

Aus der Abteilung für Transfusionsmedizin
und Immunhämatologie
der Universität Würzburg
Leiter: Professor Dr. med. M. Böck

**Die Optimierung des Zeitpunktes der autologen Stammzellseparation nach
verschiedenen Chemotherapieregimen unter klinischen
und ökonomischen Gesichtspunkten**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg
vorgelegt von
Darius Dominik Sepehrmanesh
aus Düsseldorf

Würzburg, Oktober 2007

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. F. Weissinger

Koreferent: Prof. Dr. med. M. Böck

Dekan: Prof. Dr. med. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 12. Oktober 2007

Der Promovend ist Arzt

Abkürzungsverzeichnis

AD	Autoimmunerkrankungen
AS	adulte Stammzellen
CD	cluster of differentiation
CFU-GM	colony-forming-unit granulocyte monocyte
CMV	Cytomegalie
ES	embryonale Stammzellen
FSC	forward scatter
G-CSF	Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor
GM-CSF	Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor
GVHD	Graft-versus-host-disease
GVL	Graft-versus-leukemia
HDT	Hochdosistherapie
HLA	humane Leukozytenantigene
HSZ (od. engl. HSC)	humane Stammzellen
KG	Körpergewicht
KM (od. engl. BM)	Knochenmark
KMT (od. engl. BMT)	Knochenmarkstransplantation
PB	periphere Blut
PBSZ (od. engl. PBSC)	periphere Blutstammzellen
PBSZT (od. engl. PBSCT)	periphere Blutstammzelltransplantation
SSC	side scatter
TBI	total body irradiation
TNC	total nucleated cells
VZV	varicella zoster

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG.....	1
1.1	ÜBERSICHT ÜBER HUMANE STAMMZELLEN.....	1
1.1.1	<i>Adulte Stammzellen</i>	2
1.1.2	<i>Embryonale Stammzellen</i>	4
1.2	STAMMZELLMOBILISIERUNG.....	5
1.3	SAMMLUNG UND ANREICHERUNG PERIPHERER BLUTSTAMMZELLEN.....	6
1.4	CHEMOTHERAPIE UND MYELOSUPPRESSION	7
1.5	TRANSPLANTATION PERIPHERER BLUTSTAMMZELLEN.....	8
1.6	HISTORIE.....	8
1.7	VERGLEICH ZWISCHEN KNOCHENMARKSTAMMZELLEN UND PBSCs	9
1.7.1	<i>Zusammensetzung der Separate</i>	9
1.7.2	<i>Die hämatologische Rekonstitution nach der Transplantation.....</i>	11
1.7.3	<i>Graft-versus-host-disease (GVHD)</i>	11
1.7.4	<i>Das Gesamtüberleben.....</i>	12
1.8	WEITERE ANSÄTZE DER STAMMZELLTHERAPIE	12
1.8.1	<i>Nabelschnurblut- eine zusätzliche Stammzellquelle</i>	12
1.8.2	<i>Autoimmunerkrankungen (AD).....</i>	13
1.9	KOSTEN.....	14
1.10	ZIEL DIESER ARBEIT.....	14
2	MATERIAL UND METHODEN	16
2.1	ALLGEMEINES	16
2.2	PATIENTENCHARAKTERISTIKA	18
2.3	UNTERSUCHTE CHEMOTHERAPIEPROTOKOLLE	19
2.3.1	<i>Dexa-BEAM.....</i>	19
2.3.2	<i>HD-Endoxan.....</i>	19
2.3.3	<i>Mega-CHOEP</i>	19
2.3.4	<i>E-SHAP</i>	19
2.3.5	<i>DHAP</i>	20
2.3.6	<i>PEI.....</i>	20
2.4	DURCHFLUSSZYTOMETRIE	20
2.5	MESSUNG DER CD34+ ZELLEN.....	21
3	ERGEBNISSE.....	23
3.1	EINFLUSSGRÖßEN AUF DEN SEPARATIONSERFOLG	23
3.1.1	<i>Alter.....</i>	23
3.1.2	<i>Geschlecht</i>	25
3.1.3	<i>Diagnose.....</i>	27
3.1.4	<i>Die CD34+ Stammzellen im peripheren Blut am jeweiligen Separationstag.....</i>	29
3.1.5	<i>Die Leukozyten im peripheren Blut am jeweiligen Separationstag</i>	31
3.2	DAS SEPARATIONSERGEBNIS UND DIE VERTEILUNG DER SEPARATIONSTAGE.....	33
3.2.1	<i>gesamt.....</i>	33
3.2.2	<i>Dexa-BEAM.....</i>	39
3.2.3	<i>HD Endoxan</i>	45
3.2.4	<i>m-CHOEP</i>	51
3.2.5	<i>DHAP+E-SHAP</i>	57
3.2.6	<i>PEI.....</i>	63

4	DISKUSSION	69
4.1	DER SEPARATIONSERFOLG.....	69
4.2	EINFLUSSGRÖßEN AUF DEN SEPARATIONSERFOLG	70
4.3	DIE BESTIMMUNG DES OPTIMALEN SEPARATIONSZEITPUNKTES	71
4.4	DIE PLANBARKEIT DER SEPARATIONEN UNTER KLINISCHEN UND ÖKONOMISCHEN GESICHTSPUNKTEN	73
4.5	EMPFEHLUNGEN FÜR DEN BEGINN DER MOBILISIERUNGSTHERAPIE	75
5	ZUSAMMENFASSUNG	77
	LITERATURVERZEICHNIS	78

