Bei adjuvanter PBSCT im Rahmen der Behandlung des Mammakarzinoms mit Befall von mehr als zehn Lymphknoten geben Link et al. eine rezidivfreie Überlebenswahrscheinlichkeit von 72% nach drei und fünf Jahren an [51].

Die adjuvante Hochdosistherapie bei Mammakarzinomen wird derzeit nach Abschluß einiger Studien in Deutschland kontrovers diskutiert [12, 86]. Nach 1998 wurde deshalb in Aachen mit dieser Indikationsstellung keine Transplantation mehr durchgeführt, da die Kostenerstattung nicht mehr durch die Kasse gewährt wird.

3.1.4 Lebensqualität

Die Hochdosis-Chemotherapie mit autologer Stammzelltransplantation stellt eine physische und psychische Belastung für die Patienten dar. Es ist daher außerordentlich

wichtig, nicht nur Überlebensraten, sondern auch die Lebensqualität der Patienten in alle Überlegungen einzubeziehen.

Lebensqualität wird als multidimensionales Konzept aus physischen, psychischen und sozialen Phänomenen verstanden [36]. In der Vergangenheit wurden bereits verschiedene Fragebögen zur Messung der Lebensqualität bei malignen Erkrankungen entwickelt, dazu zählen z.B. die Rotterdam Symptom Checklist (RSCL), der Functional Living Index Cancer (FLIC), das Cancer Rehabilitation Evaluation System (CARES) oder die Functional Assessment of Cancer Therapy Scale (FACT) [3, 36].

Vose et al. haben 50 Patienten anhand eines Fragebogens telefonisch befragt, die mindestens ein Jahr vorher mit einer autologen Knochenmark- oder Stammzelltransplantation behandelt wurden: Die meisten Patienten (96%) berichteten von einem guten Appetit, bei 86% sei das Körpergewicht stabil oder habe nach der Transplantation zugenommen. Weiterhin bestätigten die meisten Patienten eine schnelle Erholung des Haarwachstums. 44% der Patienten gaben an, daß das Haar nach der Transplantation lockiger wüchse, als vorher. Bei der Mehrheit der Patienten (76%) hat sich bei der Darmfunktion keine Änderung durch die Hochdosis-Chemotherapie ergeben, 16% berichteten jedoch von neu aufgetretenen Problemen mit Diarrhoen, 8% von Obstipation. Über eine Verminderung des sexuellen Verlangens (Libidoeinbuße) klagte ein Drittel der Patienten, 40% berichteten über Störungen der Sexualfunktion. Insgesamt 18% der Patienten klagten über depressive Verstimmungen in der ersten Zeit nach der Transplantation, die sich jedoch später zurückgebildet hätten. Zusammenfassend ließ sich feststellen, daß die meisten Patienten nach der Transplantation in der Lage waren, ein normales Leben zu führen. Daher bestätigten 96%, daß sie unter den gleichen Umständen erneut einer Hochdosis-Chemotherapie mit autologer Knochenmark- oder Stammzelltransplantation zustimmen würden [92].

3.2 Stammzellgewinnung

Hämatopoetische Stammzellen können direkt aus dem Knochenmark gewonnen werden.

Die direkte Punktion des Knochenmarks in Vollnarkose war in den siebziger und der ersten Hälfte der achtziger Jahre die primäre Quelle für hämatopoetische Stammzellen.

Die Kollektionierung aus dem Blut hat jedoch mehrere Vorteile gegenüber der direkten Entnahme aus dem Knochenmark:

Ein Vorteil liegt in der Durchführbarkeit auch nach Bestrahlung im Bereich des Beckens im Rahmen der Vorbehandlung. Bei der direkten Punktion des Knochenmarks ist es oft schwierig, in diesen Fällen eine genügende Anzahl an Stammzellen zu gewinnen [73].

Weiterhin ist davon auszugehen, daß die Tumorzellkontamination des aus dem peripheren Blut gewonnenen Kollektats geringer ist, wenn ein Befall des Knochenmarks vorliegt [80].

Die Zeit bis zum Ansteigen der Leukozytenwerte auf über 0,5 G/l ist nach PBSCT (Median 9 Tage) signifikant kürzer als nach autologer Knochenmarktransplantation (Median 12,5 Tage) [18]. Auch die Anzahl benötigter Thrombozytentransfusionen fällt bei der Transplantation peripherer Blutstammzellen geringer aus [30]. Aus dem peripheren Blut gewonnene Kollektate unterscheiden sich von aus dem Beckenkamm entnommenen Knochenmark durch die Häufigkeit der Expression verschiedener Oberflächenantigene. Watanabe et al. vermuten, daß diese Oberflächenantigene eine besondere Rolle für das „Homing“ der Stammzellen nach Transplantation spielen, und daß diese Merkmale eine Erklärung für die Unterschiede in der Geschwindigkeit der Rekonstitution bieten [93].

In einer Untersuchung der durch autologe Knochenmarktransplantationen und PBSCT verursachten Kosten fanden Bredeson et al. eine Kostenreduzierung durch die Verwendung von Stammzellen aus dem peripheren Blut anstelle von Knochenmarktransplantationen.

Die Gewinnung von Stammzellen aus dem peripheren Blut verursachte Kosten von 3439 Can\$ bis 5157 Can\$, während die Gewinnung durch direkte Entnahme von Knochenmark nur mit 2766 Can\$ zu Buche schlug. Im Gegensatz dazu führt die PBSCT zu einem deutlich kürzeren Krankenhausaufenthalt nach Transplantation (Median 13 Tage) als eine KMT (Median 20 Tage), und damit zu einer deutlichen Kosteneinsparung, wenn alle anfallenden Kosten berücksichtigt werden [18].

3.3 Vergleich von autologer gegenüber allogener Transplantation

Im Gegensatz zur autologen Transplantation werden bei der allogenen Transplantation Stammzellen eines gesunden, möglichst HLA-identischen Spenders verwendet, um nach einer myeloablativen Chemotherapie die Blutbildungsfunktion des Patienten wiederherzustellen.

Durch die Verwendung von Stammzellen eines gesunden Spenders ist es möglich, Erkrankungen zu heilen, die auf einen Stammzelldefekt des Patienten zurückzuführen sind. So wird nach Angaben der EMBT die allogene Stammzelltransplantation bei Kindern bereits routinemäßig bei schweren Immundefekten (z.B. severe combined immunodeficiency, SCID) durchgeführt. Eine allogene Transplantation bei aplastischer Anämie oder bestimmten Enzymdefekten ist im Rahmen von Studienprotokollen möglich. Nur im Idealfall steht ein - genetisch identischer - eineiiger Zwilling als Spender zur Verfügung (syngene Transplantation) [33].

Wie in Abschnitt 1.2.4 bereits angesprochen, können bei der allogenen Transplantation immunkompetente Zellen des Spenders verschiedene Gewebe des Empfängers angreifen. Man kann hier die akute Graft-versus-Host Reaktion, die innerhalb der ersten drei Monate meist an Haut, Leber und Gastrointestinaltrakt auftritt, von der chronischen GvH-Krankheit (GvHD) unterscheiden [95].