1 Einleitung

1.1 Übersicht über humane Stammzellen

Humane Stammzellen sind die Ursprungszellen des menschlichen Organismus und auch der regenerierende Ursprung der verschiedenen Gewebe des Körpers. Primär kann man Stammzellen nach ihrer Herkunft in adulte (postnatal von einem ausgereiften Organismus) und embryonale Stammzellen einteilen. Eine weitere Einteilungsmöglichkeit ist ihr Differenzierungspotential. Adulte Stammzellen haben in der Regel im Gegensatz zu den embryonalen Stammzellen nicht mehr die Fähigkeit, sich keimblattübergreifend in alle Gewebe zu differenzieren, sondern gegebenenfalls nur noch in verschiedene Zellarten eines Gewebes. Ihnen kommen beispielsweise Reparaturaufgaben zu. Sie sind dadurch gekennzeichnet, dass sie die Fähigkeit sowohl zur Selbsterneuerung als auch zur Entwicklung in spezialisierte Zelltypen besitzen.

Mit dem Begriff „Stammzellen“ werden bei der Bevölkerung oft verschiedene negative Assoziationen geweckt, doch werden im allgemeinen Sprachgebrauch häufig die embryonalen Stammzellen (ES) mit dem Begriff "Stammzellen" bezeichnet. Dabei sind es die ES, die aufgrund der sog. destruktiven Embryonenforschung, bei der es während der Stammzellgewinnung zum Absterben der Blastozyste kommt, in Forschung und Medizin umstritten sind.

Schon seit langem besteht vermehrtes Interesse an Zellen, die die Möglichkeit haben, untergegangene Zellen zu ersetzen. Zellen können aus vielerlei Gründen untergehen. Sie können zum Beispiel durch Bestrahlung, durch Chemikalien, durch extreme Temperaturen, durch Mikroorganismen untergehen oder aber einfach an „Altersschwäche“ sterben. Die Lebensdauer der einzelnen Zellen ist hierbei sehr unterschiedlich: Einige Granulozyten zum Beispiel, die für die Infektabwehr verantwortlich sind, leben nur wenige Stunden, während Erythrozyten, die roten Blutkörperchen, die dafür verantwortlich sind, dass der Körper ständig mit Sauerstoff versorgt wird, bis zu drei Monate leben und manche Nervenzellen im Gehirn sogar ein ganzes Menschenleben. Im Rahmen dieser Arbeit beschäftigen wir uns mit den hämatopoetischen Stammzellen, den adulten Stammzellen, die das Reservoir der Blutbildung darstellen, welches dafür sorgt, dass untergegangene Zellen ständig

regeneriert werden. Das Blut an und für sich besteht aus dem Plasma, seiner flüssigen Phase, in der die Blutzellen und viele andere Blutbestandteile gelöst sind. Die Blutzellen gliedern sich in die roten Blutkörperchen (Erythrozyten), die Sauerstoff reversibel an Hämoglobin binden können und so jedes Gewebe des Körpers versorgen, die weißen Blutkörperchen (Leukozyten), die unter anderem wichtig für die Abwehr von Bakterien, Viren, Pilze und Parasiten sind, die ubiquitär in unserer Umwelt vorkommen können, und schließlich die Blutplättchen (Thrombozyten), die dafür sorgen, dass größere und kleinere Läsionen in unserem Blutgefäßsystem schnell und zuverlässig abgedichtet werden. Ohne eine ständige Regeneration der Blutzellen würden die Zellen des peripheren Blutes bei nur begrenzter Lebensdauer (Erythrozyten 120 d, Thrombozyten 10 d, Leukozyten 1-2 d) rapide abnehmen. Um nicht an Blutarmut (Anämie), Infektionen und Blutungen zu sterben, ist der Körper auf eine Aufrechterhaltung der Homöostase durch die Regeneration der im KM vorhandenen HSZ angewiesen. Ein solcher Zustand der KM-Depression kann durch eine Chemotherapie oder eine Bestrahlung erzeugt werden, kann aber auch im Rahmen z.B. einer Leukämie entstehen, bei der die Tumorzellen eine regelhafte Blutbildung nicht mehr zulassen.

1.1.1 Adulte Stammzellen

Während der frühen Embryonalentwicklung kommt es zur Bildung der drei Keimblätter Entoderm (bildet Verdauungsorgane und Lunge), Ektoderm (bildet Haut und Nervensystem) und Mesoderm (bildet Knochen, Muskel und Blutsystem). Von Zellen, die an der Bildung des jeweiligen Keimblattes beteiligt sind, wurde lange Zeit angenommen, dass ihr Differenzierungspotential bereits mit der Zugehörigkeit zu einem bestimmten Keimblatt auf die jeweilige Zelllinie beschränkt ist und dass keimblattübergreifende Differenzierung nicht mehr möglich ist (Multipotenz). Das heißt, die jeweiligen Stammzellen eines jeden Gewebes können mit fortschreitender Differenzierung nur begrenzt auf ihre Zellreihe Gewebe regenerieren.