Das Auftreten einer GvH-Reaktion ist abhängig vom Grad der genetischen Übereinstimmung zwischen Spender und Empfänger. Aufgrund des ausgeprägten Polymorphismus der Oberflächenmerkmale des HLA-Systems (human leukocyte antigen) ist es jedoch außerordentlich schwierig, einen passenden Spender für die Transplantation zu finden. Die beste Übereinstimmung findet sich hierbei meist in der unmittelbaren Verwandtschaft des Patienten (Geschwister). Die Wahrscheinlichkeit, in einer Spenderdatei einen passenden Spender zu finden, hängt stark von der Anzahl der erfaßten freiwilligen Spender ab [84]. Es zeigte sich, daß Transplantationen von im HLA-System übereinstimmenden Spendern trotzdem mit einer höheren Morbidität und Mortalität einhergehen, als Transplantationen von im HLA-System übereinstimmenden Verwandten. Dies läßt sich darauf zurückzuführen, daß durch die HLA-Typisierung noch nicht alle für die Transplantation wichtigen unterschiedlichen Merkmale erfaßt werden können [54, 84].

Neben den Komplikationen, die durch die GvHD verursacht werden, zeigt sich aber auch ein positiver Effekt: Weiden et al. zeigten einen Einfluß der GvH-Reaktion auf die Rezidivwahrscheinlichkeit und die Überlebenszeit nach Knochenmarktransplantation bei akuten Leukämien: Die Wahrscheinlichkeit eines Rezidivs war in der Gruppe der Patienten mit GvHD signifikant niedriger, als bei den Patienten ohne. Ebenso war die Überlebenswahrscheinlichkeit mit GvHD höher, als ohne. Dieser Effekt, der auch als Graft-versus-leukaemia Effekt bezeichnet wird, ist besonders auf die chronische GvH-Krankheit zurückzuführen [95].

In den letzten Jahren rückte zunehmend die Bedeutung dieser immunologischen Vorgänge bei der allogenen Stammzelltransplantation in den Blickpunkt. Man hat erkannt, daß die Wirksamkeit der allogenen Stammzelltransplantation nicht nur auf der vorangehenden Hochdosis-Chemotherapie beruht, sondern daß der Reaktion immunkompetenter T-Lymphozyten des Spenders mit den verbliebenen Tumorzellen des Empfängers eine

besondere Bedeutung zukommt. Die transplantierten allogenen Stammzellen dienen nicht nur der Wiederherstellung der Blutbildung nach myeloablativer Therapie, sondern entfalten einen eigenen therapeutischen Effekt, der in der Bedeutung zunächst lange unterschätzt wurde [58]. Slavin et al. zeigten auf diesem Hintergrund durch die inzwischen auch als „Mini-Transplantation“ bezeichnete Methode die klinische Nutzbarkeit des Graft-versus-leukaemia bzw. Graft-versus-tumor Effektes: Eine nicht-myeloablative Chemotherapie schafft die benötigte Immuntoleranz des Empfängers gegenüber den transplantierten allogenen Stammzellen. Aus dem Transplantat hervorgehende immunkompetente Zellen des Spenders erkennen neben den gesunden hämatopoetischen Zellen des Empfängers auch den malignen Zellklon als „fremd“ und entwickeln auf diese Weise einen antineoplastischen Effekt [82].

In den ersten Wochen nach der Transplantation ist eine gemischte Herkunft der Hämatopoese nicht ungewöhnlich (Chimärismus). Häufig verringert sich im Laufe der Zeit der Anteil der Blutbildung aus den residualen Stammzellen des Empfängers und es entwickelt sich ein kompletter Chimärismus mit ausschließlich aus Stammzellen des Spenders stattfindender Hämatopoese [58].

Die frühe transplantationsassoziierte Toxizität ist bei der Mini-Transplantation deutlich geringer als bei einer myeloablativen Hochdosis-Chemotherapie mit anschließender Stammzelltransplantation. Aus diesem Grund stellt die Mini-Transplantation besonders für ältere Patienten oder für Patienten mit Kontraindikationen gegen die Durchführung einer allogenen Stammzelltransplantation eine Alternative dar. Bisher liegen jedoch noch keine Ergebnisse großer Studien über die Mini-Transplantation vor, auch über die Langzeitfolgen ist nur wenig bekannt, so daß zu dieser Methode noch ein großer Forschungsbedarf besteht [58].

3.4 Perspektiven der Blutstammzelltransplantation

3.4.1 Transplantation von Zellen aus Nabelschnurblut

Das nach der Geburt eines Kindes noch in Plazenta und Nabelschnur enthaltene Blut enthält eine hohe Anzahl an hämatopoetischen Stammzellen. Sie reicht aus, um eine Rekonstitution des blutbildenden Systems nach myeloablativer Chemotherapie zu erreichen [43, 53, 76]. Die Transplantation von Zellen aus Nabelschnurblut bietet somit eine Alternative zur allogenen Knochenmarktransplantation.

Für den Aufbau einer Nabelschnurblutbank wird nach der Geburt eines Kindes routinemäßig das in Nabelschnur und Plazenta enthaltene Blut entnommen, kryokonserviert und mit seiner HLA-Typisierung in eine Datenbank aufgenommen. Da Nabelschnurblut leicht zugänglich ist und in großen Mengen als „Nebenprodukt“ anfällt, kann in relativ kurzer Zeit eine große Anzahl an Einheiten erhalten werden [75]. Ein Nachteil des Aufbaus von Nabelschnurblutbanken liegt jedoch in den mit der Kryokonservierung und Lagerung der großen Anzahl an Kollektaten verbundenen Kosten [75]. Die Zahl der bisher verfügbaren Kollektate liegt mit 60.000 ca. 20-50fach niedriger als die Zahl spendebereiter registrierter Menschen. Es ist nicht klar, ob die geringere Chance ein Match in dieser „kleinen Bank“ zu finden durch die bessere Toleranz von Blutstammzellen aus Nabelschnurblut langfristig kompensiert werden kann [45]. Unklar sind auch juristische Probleme, die sich für die Gewinnung und Verwendung von Nabelschnurblut ergeben können.

3.4.2 Expansion hämatopoetischer Stammzellen

Während bei der überwiegenden Anzahl der Patienten eine ausreichende Menge an Stammzellen kollektioniert werden kann, wäre es bei einem Teil der Patienten wünschenswert, eine größere Anzahl Stammzellen zur Verfügung zu haben.

Eine vielversprechende Möglichkeit bietet die ex-vivo Expansion von Stammzellen, bei der versucht wird, die gewünschten Zellen durch geeignete Kulturbedingungen zu vermehren. Auf diese Weise könnte die Anzahl an notwendigen Kollektionierungen vermindert werden, um genügend Stammzellen für eine sichere Transplantation zu erhalten, welches die mit der Kollektionierung verbundene Morbidität reduzieren könnte [62]. Gleichzeitig reduziert sich das Risiko einer Tumorzellkontamination des Transplantates, wenn eine Proliferation der Tumorzellen unter den gegebenen Kulturbedingungen nicht oder nur unzureichend möglich ist [7, 20]. Weiterhin kann durch eine höhere Anzahl transplanteder Stammzellen die Dauer der Leukozytopenie verkürzt und die Anzahl an Komplikationen vermindert werden [14, 94].

Alcorn et al. kultivierten CD34⁺-Zellen, die nach der Kollektionierung zunächst kryokonserviert wurden, zusammen mit einer Zytokinkombination (SCF, IL-3, IL-6, IL-1 β , Erythropoetin). Nach acht Tagen zeigte sich eine mittlere Steigerung der Zellzahlen auf das 21fache (CFU-GM auf das 92fache, BFU-E auf das 46fache). Die Patienten erhielten die expandierten Zellen zusammen mit unmanipulierten Kollektaten. Bei den zehn Patienten wurden keine Nebenwirkungen festgestellt [7]. Lazzari et al. untersuchten den Einfluß verschiedener Zytokinkombinationen auf das in vitro Wachstum hämatopoetischer Stammzellen aus Nabelschnurblut und erreichten eine Vermehrung von CD34⁺-Zellen auf das 235,6fache nach fünf Wochen bzw. auf das 5205,6fache nach zehn Wochen. [46]. Williams warf die Frage auf, ob nicht die Expansion die langfristige Proliferationskapazität hämatopoetischer Stammzellen zugunsten einer höheren Anzahl von determinierten Vorläuferzellen vermindert, welche nur die kurzfristige Rekonstitution der Hämatopoese verursachen. Dies führt zwar zu einer schnelleren Erholung von Leukozyten- und Thrombozytenzahlen nach Transplantation, trifft aber keine verlässliche

Aussage über das Potential, dauerhaft die Funktion der Blutbildung wiederherstellen zu können [96].

3.4.3 Gentherapie

Die Gentherapie beinhaltet Therapieformen, bei denen genetisches Material in menschliche Zellen eingebracht wird. Die Übertragung der DNA geschieht über spezifische Retroviren. Nach der Infektion einer Zielzelle wird die aus der Vektor-RNA transkribierte DNA an zufälliger Stelle in das Genom der Zielzelle eingebaut und unter bestimmten Voraussetzungen auch exprimiert. Voraussetzung für den Einbau der Gensequenz ist jedoch eine Zellteilung der Zielzelle. Unter diesen Umständen ist eine Gentherapie des ruhenden Stammzellpools nicht möglich. Bei einer Stimulation mit verschiedenen Zytokinen bleibt die Frage offen, ob dadurch nicht nur eine Proliferation, sondern gleichzeitig auch eine Differenzierung der Zellen erreicht wird, die zur Folge hat, daß der Einbau der DNA-Sequenzen vorwiegend in bereits differenzierte Vorläuferzellen und nicht wie gewünscht in echte multipotente Stammzellen geschieht [62, 64].

Der Einbau bestimmter Gensequenzen in Zellen eines Kollektats kann die Frage nach der Herkunft eines Rezidivs beantworten. Nach einer Hochdosis-Chemotherapie mit autologer Stammzelltransplantation kann ein Rezidiv entweder auf eine im Kollektat enthaltene Tumorzellkontamination zurückzuführen sein, oder die Ursache liegt darin, daß durch die Hochdosis-Chemotherapie nicht alle Tumorzellen zerstört wurden [24, 72]. Bei acht Patienten mit Neuroblastom in Remission wurde von Rill et al. das gesammelte Knochenmark mit Hilfe eines retroviralen Vektors durch das Neomycin-Resistenz-Gen markiert, bevor es im Rahmen einer autologen Knochenmarktransplantation transplantiert wurde. Bei allen drei Patienten, bei denen ein Rezidiv beobachtet wurde, konnte das Markergen nachgewiesen werden, so daß von einer Beteiligung der im Kollektat enthaltenen Tumorzellen an den Rezidiven ausgegangen werden muß [72].

Ein Einsatz der Gentherapie, um spezifisch mutierte Gensequenzen in vivo zu reparieren, ist zur Zeit aus verschiedenen Gründen noch nicht möglich: Zum einen fehlt bis jetzt eine praktikable Möglichkeit, die übertragenen Gensequenzen an einer spezifischen Stelle im Genom einzubauen. Zum anderen ist die Effizienz der Übertragung durch Retroviren zu niedrig, d.h. die übertragenen Gensequenzen werden von nur einem geringen Anteil von Zellen tatsächlich in das Genom eingebaut. Desweiteren wäre es nötig, die Gensequenzen spezifisch in die Tumorzellen zu übertragen, um unerwünschte Wirkungen auf normale Zellen zu vermeiden [62, 71].

Ein weiteres Einsatzgebiet für die Gentherapie ist die Übertragung von Genen in hämatopoetische Stammzellen, die die Resistenz gegenüber bestimmten Zytostatika erhöhen, z.B. durch die Produktion von Efflux-Pumpen, die aktive Metabolite aus der Zelle befördern. Nach Kollektionierung, Übertragung der gewünschten Gensequenz und anschließender Reinfusion der Stammzellen könnte so eine Population von Stammzellen etabliert werden, die anschließende Zytostatikagaben in höherer Dosierung toleriert [62].

3.5 Zusammenfassung

In den Jahren 1992 bis 1998 wurde bei 59 Patienten in der Medizinischen Klinik IV des Universitätsklinikums der RWTH-Aachen eine Hochdosis-Chemotherapie mit anschließender autologer Stammzelltransplantation durchgeführt.

Die Hochdosis-Chemotherapie mit anschließender autologer Stammzelltransplantation ist eine bei einer Reihe von Tumorerkrankungen der konventionellen Chemotherapie überlegene Behandlung. Durch die autologe Stammzelltransplantation können die Nebenwirkungen einer Chemotherapie auf die Hämatopoese, die sonst oftmals den limitierenden Faktor darstellen, überwunden werden. Durch die nun mögliche Steigerung der Dosisintensität kann bei einer größeren Anzahl von Patienten eine Remission erreicht

werden, gleichzeitig kann die Dauer der Remissionen verlängert und auch höhere Heilungsraten bei bestimmten Tumorerkrankungen erreicht werden.

Die PBSCT ist in Zentren mit entsprechender Erfahrung und apparativer sowie personeller Ausstattung sicher durchführbar und wird als Behandlungsmöglichkeit von den Patienten angenommen und auch im Rückblick in den allermeisten Fällen positiv beurteilt.

Eine Patientin entwickelte in der Folge der Hochdosistherapie eine CMV-Pneumonie und verstarb 50 Tage nach der Transplantation an einem Multiorganversagen.

Bei zwei Patienten fand durch die Transplantation keine ausreichende Rekonstitution der Hämatopoese statt, so daß eine zweite Stammzellrückgabe erfolgte, die zu einer hämatologischen Rekonstitution führte.

Am 30.06.2001 lebten noch 23 Patienten und befanden sich in regelmäßiger Nachkontrolle, 10 davon waren seit der Transplantation rezidivfrei in kompletter Remission.

Bei den inzwischen verstorbenen Patienten fand sich als führende Todesursache das Auftreten eines Tumorrezidivs.