Adulte Stammzellen werden in verschiedenen Geweben des menschlichen Körpers gefunden. Sie haben die Aufgabe, für eine ständige Regeneration untergegangenen Gewebes zu sorgen.

Aktuell wird kontrovers diskutiert, ob AS definitiv nur in der Lage sind, zu einem bestimmten Gewebstyp auszudifferenzieren, oder ob sie die Eigenschaft der Plastizität aufweisen, das bedeutet in der Lage sind, in andere Gewebe zu transdifferenzieren. Ein solches Transdifferenzierungspotential könnte zukunftsweisend die Stammzellforschung beeinflussen, da theoretisch bedenkliche Arbeiten an ES hinfällig wären.

Im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass aus Nervenzell-Stammzellen Blutzellen entstehen können und durch die Transplantation von Knochenmarkstammzellen neue Herz-, Endothel-, Muskel- und Leberzellen^{1,2,3}.

Jedoch wurde dieses Konzept der Plastizität der AS immer mehr in Frage gestellt^{4,5}. Die beschriebenen Transdifferenzierungen von AS waren möglicherweise nur eine Fehlinterpretation der Ergebnisse, die durch die Zellfusion adulter Stammzellen und Gewebszellen entstanden sein könnten.

Dass Differenzierung potentiell reversibel ist, wissen wir schon durch den Kerntransfer einer adulten somatischen Zelle in eine entkernte Eizelle, welche dann wiederum Stammzellen und sogar Embryonen generieren kann (therapeutisches Klonen). Auch der Vorgang der Dedifferenzierung könnte also regeneratives Potential besitzen, indem Zellen auf ein Niveau verminderter Differenzierung zurückfallen.

1.1.2 Embryonale Stammzellen

ES sind pluripotent, wenn sie sich in alle Gewebe des menschlichen Körpers differenzieren und totipotent, wenn aus ihnen ein neuer Organismus entstehen kann. Nur sehr junge Embryonen sind bis etwa zum Achtzellstadium totipotent.

ES lassen sich auf drei Wegen gewinnen:

1. ES können aus „überzähligen“, d.h. nicht mehr benötigten Embryonen im Rahmen der In-Vitro-Fertilisation (IVF) in der Reproduktionsmedizin gewonnen werden. Nach hormoneller Stimulation und Gewinnung von Eizellen aus den Ovarien der Frau werden sie *in vitro* mit Spermien des Mannes zusammengebracht. Es kommt zur Bildung einer befruchteten Eizelle (Zygote), aus der durch mehrere Teilungen schließlich die Blastocyste entwickelt. Sie besteht aus einer äußeren Trophoblastenschicht, aus denen später Teile der Plazenta entstehen, und einer inneren Zellmasse, den Embryoblasten. Diese Embryoblasten, aus denen später die embryonalen Stammzellen hervorgehen, können als ES kultiviert werden. Diese pluripotenten Zellen sind in der Lage, sich zu jedem Zelltyp eines erwachsenen Organismus zu differenzieren, d. h. zu allen Zellen, die aus den drei Keimblättern hervorgehen.

2. durch Kernttransfer (therapeutisches Klonen). Bei dieser Methode wird, zwecks Gewinnung eines auf den Empfänger zugeschnittenen Gewebes, in eine Spendereizelle nach Entkernung *in vitro* der Nukleus z.B. einer Hautzelle des Empfängers eingebracht. Durch verschiedene Stimuli kommt es zu Teilungen der neuen Zelle. Nach bis zu sieben Tagen entsteht nun wieder eine Blastozyste, aus der embryonale Stammzellen generiert werden können, welche mit dem Erbgut des Empfängers genetisch identisch sind. Das heißt, sie können ohne die Gefahr einer Abstoßung übertragen werden.

3. durch die Gewinnung primordialer Keimzellen aus frühzeitig abgegangenen oder abgetriebenen, fünf- bis neun Wochen alten Föten. Sie lassen sich unter geeigneten Kulturbedingungen zu embryonalen Stammzellen weiterentwickeln. Dieses Verfahren ist jedoch technisch sehr schwierig und auch nur bedingt therapeutisch einsetzbar.

1.2 Stammzellmobilisierung

Richman et al. beschrieben 1976 erstmals den mobilisierenden Effekt einer intermittierenden Chemotherapie auf die Stammzellen im peripheren Blut bei Krebspatienten, wobei sich die Werte der CFU-C (circulating granulocytic stem cells) im peripheren Blut zeitweise verzwanzigfachen⁶. Sie erkannten die Möglichkeit, hier eine ausreichende Menge Stammzellen zu gewinnen, wenn man den Zeitpunkt der Leukapherese an den Stammzell-Peak anpasst.

Die alleinige Mobilisierung von Stamm- und Progenitorzellen durch Wachstumsfaktoren (z.B. rhG-CSF, rhGM-CSF; Granulozyten- bzw. Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor) hat sich als akzeptable und effektive Behandlungsmethode bei sowohl „normalen“, gesunden Spendern im Rahmen der allogenen Stammzelltransplantation als auch bei Krebspatienten etabliert. Aus offensichtlichen ethischen Gründen kann die Mobilisierungstherapie bei gesunden Fremdspendern nicht, wie bei der autologen Therapie, auf einer Kombinationsbehandlung mit Chemotherapeutika beruhen. Man hat somit auch bei der allogenen Stammzellseparation einen Weg gefunden, ausreichend viele Stammzellen ins periphere Blut auszuschwemmen.