Obwohl die autologe Stammzelltransplantation bei einigen Erkrankungen bereits fest als Behandlungsalternative etabliert ist, müssen weitere Indikationen identifiziert und in Studien untersucht werden. Auch die Möglichkeiten der „Mini-Transplantation“ und der Genterapie bieten für die Zukunft interessante Perspektiven.

4 Literaturverzeichnis

1. Arzneimittelgesetz: Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln. In: Bundesanzeiger. 1999, Bundesanzeiger-Verlag: Köln. 93.
2. Sterbefälle nach ausgewählten Todesursachen. In: Daten des Gesundheitswesens. 1997, Der Bundesminister für Gesundheit: Baden-Baden. 25.
3. Aaronson N.K., Methodologic issues in assessing the quality of life of cancer patients. *Cancer*, 1991. 67 : 844-850.
4. Abraham R., Chen C., Tsang R., Simpson D., Murray C., Davidson M., Meharchand J., Sutton D.M., Crump R.M., Keating A., Steward A.K., Intensification of the stem cell transplant induction regime result in increased treatment-related mortality without improved outcome in multiple myeloma. *Bone Marrow Transplantation*, 1999. 24 : 1291-1297.
5. Abrams R.A., Glaubiger D., Appelbaum F.R., Deisseroth A.B., Result of attempted hematopoietic reconstitution using isologous peripheral blood mononuclear cells: a case report. *Blood*, 1980. 56 (3): 516-520.
6. Abrams R.A., Johnston-Early A., Kramer C., Minna J.D., Cohen M.H., Deisseroth A.B., Amplification of circulating granulocyte-monocyte stem cell numbers following chemotherapy with extensive small cell carcinoma of the lung. *Cancer Research*, 1981. 41 : 35-41.
7. Alcorn M.J., Holyoake T.L., Richmond L., Pearson C., Farrell E., Kyle B., Dunlop D.J., Fitzsimons E., Steward W.P., Pragnell I.B., Franklin I.M., CD34-positive cells isolated from cryopreserved peripheral-blood progenitor cells can be expanded ex vivo and used for transplantation with little or no toxicity. *Journal of Clinical Oncology*, 1996. 14 (6): 1839-1847.
8. Andrews R.G., Bensinger W.I., Knitter G.H., Bartelmez S.H., Longin K., Bernstein I.D., Appelbaum F.R., Zsebo K.M., The ligand for c-kit, stem cell factor, stimulates the circulation of cells that engraft lethally irradiated baboons. *Blood*, 1992. 80 (11): 2715-2720.

9. Antmann K.H., Rowlings P.A., Vaughan W.P., Pelz C.J., Fay J.W., Fields K.K., Freytes C.O., Gale R.P., Stadtmauer B.E., Williams S.F., Wolff S., Sobocinski K.A., Armitage J.O., Horowitz M.M., High-dose chemotherapy with autologous hematopoietic stem-cell support for breast cancer in north america. *Journal of Clinical Oncology*, 1997. 15 (5): 1870-1879.
10. Attarian H., Feng Z., Buckner C.D., MacLeod B., Rownley S.D., Long-term cryopreservation of bone marrow for autologous transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 1996. 17 : 425-430.
11. Barclay A.N., Brown M.H., Law S.K., McNight A.J., Tomlinson M.G., Merwe P.A., CD34. In: *The leukocyte antigen facts book*. 1997, Harcourt Brace & Company. 215-216.
12. Baynes R.D., Dansey R.D., Klein J.L., Hamm C., Campbell M., Abella E., Peters W.P., High-dose chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation for breast cancer: past or future? *Seminars in Oncology*, 2001. 28 (4): 377-388.
13. Bearmen S.I., The syndrome of hepatic veno-occlusive disease after marrow transplantation. *Blood*, 1995. 85 (11): 3005-3020.
14. Bensinger W., Appelbaum F., Rowley S., Storb R., Sanders J., Lilleby K., Gooley T., Demirer T., Schiffman K., Weaver C., Clift R., Chauncey T., Klarnet J., Montgomery P., Petersdorf S., Weiden P., Witherspoon R., Buckner C.D., Factors that influence collection and engraftment of autologous peripheral-blood stem cells. *Journal of Clinical Oncology*, 1995. 13 (10): 2547-2555.
15. Berenson R.J., Bensinger W.I., Andrews R.G., Buckner C.D., Bernstein I., Transplantation with enriched stem cell fractions. In: *Peripheral Blood Stem Cell Autografts*, E.W. Wunder and P.R. Henon, Editors. 1993, Springer-Verlag: Heidelberg. 243-249.
16. Bokemeyer C., Kanz L., Hochdosis-Chemotherapie - neue Chancen und Risiken in der Onkologie. *Arzneimitteltherapie*, 1997. Heft 8 : 237-245.
17. Bolwell B., Pohlman P., Kalaycio M., Wise K., Goormastic M., Andresen S., LDH elevation after autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 1999. 24 : 53-55.

18. Bredeson C., Malcolm J., Davis M., Bence-Bruckler I., Kearns B., Huebsch L., Cost analysis of the introduction of PBPC for autologous transplantation: effect of switching from bone marrow (BM) to peripheral blood progenitor cells (PBPC). *Bone Marrow Transplantation*, 1997. 20 : 889-896.
19. Cahn J.Y., Flesch M., Brion A., Deconinck E., Lecontes des Floris M.F., Voillat L., Plouvier E., Amsallem D., Tiberghien P., Fest T., Angonin R., Carbillet J.P., Herve P., Prevention of veno-occlusive disease of the liver after bone marrow transplantation: heparin or no heparin? *Blood*, 1992. 80 (8): 2149-2150.
20. Chang J., Dexter T.M., Ex-vivo treatment of graft by long-term culture. In: *Peripheral Blood Stem Cell Autografts*, E.W. Wunder and P.R. Henon, Editors. 1993, Springer-Verlag: Heidelberg. 250-254.
21. Chervenick P.A., Boggs D.R., In vitro growth of granulocytic and mononuclear cell colonies from blood of normal individuals. *Blood*, 1971. 37 (2): 131-135.
22. Civin C.I., Strauss L.C., Brovall C., Fackler M.J., Schwartz J.F., Shaper J.H., A hematopoietic progenitor cell surface antigen defined by a monoclonal antibody raised against KG-1a cells. *Journal of Immunology*, 1984. 133 (1): 157-165.
23. Conlan M.G., Haire W.D., Lieberman R.P., Lund G., Kessinger A., Armitage J.O., Catheter-related thrombosis in patients with refractory lymphoma undergoing autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 1991. 7 : 235-240.
24. Cooper B.W., Moss T.J., Ross A.A., Ybanez J., Lazarus H.M., Occult tumor contamination of hematopoietic stem-cell products does not affect clinical outcome of autologous transplantation in patients with metastatic breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 1998. 16 (11): 3509-3517.
25. Cremerius U., Fabry U., Neuerburg J., Zimny M., Bares R., Osieka R., Buell I., Prognostic significance of positron emission tomography using 18-fluorodeoxyglucose in patients treated for malignant lymphoma. *Nuklearmedizin*, 2001. 40 (1): 23-30.
26. Curtis R.E., Rowlings P.A., Deeg H.J., Shriner D.A., Solid cancers after bone marrow transplantation. *The New England Journal of Medicine*, 1997. 226 : 897.
27. Deeg H., Socié G., Malignancies after hematopoietic stem cell transplantation: many questions, some answers. *Blood*, 1998. 91 (6): 1833-1844.

28. Ertem M., Akar N., Factor V leiden mutation as a predisposing factor for veno-occlusive disease following BMT. *Bone Marrow Transplantation*, 2000. 25 (10): 1110-1111.
29. Fliedner T.M., Calvo W., Körbling M., Nothdurft W., Pflieger H., Ross W., Collection, storage and transfusion of blood stem cells for the treatment of hemopoietic failure. *Blood Cells*, 1979. 5 : 313-328.
30. Ghalie R., McLeod B., Richman C., Valentino L., Manson S., Netols C., Kaizer H., Peripheral blood stem cell transplantation: impact on procedure load and workload in an apheresis unit. *Journal of Clinical Apheresis*, 1992. 7 : 201-207.
31. Gluckman E., Wagner J., Hows J., Kernan N., Bradley B., Broxmeyer H.E., Cord blood banking for hematopoietic stem cell transplantation: an international cord blood transplant registry. *Bone Marrow Transplantation*, 1993. 11 : 199-200.
32. Goldman J.M., Catovsky D., Hows J., Spiers A.S.D., Galton D.A.G., Cryopreserved peripheral blood cells functioning as autografts in patients with chronic granulocytic leukaemia in transformation. *British Medical Journal*, 1979 : 1310-1313.
33. Goldman J.M., Schmitz N., Niethammer D., Gratwohl A., Allogeneic and autologous transplantation for heamatological diseases, solid tumors and immune disorders: current practice in europe in 1998. *Bone Marrow Transplantation*, 1998. 21 : 1-7.
34. Goodell M.A., CD34+ or CD34-: does it really matter? *Blood*, 1999. 94 (8): 2545-2546.
35. Goodman J.W., Hodgson G.S., Evidence for stem cells in the peripheral blood of mice. *Blood*, 1962. 19 (6): 702-714.
36. Hjermsstad M.J., Kaasa S., Quality of life in adult cancer patient treated with bone marrow transplantation - a rewiev of the literature. *European Journal of Cancer*, 1995. 31A (2): 163-173.
37. Humpe A., Riggert J., Vehmeyer K., Troff C., Hiddemann W., Köhler M., Wörmann B., Comparison of CD34+ cell numbers and colony growth before and after cryopreservation of peripheral blood progenitor and stem cell harvest: influence of prior chemotherapy. *Transfusion*, 1997. 37 : 1050-1057.
38. Jacobson L.O., Marks E.K., Gaston E.O., Robson M., Zirkle R.E., The role of the spleen in radiation injury. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1949. 70 : 740-.
39. Klumpp T.R., Complications of peripheral blood stem cell transplantation. *Seminars in Oncology*, 1995. 22 (3): 263-270.

40. Koseoglu V., Chiang J., Chan K.W., Acquired pseudocholinesterase deficiency after high-dose cyclophosphamide. *Bone Marrow Transplantation*, 1999. 24 : 1367-1368.
41. Krause D.S., Fackler M.J., Civin C.I., Stratford May W., CD34: structure, biology, and clinical utility. *Blood*, 1996. 87 (1): 1-13.
42. Kurnick N.B., Montano A., Gerdes J.C., Feder B.H., Preliminary observations on the treatment of postirradiation hematopoietic depression in man by the infusion of stored autogenous bone marrow. *Annals of Internal Medicine*, 1958. 49 (5): 973-986.
43. Kurtzberg J., Laughlin M., Graham M.L., Smith C., Olson J.F., Halperin E.C., Ciocci G., Carrier C., Stevens C.E., Rubinstein P., Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients. *The New England Journal of Medicine*, 1996. 335 (3): 157-166.
44. Lanzkron S.M., Collector M.I., Sharkis S.J., Hematopoietic stem cell tracking in vivo: a comparison of short-term and long-term repopulating cells. *Blood*, 1999. 93 (6): 1916-1921.
45. Laughlin M.J., Barker J., Bambach B., Koc O.N., Rizziere D.A., Wagner J.E., Gerson S.L., Lazarus H.M., Cairo M., Stevens C.E., Rubinstein P., Kurtzberg J., Hematopoietic engraftment and survival in adult recipients of umbilical-cord blood from unrelated donors. *The New England Journal of Medicine*, 2001. 344 (24): 1815-1822.
46. Lazzaria L., Lucchi S., Rebulli P., Porretti L., Puglisi G., Lecchi L., Sirchia G., Long-term expansion and maintenance of cord blood haematopoietic stem cells using thrombopoietin, flt3-ligand, interleukin (IL-6 and IL-11 in a serum-free and stroma-free culture system. *British Journal of Haematology*, 2001. 112 : 397-404.
47. Legros M., Fleury J., Bay J.O., Choufi B., Basile M., Condat P., Glenat C., Communal Y., Tavernier F., Bons J.M., Chollet P., Plagne R., Chassagne J., rhGM-CSF vs placebo following rhGM-CSF-mobilized PBSC transplantation: a phase III double-blind randomized trial. *Bone Marrow Transplantation*, 1997. 19 : 209-213.
48. Leitman S.F., Holland P.V., Irradiation of blood products. *Transfusion*, 1985. 25 (4): 293-300.
49. Linch D.C., Winfield D., Goldstone A.H., Moir D., Hancock B., McMillan A., Chopra R., Milligan D., Hudson G.V., Dose intensification with autologous bone-marrow transplantation in relapsed and resistant Hodgkin's disease: result of a BNLI randomized trial. *Lancet*, 1993. 341 : 1051-54.

50. Link H., Kolb H.J., Ebell W., Hossfeld D.K., Zander A., Niethammer D., Wandt H., Grosse-Wilde H., Schaefer U.W., Die Transplantation hämatopoetischer Stammzellen, Teil I: Definitionen, prinzipielle Anwendungsmöglichkeiten, Komplikationen. *Medizinische Klinik*, 1997. 92 (r. 8): 480-491.
51. Link H., Kolb H.J., Ebell W., Hossfeld D.K., Zander A., Niethammer D., Wandt H., Grosse-Wilde H., Schaefer U.W., Die Transplantation hämatopoetischer Stammzellen, Teil II: Indikation zur Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen nach myeloablativer Therapie. *Medizinische Klinik*, 1997. 92 (r. 9): 534-545.
52. Link H., Schmitz N., Gratwohl A., Standards for specialist units undertaking blood and marrow stem cell transplants - recommendations from the EBMT. *Bone Marrow Transplantation*, 1995. 16 : 733-736.
53. Lu L., Xiao M., Shen R.N., Grigsby S., Broxmeyer H.E., Enrichment, characterization, and responsiveness of single primitive CD34+++ human umbilical cord blood hematopoietic progenitors with high proliferative and replating potential. *Blood*, 1993. 81 (1): 41-48.
54. Madrigal J.A., Scott I., Arguello R., Szydlo R., Little A.M., Goldmann J.M., Factors influencing the outcome of bone marrow transplants using unrelated donors. In: *Blood and Marrow Transplantation*, J. Apperley, E. Gluckman, and A. Gratwohl, Editors. 1998, European Blood and Marrow Transplantation: Paris. 34-56.
55. Makino S., Harada M., Akashi K., Taniguchi S., Shibuya T., Inaba S., Niho Y., A simplified method for cryopreservation of peripheral blood stem cells at -80°C without rate-controlled freezing. *Bone Marrow Transplantation*, 1991. 8 : 239-244.
56. Malinin T.I., Pegg D.E., Perry V.P., Brodine C.E., Long-term storage of bone marrow cells at liquid nitrogen and dry ice temperatures. *Cryobiology*, 1970. 7 (1).
57. Mangan K.F., Peripheral blood stem cell transplantation: from laboratory to clinical practice. *Seminars in Oncology*, 1995. 22 (3): 202-209.
58. Martino R., Sierra J., Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation after immunosuppressive but non-myeloablative conditioning: "miniallografts" are no small matter. *Haematologica*, 1998. 83 : 865-867.