Die Kombination aus Chemotherapie und Wachstumsfaktoren kann die Zahl der zirkulierenden Blutstammzellen um den Faktor 1.000 steigern⁷. Die Gabe eines Wachstumsfaktors (G-CSF oder GM-CSF 3-10µg/kgKG/d) erfolgt nach Komplettierung der Chemotherapie, die an die jeweilige maligne Grunderkrankung zu adaptieren ist, und wird in der Regel bis zum Ende der Sammlung fortgeführt. Schwartzberg et al. konnten nachweisen, dass eine steigende Dosisintensität eines Chemotherapieprotokolls und die zusätzliche Gabe von G-CSF die Stammzellausbeute gegenüber einer alleinigen Chemotherapie verbessert. Zusätzlich kann diese kombinierte Mobilisierung die Anzahl der benötigten Apheresen vermindern⁸. Die hämatologische Toxizität von Cyclophosphamid (7g/m²), die eine Myelosuppression mit Infektionen und Blutungen hervorrufen kann, wird durch eine anschließende Gabe von G-CSF abgeschwächt. Gianni et al. berichten von einer Verminderung infektiöser Komplikationen von 24% auf 7%, von einem Rückgang der Plättchentransfusionen von 43% auf 13% und von einer schnelleren Erholung der Granulozyten nach

Cyclophosphamid-Therapie und zusätzlicher Gabe von GM-CSF (5,5µg/kgKG/d), verglichen mit einer Kontrollgruppe ohne Wachstumsfaktorengabe⁹.

1.3 Sammlung und Anreicherung peripherer Blutstammzellen

Heutzutage bevorzugt man die Sammlung von peripheren Blutstammzellen (PBSZ) über Zellseparatoren, die die Stammzellen mittels Zentrifugalkräften aus dem peripheren Blut eines Patienten isolieren und ihm anschließend das prozessierte Blut über einen zweiten venösen Zugang wieder reinfundieren. Dieses Verfahren dauert etwa vier bis sechs Stunden. Die früher übliche Entnahme aus dem Knochenmark war mit erheblichen Schmerzen verbunden und wurde in Vollnarkose durchgeführt. Des Weiteren wird nach der Transplantation von PBSZ die Blutbildung schneller wieder aktiviert.

Ob und in wie weit sich Nabelschnurblut als weitere Stammzellquelle durchsetzen wird, muss weiterhin abgewartet werden.

Das Problem bei der Stammzellasservation aus dem peripheren Blut liegt in der physiologisch geringen Konzentration von PBSZ. Durch eine konventionelle Chemotherapie (sog. Induktionstherapie) werden Stammzellen als Reaktion auf die KM-Schädigung in das periphere Blut mobilisiert, wobei dieser Effekt durch Gabe von bestimmten Wachstumsfaktoren noch forciert werden kann. Nachdem eine ausreichende Menge Stammzellen gesammelt wurde, werden sie unter kontrollierten und standardisierten Bedingungen in flüssigem Stickstoff tiefgefroren. Da in vielen Fällen die gesammelten Stammzellen mit Tumorzellen kontaminiert sein können, besteht beim Purgings die Möglichkeit, die Stammzellen anzureichern und die Tumorzellen zu eliminieren. Der langfristige Erfolg des Purgings ist allerdings noch nicht bewiesen und wird immer noch kontrovers diskutiert, da man nicht genau weiß, in wie weit die reinfundierten Tumorzellen zum Rezidiv beitragen und außerdem da auch trotz Tumorlast des Präparates eine Heilung möglich ist. Die Transplantation von PBSZ erfolgt als venöse Injektion oder Infusion. Es wird ein zeitlicher Abstand zur Chemotherapie von ca. 48 Stunden eingehalten, um einen zytotoxischen Effekt der Chemotherapie auf die transplantierten Stammzellen zu vermeiden. In der Zeit zwischen Transplantation und Wiedereinsetzen der Blutbildung befindet sich der Patient in der Aplasiephase, in der der Patient unter möglichst sterilen Bedingungen unterzubringen

ist, um das Risiko von Infektionen zu verringern. Nach zwei bis drei Wochen sind wieder ausreichend viele weiße Blutkörperchen vorhanden, so dass schließlich die Infektgefährdung nachlässt und eine Isolierung des Patienten nicht mehr nötig ist.

1.4 Chemotherapie und Myelosuppression

Die Chemotherapie wirkt nicht selektiv, das heißt, auch körpereigenes Gewebe geht zugrunde. Zytostatika hemmen das Tumorstadium über verschiedene Mechanismen, z.B. über Eingriffe in den Zellstoffwechsel oder über Apoptoseinduktion. Sie wirken vornehmlich auf sich rasch teilende Zellen wie zum Beispiel Tumorzellen, aber auch Schleimhautzellen, Haarwurzeln und vor allem unsere Blutzellen sind von dem zytostatischen Effekt direkt betroffen. Die Folgen sind hier zum Beispiel Durchfall (Diarrhö), Schleimhautentzündung (Mukositis), Haarausfall (Effluvium) und die direkten Folgen einer Blutzellschädigung, die bereits oben geschildert wurden. Eine geschädigte Schleimhautbarriere ist eine ideale Eintrittspforte für Mikroorganismen, die aufgrund der Immunschwäche nicht bekämpft werden und sich so im Körper verbreiten und Schaden anrichten können (Sepsis). Zusätzlich kommt es zu sog. opportunistischen Infektionen, die der Körper bereits erfolgreich bekämpft hat, die aber bei einer temporär eingeschränkten Immunität erneut manifest werden, zum Beispiel CMV-, Herpes- oder VZV-Infektionen. Diese und viele weitere Probleme kommen auf, wenn das Wachstum von Zellen durch eine Chemotherapie gehemmt wird. Befindet sich der Patient zu diesem Zeitpunkt nicht in einer qualifizierten intensivmedizinischen Behandlung, besteht akute Lebensgefahr.