59. McDonald G.B., Hinds M.S., Fisher L.D., Shoch H.G., Wolfort J.L., Banaji M., Hardin B.J., Shulman H.M., Clift R.A., Veno-occlusive disease of the liver and multiorgan failure after bone marrow transplantation: a cohort study of 355 patients. *Annals of Internal Medicine*, 1993. 118 : 255-267.
60. Merwin R.M., Repopulation of hematopoietic tissues of x-irradiated mice by cells from leukemoid blood. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1959. 101 : 9-12.
61. Miller G., Brashear T., Stone M., Fay J., Elimination of clonogenic tumor cells from bone marrow using methylprednisolone (mp) and etoposide VP16: an in vitro pharmacologic study. *International Journal of Cell Cloning*, 1991. 9 : 503-510.
62. Moolten D.N., Peripheral blood stem cell transplantant: future directions. *Seminars in Oncology*, 1995. 22 (3): 271-290.
63. Moreau P., Fleury J., Brice P., Colombat P., Bouabdallah R., Lioure B., Voillat L., Casasnovas O., Francois S., Sadoun A., Lamy T., Lotz J.P., Munck J.N., Divine M., Ferme C., Peny A.M., Fruchart C., Oriol P., Ojeda P., Reman O., Milpied N., Gisselbrecht C., Legros M., Harousseau J.L., Early intensive therapy with autologous stem cell transplantation in advanced Hodgkin's disease: retrospective analysis of 158 cases from the french registry. *Bone Marrow Transplantation*, 1998. 21 (8): 787-793.
64. Mulligan R.C., The basic science of gene therapy. *Science*, 1993. 260 : 926-932.
65. Neumann E.C., Beitrag zur Kenntnis des Zahnbein- und Knochengewebes. In: *Real-Encyclopädie der gesamten Heilkunde*. 1863, Urban & Schwarzenberg. 138-139.
66. Palumbo A., Triolo S., Argentino C., Bringhen S., Dominietto A., Rus C., Omedè P., Tarella C., Pileri A., Boccadoro M., Dose-intensive melphalan with stem cell support (MEL100) is superior to standard treatment in elderly myeloma patients. *Blood*, 1999. 94 (4): 1248-1253.
67. Pettengell R., Woll P.J., Oconnor D.A., Dexter T.M., Testa N.G., Viability of haemopoietic progenitors from whole blood, bone marrow and laeukapheresis product: effects of storage media, temperature and time. *Bone Marrow Transplantation*, 1994. 14 : 703-709.
68. Ratajczak M.Z., Gewirtz A.M., The biology of hematopoietic stem cells. *Seminars in Oncology*, 1995. 22 (3): 210-217.

69. Reiffers J., Bernard P., David B., Vezon G., Sarrat A., Marit G., Moulinier J., Broustet A., Successful autologous transplantation with peripheral blood hemopoietic cells in a patient with acute leukemia. *Experimental Hematology*, 1986. 14 : 312-315.
70. Richman C.M., Weiner R.S., Yankee R.A., Increase in circulating stem cells following chemotherapy in man. *Blood*, 1976. 47 (6): 1031-1039.
71. Richter J., Karlsson S., Clinical gene therapy in hematology: past and future. *International Journal of Hematology*, 2001. 73 (2): 162-169.
72. Rill D.R., Santana V.M., Roberts W.M., Nilson T., Bowman L.C., Krance R.A., Heslop H.E., Moen R.C., Ihle J.N., Brenner M.K., Direct demonstration that autologous bone marrow transplantation for solid tumors can return a multiplicity of tumorigenic cells. *Blood*, 1994. 84 (2): 380-383.
73. Rosenfeld C.S., Gremba C., Shaddock R.K., Zeigler Z.R., Nemunaitis J., Engraftment with peripheral blood stem cells using noncontrolled-rate cryopreservation: comparison with autologous bone marrow transplantation. *Experimental Hematology*, 1994. 22 : 290-294.
74. Rowley S.D., Bensinger W.I., Gooley T.A., Buckner C.D., Effect of cell concentration on bone marrow and peripheral blood stem cell cryopreservation. *Blood*, 1994. 83 (9): 2731-2736.
75. Rubinstein P., Dobrila L., Rosenfield R.E., Adamson J.W., Migliaccio G., Migliaccio A.R., Taylor P.E., Stevens C.E., Processing and cryopreservation of placental/umbilical cord blood for unrelated bone marrow reconstitution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995. 92 : 10119-10122.
76. Rubinstein P., Rosenfield R.E., Adamson J.W., Stevens C.E., Stored placental blood for unrelated bone marrow reconstitution. *Blood*, 1993. 81 (7): 1679-1690.
77. Sanders J.E., Hawley J., Levy W., Gooley T., Buckner C.D., Deeg H.J., Doney K., Storb R., Sullivan K., Witherspoon R., Appelbaum F.R., Pregnancies following high-dose cyclophosphamide with or without high-dose busulfan or total-body irradiation and bone marrow transplantation. *Blood*, 1996. 87 (7): 3045-3052.
78. Sato T., Laver J.H., Ogawa M., Reversible expression of CD34 by murine hematopoietic stem cells. *Blood*, 1999. 94 (8): 2548-2554.

79. Schmitz N., Gratwohl A., Goldman J.M., Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders. current practice in europe in 1996 and proposals for an operational classification. *Bone Marrow Transplantation*, 1996. 17 : 471-477.
80. Sharp J.G., Kessinger A., Vaughan W.P., Mann S., Crouse D.A., Dicke K., Masih A., Weisenburger D.D., Detection and clinical significance of minimal tumor cell contamination of peripheral stem cell harvests. *Int J Cell Cloning*, 1992. 10 (Suppl 1): 92-94.
81. Shipp M.A., Harrington D.P., Anderson J.R., Armitage J.O., A predictive model for aggressive non-hodgkin's lymphoma. *The New England Journal of Medicine*, 1993. 329 (14): 987-994.
82. Slavin S., Nagler A., Naparstek E., Kapelushnik Y., Aker M., Cividalli G., Varadi G., Kirschbaum M., Ackerstein A., Samuel S., Amar A., Brautbar C., Ben-Tal O., Eldor A., Or R., Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases. *Blood*, 1998. 91 (3): 756-763.
83. Socinski M.A., Cannistra S.A., Elias A., Antman K.H., Schnipper L., Griffin J.D., Granulocyte-macrophage colony stimulating factor expands the circulating haemopoietic progenitor cell compartment in man. *The Lancet*, 1988 : 1194-1198.
84. Sonnenberg F.A., Eckman M.H., Pauker S.G., Bone marrow donor registries: the relation between registry size and probability of finding complete and partial matches. *Blood*, 1989. 74 (7): 2569-2578.
85. Sou tre E., Qing W., P nelaud P.F., Economic analysis of the use of recombinant human granulocyte colony stimulating factor in autologous bone marrow transplantation. *European Journal of Cancer*, 1996. 32A (7): 1162-1165.
86. Stadtmauer E.A., O'Neill A., Goldstein L.J., Crilley P.A., Mangan K.F., Ingle J.N., Brodsky I., Martino S., Lazarus H.M., Erban J.K., Sickles C., Glick J.H., Conventional-dose chemotherapy compared with high-dose chemotherapy plus autologous hematopoietic stem-cell transplantation for metastatic breast cancer. *The New England Journal of Medicine*, 2000. 342 : 1069-1076.

87. Thomas E.D., Lochte H.L., Cannon J.H., Sahler O.D., Ferrebee J., Supralethal whole body irradiation and isologous marrow transplantation in man. *Journal of Clinical Investigation*, 1959. 38 : 1709-1716.
88. Vescio R., Schiller G., Steward A.K., Ballester O., Noga S., Rugo H., Freytes C., Stadtmauer E., Tarantolot S., Sahebi F., Stiff P., Meharchard J., Schlossman R., Brown R., Tully H., Benyunes M., Jacobs C., Berenson R., DiPersio J., Anderson K., Berenson J., Multicenter phase III trial to evaluate CD34+ selected versus unselected autologous peripheral blood progenitor cell transplantation in multiple myeloma. *Blood*, 1999. 93 (6): 1858-1868.
89. Vesole D.H., Tricot G., Jagannath S., Desikan K.R., Siegel D., Bracy D., Miller L., Cheson B., Crowley J., Barlogie B., Autotransplants in multiple myeloma: what have we learned? *Blood*, 1996. 88 (3): 838-847.
90. von Herbay A., Dörken B., Mall G., Körbling M., Cardiac damage in autologous bone marrow transplant patients: an autopsy study. *Klinische Wochenschrift*, 1988. 66 : 1175-1181.
91. Vose J.M., Anderson J.R., Kessinger A., Biermann P.J., Coccia P., Reed E.C., Gordon B., Armitage J.O., High-dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem-cell transplantation for aggressive non-hodgkin's lymphoma. *Blood*, 1993. 11 (10): 1846-1851.
92. Vose J.M., Kennedy B.C., Bierman P.J., Kessinger A., Armitage J.O., Long-term sequelae of autologous bone marrow or peripheral stem cell transplantation for lymphoid malignancies. *Cancer*, 1992. 69 (3): 784-789.
93. Watanabe T., Dave B., Heimann D.G., Jackson J.D., Kessinger A., Talmadge J.E., Cell adhesion molecule expression on CD34+ cells in grafts and time to myeloid and platelet recovery after autologous stem cell transplantation. *Experimental Hematology*, 1998. 26 : 10-18.
94. Weaver C.H., Potz J., Redmond J., Tauer K., Schwartzberg L.S., Kaywin P., Drapkin R., Grant B., Unger P., Allen C., Longin K., Zhen B., Hazelton B., Buckner C.D., Engraftment and outcomes of patients receiving myeloablative therapy followed by autologous peripheral blood stem cells with a low CD34+ cell content. *Bone Marrow Transplantation*, 1997. 19 : 1103-1110.

95. Weiden P.L., Sullivan K.M., Flournoy N.F., Storb R., Thomas E.D., Antileukemic effect of chronic graft-versus-host disease. *The New England Journal of Medicine*, 1981. 304 (25): 1529-1533.
96. Williams D.A., Ex vivo expansion of hematopoietic stem and progenitor cells - robbing peter to pay paul? *Blood*, 1993. 81 (12): 3169-3172.
97. Zander A.R., Krüger W., Kröger N., Damon L., Königmann M., Berdel W.E., Giesecking F., Schäfer-Eckart K., Möbus V., Frickhofen N., Wandt H., Illiger H.J., Metzner B., Kolbe K., Wörmann B., Trümper L., Huber C., Hossfeld D.K., Maass H., Jonat W., High dose mitoxantrone with thiotepa, cyclophosphamide and autologous stem cell rescue for high risk stage II and stage III breast cancer. *Bone Marrow Transplantation*, 1996. 18 (Suppl. 1): 24-25.
98. Zucker-Franklin D., Greaves M.F., Grossi C.E., Marmont A.M., *Atlas of blood cells*. 1988, Philadelphia: Lea & Febinger. 6.

5 Anhang

5.1 Abkürzungsverzeichnis

ALT	<u>A</u> laninaminotransferase
AMG	<u>A</u> rzneimittelgesetz
AST	<u>A</u> spartataminotransferase
BEAM	<u>B</u> CNU, <u>E</u> toposid, Cytarabinosid = <u>A</u> lexan® und <u>M</u> elphalan
BFU-E	<u>b</u> urst- <u>f</u> orming- <u>u</u> nit für <u>E</u> rythrozyten
BMT	<u>b</u> one <u>m</u> arrow <u>t</u> ransplantation
CARES	<u>C</u> ancer <u>R</u> ehabilitation <u>E</u> valuation <u>S</u> ystem
CBV	<u>C</u> yclophosphamid, <u>B</u> CNU und Etoposid = <u>V</u> epesid®
CD	<u>c</u> luster of <u>d</u> ifferentiation
CFU-Bas	<u>c</u> olony- <u>f</u> orming- <u>u</u> nit für <u>b</u> asophile Granulozyten
CFU-Eo	<u>c</u> olony- <u>f</u> orming- <u>u</u> nit für <u>e</u> osinophile Granulozyten
CFU-GEMM	<u>c</u> olony- <u>f</u> orming- <u>u</u> nit für <u>G</u> ranulozyten, <u>E</u> rythrozyten, <u>M</u> onozyten und <u>M</u> egakaryozyten
CFU-GM	<u>c</u> olony- <u>f</u> orming- <u>u</u> nit für neutrophile <u>G</u> ranulozyten und <u>M</u> akrophagen
CFU-Mega	<u>c</u> olony- <u>f</u> orming- <u>u</u> nit für <u>M</u> egakaryozyten
CMV	<u>C</u> ytomegalievirus
CR	<u>c</u> omplete <u>r</u> emission
DMSO	<u>D</u> imethylsulfoxid
DRST	<u>D</u> eutsches <u>R</u> egister für <u>S</u> tammzelltransplantationen
EBMT	<u>E</u> uropean <u>G</u> roup for <u>B</u> lood and <u>M</u> arrow <u>T</u> ransplantation
FACT	<u>F</u> unctional <u>A</u> ssessment of <u>C</u> ancer <u>T</u> herapy Scale
FLIC	<u>F</u> unctional <u>L</u> iving <u>I</u> ndex <u>C</u> ancer
FUO	<u>f</u> ever of <u>u</u> nknown <u>o</u> rigin
G-CSF	<u>c</u> olony- <u>s</u> timulating- <u>f</u> actor für <u>G</u> ranulozyten
GM-CSF	<u>c</u> olony- <u>s</u> timulating- <u>f</u> actor für <u>G</u> ranulozyten und <u>M</u> onozyten
GvH	<u>G</u> raft- <u>v</u> ersus- <u>H</u> ost
GvHD	<u>G</u> raft- <u>v</u> ersus- <u>H</u> ost <u>D</u> isease
HAES	<u>H</u> ydroxyaethylstärke
HLA	<u>h</u> uman <u>l</u> eukocyte <u>a</u> ntigen