Da viele Behandlungsansätze auf eine Chemotherapie nicht verzichten können und Zytostatika teilweise eine direkte Dosis-Wirkungs-Beziehung aufweisen, ist man dazu übergegangen, dem geschwächten Körper medizinisch „unter die Arme zu greifen“. Durch Pilze verursachte, bakterielle und virale Infektionen lassen sich in vielen Fällen effektiv behandeln, Flüssigkeitsverluste durch Infusionen ausgleichen, eine Anämie durch Erythrozyten-, eine erhöhte Blutungsneigung durch Thrombozytenkonzentrate beherrschen. Die Transfusion von Leukozyten zwecks Infektabwehr bleibt aber weiterhin problematisch.

1.5 Transplantation peripherer Blutstammzellen

Ziel einer hämatologischen Stammzelltransplantation ist es, dem Patienten nach einer HDT (Hochdosis-Therapie) fremde oder eigene Stammzellen zu transfundieren, um die gestörte Hämatopoese langfristig zu ersetzen und für eine Rekonstitution der Erythro-, Leuko- und Thrombopoese zu sorgen. Der Begriff „Hochdosis“ bezieht sich auf die Menge der verabreichten Chemotherapie, die bei dieser Therapieform die üblichen Dosen übersteigt. Konsequenz wäre hier eine langdauernde Aplasiephase oder sogar eine Myeloablation. Eine solche Therapie ist auch stammzelltoxisch, daher müssen die Stammzellen also vor einer geplanten Chemotherapie gesammelt werden. Sie können von Fremd- oder Familienspendern (allogen) oder vom Patienten selbst (autolog) stammen. Bei allogenen Transplantationen ist auf eine Kompatibilität der Oberflächenmoleküle bei Spender und Empfänger zu achten, da sonst Lymphozyten des Spenders die Zellen des Empfängers als fremd erkennen und so erhebliche, zum Teil lebensbedrohliche Gewebsdestruktionen bewirken können (GVHD). Bei der autologen Transplantation ist mit solchen unerwünschten Reaktionen nicht zu rechnen.

Erfolgreich ist die Stammzelltherapie bisher vor allem bei erworbenen und angeborenen Erkrankungen des hämatopoetischen Systems (Leukämien, Lymphome, Aplasien), bei bestimmten chemosensitiven Krebserkrankungen (Ovarial-, Hoden-, Brustkrebs) und auch bei Autoimmunerkrankungen (Rheumatoide Arthritis, Multiple Sklerose, Systemischer Lupus erythematoses) eingesetzt worden¹⁰.

1.6 Historie

Nach Ende des Zweiten Weltkrieges wuchs das Interesse an dem Effekt radioaktiver Strahlung auf den menschlichen Organismus. Das Knochenmark wurde als sensitivstes Organ dieser Strahlung gefunden, und es gelang in den fünfziger und sechziger Jahren im Tiermodell, durch mehrere erfolgreiche Knochenmarktransplantationen die letale Knochenmarktoxizität wieder aufzuheben^{11,12,13}. Infolgedessen wurde das Konzept der TBI (total body irradiation) und anschließender Knochenmarkstransplantation auch bei Menschen mit Leukämien angewandt^{14,15}.

Erst die fragmentarische Entdeckung der humanen Leukozytenantigene (HLA) während der sechziger Jahre, die durch Gene auf dem Chromosom 6 codiert werden und die bei

Inkompatibilität für eine Transplantatabstoßung verantwortlich sein können, läutete die „moderne Ära“ der Knochenmarktransplantation ein. Dazu gehört auch die Beschreibung der GVHD und ihre Prophylaxe, sowie der Einsatz moderner Antiinfektiva gegen verschiedene, bei Immunsupprimierten überdurchschnittlich häufig vorkommende opportunistische Infektionen^{16,17,18}. Auch wurde die durch E.D. Thomas eingeführte TBI durch die Anwendung von HD-Cyclophosphamid durch G. Santos ergänzt¹⁹. Die Kombination beider Strategien bildet heute einen wichtigen Bestandteil in der Behandlung akuter Leukämien.