HPC	<u>h</u> aematopoietic <u>p</u> rogenitor <u>c</u> ell
HSC	<u>h</u> aematopoietic <u>s</u> tem <u>c</u> ell
HvG	<u>H</u> ost- <u>v</u> ersus- <u>G</u> raft
IBMTR	<u>I</u> nternational <u>B</u> one <u>M</u> arrow <u>T</u> ransplantation <u>R</u> egistry
KMT	<u>K</u> nochen <u>m</u> ark <u>t</u> ransplantation
LDH	<u>L</u> aktat <u>d</u> e <u>h</u> ydrogenase
NHL	<u>N</u> on- <u>H</u> odgkin- <u>L</u> ymphom
PCHE	<u>P</u> seudo <u>c</u> holin <u>e</u> sterase
PBS	phosphate <u>b</u> uffered <u>s</u> aline
PBSCT	peripheral <u>b</u> lood <u>s</u> tem- <u>c</u> ell <u>t</u> ransplantation
PCB	placental/umbilical <u>c</u> ord <u>b</u> lood
PD	<u>p</u> rogressive <u>d</u> isease
PR	partial <u>r</u> emission
RSCL	<u>R</u> otterdam <u>S</u> ymptom <u>C</u> heck <u>l</u> ist
SCID	<u>s</u> evere <u>c</u> ombined <u>i</u> mmunode <u>f</u> iciency
SCF	<u>s</u> tem <u>c</u> ell <u>f</u> actor
SD	<u>s</u> table <u>d</u> isease
VOD	(hepatic) <u>v</u> eno- <u>o</u> cclusive <u>d</u> isease
WBC	<u>w</u> hite <u>b</u> lood <u>c</u> ells

5.2 Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1-1 Ablauf autologer und allogener Stammzelltransplantation
- Abbildung 1-2 Vorläuferzelle des hämatopoetischen Systems (Elektronenmikroskopie) aus: Zucker-Franklin et al., Atlas of Blood Cells. Vol. 1. 1988, Philadelphia: Lea & Febinger. p6. [98]
- Abbildung 1-3 Das CD34-Antigen aus: Barclay et al., The leucocyte antigen factsbook, 2nd Edition, 1997, San Diego: Harcourt Brace & Company. p215. [11]
- Abbildung 1-4 Stammbaumschema der Hämatopoese (vereinfacht)
- Abbildung 2-1 Anzahl durchgeführter Transplantationen
- Abbildung 2-2 Alter der Patienten bei Transplantation
- Abbildung 2-3 Verteilung der Diagnosen
- Abbildung 2-4 Remissionsstatus vor und in erster Verlaufskontrolle nach Transplantation
- Abbildung 2-5 Verlauf des Medians der Leukozytenwerte
- Abbildung 2-6 Exemplarischer Verlauf der Leukozytenwerte bei Kollektionierung (Pat.Nr. 43)
- Abbildung 2-7 Beispielhafter Temperaturverlauf bei der Kryokonservierung
- Abbildung 2-8 Verlauf der medianen Leukozytenwerte im Rahmen der Blutstammzelltransplantation
- Abbildung 2-9 Verlauf der medianen Thrombozytenzahlen im Rahmen der Blutstammzelltransplantation
- Abbildung 2-10 Anzahl der transfundierten Blutprodukte
- Abbildung 2-11 Rekonstitution der Hämatopoese (Leukozyten ≥ 1 G/l und Thrombozyten ≥ 30 G/l)
- Abbildung 2-12 Verlauf von Aspartataminotransferase (AST), Alaninaminotransferase (ALT) und Gesamt-Bilirubin
- Abbildung 2-13 Verlauf von Fibrinogen und Pseudocholinesterase
- Abbildung 2-14 Verlauf der Laktatdehydrogenase (LDH)
- Abbildung 2-15 Verlauf von Amylase und Lipase
- Abbildung 2-16 Verlauf von Harnsäure und Kreatinin
- Abbildung 2-17 Dauer des stationären Krankenhausaufenthaltes nach Transplantation
- Abbildung 3-18 Abhängigkeit der Leukozyten-Rekonstitution von der Zahl transplantiertes CD34+-Zellen
- Abbildung 3-1 Wahrscheinlichkeit für rezidivfreies Überleben (alle Patienten)
- Abbildung 3-2 Überlebenswahrscheinlichkeit (alle Patienten)
- Abbildung 3-3 Überlebenswahrscheinlichkeit (hochmaligne NHL)

-
- Abbildung 3-4 Wahrscheinlichkeit für rezidivfreies Überleben (hochmaligne NHL)
- Abbildung 3-5 Wahrscheinlichkeit für rezidivfreies Überleben (niedrigmaligne NHL)
- Abbildung 3-6 Überlebenswahrscheinlichkeit (niedrigmaligne NHL)
- Abbildung 3-7 Wahrscheinlichkeit für rezidivfreies Überleben (Plasmozytome)
- Abbildung 3-8 Überlebenswahrscheinlichkeit (Plasmozytome)

Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei denjenigen bedanken, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben:

Prof. Dr. med. R. Osieka, Dr. med. U. Fabry, Herr Esser und Herr Glatte, sowie ganz besonders meine Frau Meike und meine Eltern Inge und Paul Wilop.

Curriculum vitae

Personalien

Name: Stefan Wilop
Geburtsdatum: 13.09.1973
Geburtsort: Kempen
Familienstand: verheiratet, keine Kinder

Ausbildung

1980 - 1984 Kath. Grundschule Schmalbroich
1984 - 1993 Luise-von-Duesberg-Gymnasium Kempen
Abitur
07/93 - 09/94 Zivildienst an der Rettungswache der Stadt Kempen
15.10.1994 Beginn des Medizinstudiums an der RWTH-Aachen
12/00 Ärztliche Prüfung
01/01-07/02 Arzt im Praktikum in der Medizinischen Klinik IV
(Hämatologie/Onkologie) des Universitätsklinikums Aachen
seit 07/02 Assistenzarzt in der Medizinischen Klinik IV (Hämatologie/Onkologie)
des Universitätsklinikums Aachen