Während zu Beginn das Knochenmark die primäre Stammzellquelle darstellte, etablierte sich ab etwa Mitte der achtziger Jahre zunehmend das periphere Blut als Entnahmestelle^{20,21,22}. Diese Erkenntnis, die parallel entstehenden nationalen und internationalen Knochenmarkregister HLA-typisierter Personen und die sich Ende der achtziger Jahre abzeichnende Möglichkeit, Stammzellen auch aus Nabelschnurblut im Rahmen einer HDT zu verwenden, vergrößerten immer mehr die Anwendbarkeit der HSC-Transplantation^{23,24}. Ein weiterer sehr wichtiger Meilenstein in der Transplantationsmedizin war die Einführung von Ciclosporin Ende der siebziger Jahre, das sich in Kombination mit Methotrexat der Einzeltherapie als überlegen erwies und sich Mitte der achtziger Jahre als post-Transplant-Immunsuppressivum etablierte²⁵.

In den siebziger Jahren wurden Transplantationen oft als letztes Mittel bei Patienten im Endstadium eingesetzt, heute hat die Transplantation einen anderen Stellenwert und wird immer früher in moderne Therapiepläne integriert²⁶.

1.7 Vergleich zwischen Knochenmarkstammzellen und PBSCs

1.7.1 Zusammensetzung der Separate

Mit durchflußzytometrischen Analysen verglichen Wissenschaftler des MDACC die Sammlungen von 41 gesunden, mit rhG-CSF mobilisierten PBSZ-Spendern mit 43 gesunden KM-Spendern. Die Ausbeute der peripheren Sammlung übertraf die des Knochenmarks bei CD34+ um den Faktor 3,7 und bei den lymphatischen Zellen (CD 3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD56+CD3-) sogar um ein Vielfaches.

Tabelle 1: Vergleich der Stammzellausbeute zwischen peripherem Blut und Knochenmark

stem cell allograft	n	TNCs	CD34+	CD3+	CD4+	CD8+	cd19+	CD56+CD3-
PB cells x 10 ⁶ /kg ^a	41	1337,0	11,7	392,2	257,4	153,6	79,0	54,4
BM cells x 10 ⁶ /kg ^a	43	293,0	3,2	24,4	19,3	5,6	7,2	2,8
fold increase in PB over BM cells in stem cell allografts	/	4,6	3,7	16,1	13,3	27,4	11,0	19,4

a Kilogram of recipient body weight.

TNCs, total nucleated cells; PB, peripheral blood; BM, bone marrow.

Modified from Korbling M, Huh YO, Durett A, et al.: Allogeneic blood stem cell transplantation: peripheralization and yield of donor-derived primitive hematopoietic progenitor cells (CD34+ Thy-1dim) and lymphoid subsets, and possible predictors of engraftment and graft-versus-host disease. Blood. 1995 Oct 1;86(7):2842-2848.

Auch Tjonnford et al. haben die CD34+ Zellen sowohl im peripheren Blut als auch im Knochenmark näher analysiert. Am Tag 4 bis 5 nach G-CSF-Mobilisation kam es im peripheren Blut zum CD34+-Peak mit einem im Verhältnis zum Knochenmark, relativen Anstieg der CD34+CD13+ und CD34+CD33+ (also den myeloischen Progenitorzellen) mit einem relativen Abfall von CD34+CD10+ und CD34+CD19+ (also den lymphatischen Vorläuferzellen)²⁷.

1.7.2 Die hämatologische Rekonstitution nach der Transplantation

Obwohl der Vergleich des Engraftment zwischen einer PBSZ- und einer KM-Transplantation aufgrund unterschiedlicher Variablen schwer fällt, scheinen sich dennoch einige spezifische Charakteristika abzuzeichnen. Przepiorka et al. des MDACC untersuchten die durchschnittliche Zeitspanne zwischen der Transplantation und der Erholung der Neutrophilen auf $>500/\mu\text{l}$ und der Thrombozyten auf $>20.000/\mu\text{l}$ bei einer allogenen PBSZ- und KM-Transplantation. Bei der PBSZ-Transplantation war die Erholung der Neutrophilen durchschnittlich ein Tag (9 vs. 10 Tage), bei den Plättchen durchschnittlich fünf Tage früher (14 vs. 19)²⁸.

Basierend auf diesen und anderen Daten kann man für die PBSZ-Transfusion eine ähnliche, wenn nicht schnellere Erholung der Neutrophilen auf $>500/\mu\text{l}$ vermuten; bei den Plättchen gilt dieser Effekt als gesichert²⁹.

Bei vergleichenden Untersuchungen fanden sich Hinweise auf eine verbesserte und schnellere immunologische Rekonstitution nach der PBSZT als nach der BMT (Knochenmarkstransplantation), besonders die T-Helferzellen und B-Lymphozyten betreffend^{30,31}.

Ob nach der Transplantation eine zusätzliche Gabe von G-CSF im Hinblick auf eine schnellere hämatologische Rekonstitution wirklich von Vorteil ist, bleibt noch offen³².

1.7.3 Graft-versus-host-disease (GVHD)

Während die Anzahl der im Rahmen einer Apherese gesammelten CD34+ Zellen vier Mal höher ist als im Vergleich zu der Ausbeute aus dem Knochenmark, übertreffen die gesammelten T-Zellen das Knochenmark sogar um den Faktor zehn bis zwanzig. Bedenken bestanden lange Zeit, dass die höhere Anzahl T-Zellen zu einem häufigeren Auftreten von GVHDs führt. Die Depletion von T-Zellen hingegen konnte zwar die Häufigkeit akuter und chronischer GVHDs signifikant senken, führte aber zu deutlich häufigeren Transplantat-Misserfolgen und Rückfallraten, möglicherweise auch im Zusammenhang mit einem schwächeren GVL-Effekt (GVL: Graft-versus-leukemia)^{33,34}.

Die Mehrheit vorhandener Daten lässt eine ähnliche Inzidenz und Schwere akuter GVHDs im Rahmen der PBSZT vermuten^{35,36}.

Eine 2001 erschienene und auf 16 Studien basierende Metaanalyse des Dana Faber Cancer Institutes verglich allogene PBSZT und BMT von HLA-identischen Geschwisterspendern auf Häufigkeit und Schwere akuter bzw. chronischer GVHDs. Ihr zufolge beträgt das RR (relative Risiko) für die PBSZT verglichen mit der BMT 1,16 für die akute, 1,53 für die chronische und 1,66 für die extensive Form der GVHD. Auf der anderen Seite war das Risiko eines Rückfalls geringer (RR=0,81). Diese Erkenntnisse könnten einen Zusammenhang zwischen GVHD- und GVL-Effekt darstellen und in Relation zu der größeren Menge transfundierter T-Lymphozyten stehen³⁷.

1.7.4 Das Gesamtüberleben

Die transplantationsassoziierte Morbidität und Letalität allogener Transplantationen (BMT und PBSZT) wurde von der MDACC Gruppe unter Przepiorka et al. anhand von 74 Patienten mit fortgeschrittenen Krebserkrankungen untersucht, wobei die PBSZT-Gruppe die weitaus beste Überlebensrate zeigte³⁸.

Auch Bensinger et al. untersuchten anhand einer retrospektiven Studie die transplantationsassoziierte Mortalität allogener Transplantationen. Sie fanden eine 200-Tage-Letalitätsrate in der PBSZ-Gruppe von 27% gegenüber 45% in der BMT-Gruppe, und eine Gesamtüberlebensrate von 50% gegenüber 41%³⁹.

1.8 Weitere Ansätze der Stammzelltherapie

1.8.1 Nabelschnurblut- eine zusätzliche Stammzellquelle

Stammzellen lassen sich einfach, preiswert, risikolos und ethisch (weitgehend?) unbedenklich aus Nabelschnurblut kurz nach der Geburt gewinnen und anschließend bis zum Gebrauch einfrieren. Sie besitzen gegenüber der Gewinnung aus dem Knochenmark und dem peripheren Blut mehrere Vorteile. Die Häufigkeit akuter oder chronischer GVHD nach Transplantation ist geringer, und zusätzlich lässt ein solches Transplantat auch ein größeres HLA-Mismatch zu⁴⁰. Ob eine seltenere GVHD zu einer erhöhten Anzahl an Rückfallraten führt, müssen zukünftige Studien zeigen^{41,42}. Ein größeres HLA-Mismatch-Potential könnte den allogenen Spenderpool zukünftig beträchtlich ausweiten, auch im Hinblick auf die in den Datenbanken

unterrepräsentierten Gewebemerkmale und die leichte Gewinnbarkeit von Nabelschnurblut⁴³.

Die durchschnittliche Anzahl transplanteder kernhaltiger Zellen ist etwa 10fach niedriger als bei einem Knochenmarkstransplantat⁴⁴, was sowohl in einer verzögerten Zellzahlerholung, einer verlängerten Neutropenie, vermehrten Infektionen und häufigeren graft-failures endet^{45,46}. Zukünftige Ergebnisse auf dem Gebiet der ex-vivo-expansion könnten die Durchführbarkeit einer Nabelschnurblut-Stammzelltransplantation gerade in Hinblick auf alte und schwere Menschen enorm verbessern.

1.8.2 Autoimmunerkrankungen (AD)

In den letzten 20 Jahren wurde immer öfter berichtet, dass sich nach BMT Autoimmunerkrankungen bei Patienten verbesserten, die ursprünglich wegen eines Malignoms behandelt wurden^{47,48}. Dies gilt sowohl für autologe als auch für allogene Transplantationen. Dies legt nahe, dass eine genetische Disposition alleine wohl nicht für die Expression einer AD ausreicht. Forschungsergebnisse auf dem Gebiet zahlreicher AD, wie z.B. Diabetes mellitus Typ I und Multiple Sklerose, stützen diese These.

Seit Mitte der neunziger Jahre gibt es nun auch Transplantationen für isolierte AD beim Menschen⁴⁹.

Als Quelle zur Gewinnung der Stammzellen wird das periphere Blut aufgrund einer schnelleren Zellzahlerholung und weniger Komplikationen dem Knochenmark vorgezogen. Nach der Zerstörung des „bösen“ Immunsystems werden die Zellen im Rahmen einer Transplantation wieder zugeführt in der Hoffnung, ein neues Immunsystem aufzubauen, welches die Erkrankung nicht „weiterführt“ (Resetting).

Ob der Nutzen bei AD auf der Transplantation selbst oder der stärkeren Immunsuppression beruht, ist weiterhin schwierig zu sagen, aber unter bestimmten Voraussetzungen kann die Stammzelltransplantation bei ausgewählten AD als experimentelle Therapieoption angesehen werden.

Über den Wert der T-Zell-Depletion (Purging) wird bei AD ebenfalls kontrovers diskutiert, und noch steht das Ergebnis über die Wirksamkeit dieser kostspieligen Prozedur (2500-5000 \$⁵⁰) aus^{51,52}. Es ist auch möglich, dass durch das Purging dem

Transplantat protektive Supressorzellen entzogen werden. Jedenfalls könnte weitere Forschung auf diesem Gebiet unter Einbeziehung von T-Zell-Untergruppen mehr Licht in die Pathogenese der AD bringen.

1.9 Kosten

Eine immer älter werdende Bevölkerung und die demographische Entwicklung in den westlichen Industrienationen, die in den letzten Jahren sinkende Zahl von Beitragszahlern in die sozialen Versicherungssysteme und der medizinische Fortschritt sorgen für eine Situation, die parteiübergreifend als „Kostenexplosion“ tituliert wird und zu steigenden Lohnnebenkosten führt und somit in einen circulus vitiosus mündet. Immer mehr Krankheiten, die früher akut tödlich waren und heute aufgrund des medizinischen Fortschritts diagnostizierbar und therapierbar sind, sorgen für höhere Gesundheitsausgaben.

Immer wichtiger wird es für einen behandelnden Arzt oder eine behandelnde Klinik, die eigenen Kosten zu senken und damit effektiver zu arbeiten, unabhängig von diversen Kritikpunkten und angebotenen Lösungsalternativen das Gesundheitssystem betreffend, die so zahlreich und vielfältig sind, dass deren vollständige Erwähnung den Rahmen dieser Arbeit wohl sprengen würde.

Dies gilt insbesondere für so kostenintensive Therapien wie die Separation und Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen.

1.10 Ziel dieser Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist es, alle innerhalb des verwendeten Datenerfassungsbogens retrospektiv gesammelten Daten auf eine mögliche Effektivitätssteigerung im Rahmen der autologen Stammzellseparation zu prüfen. Dies gilt besonders für die Analyse der Separationstage und deren Verteilung, mit dem Ziel, die Separationstage eines jeden Zyklus planbar zu machen und, wenn möglich, das Wochenende mit seinen zusätzlichen finanziellen und personellen Belastungen im Separationsablauf auszuschließen bzw. mit einer kalkulierten Mobilisierungstherapie weniger wahrscheinlich werden zu lassen. Die Effektivitätsprüfung ist protokollgebunden zu betrachten, da die

Separationszeitpunkte durch eine unterschiedliche Mobilisierungstherapie beeinflusst werden können.

Die Intention einer gesteigerten Effektivität im Separationsablauf beinhaltet auch die protokollgebundene Analyse der durchschnittlich pro Zyklus durchgeführten Separationen, da Chemotherapieprotokolle mit einer höheren Separationsfrequenz (Separationen pro Zyklus) eine größere Wahrscheinlichkeit aufweisen, in den Bereich des Wochenendes vorzudringen.

Ebenfalls von Bedeutung ist die durchschnittliche Anzahl gesammelter Stammzellen pro Separationstag, die eine Art Ranking nach der Wichtigkeit und Effizienz der einzelnen Separationstage erlaubt.

Bei den patientenspezifischen Daten sind besonders das Geschlecht, das Alter und die Diagnose von Interesse, um diesbezügliche Unterschiede zu untersuchen. Dies gibt nicht zuletzt auch dem behandelnden Arzt taggebunden einen Überblick über das zu erwartende individuelle outcome und soll zu einer Kosten- und Zeitersparnis führen.

Um Aussagen über die Effektivität eines Separationstages zu machen, wird die Anzahl gewonnener CD34+ Zellen pro Kilogramm Körpergewicht protokollgebunden erhoben. Darauf folgen Aussagen darüber, wie groß der prozentuale Anteil der Separationen ist, der das Soll (definiert als 2,5 Millionen CD34+ Stammzellen pro Kilogramm Körpergewicht und Zyklus) an jedem Separationstag erreicht und wie viel Prozent vom Soll ein Patient durchschnittlich nach einer, zwei, drei, vier oder fünf Separationen mobilisiert, das bedeutet, welche Beziehung zwischen der Anzahl der Separationen pro Zyklus und dem Separationsergebnis wirklich besteht.

Wenn man das Ziel verfolgt, das Wochenende im Rahmen des Separationsablaufes zu umgehen, muss man die Wochentage von Montag bis Freitag optimal ausnutzen. Dabei werden die fünf aufeinander folgenden Tage mit den häufigsten Separationen im Separationsablauf schablonenartig betrachtet. Der Tag mit den dritthäufigsten Separationen ist dabei auf den Mittwoch zu legen und der Beginn der Chemotherapie entsprechend zu adaptieren. Dieses Schema gilt es protokollgebunden auf seine Planbarkeitseffektivität zu untersuchen.

2 Material und Methoden

2.1 Allgemeines

Durch Akten- und Computereinsicht ließen sich vorher definierte Variablen von insgesamt 140 Patienten (85 Männer, 55 Frauen) mit diversen, hauptsächlich hämatologischen Neoplasien erfassen.

Ausgewählt wurden Patienten, die nach einer initialen Induktionstherapie und anschließender Stammzellseparation im Rahmen einer Hochdosistherapie eine autologe Zelltransfusion erfahren hatten.

Erhoben wurden die Daten von Patienten, die von August 1994 bis Januar 2003 in der Medizinischen Klinik und Poliklinik II in Würzburg eine oder mehrere Stammzellapheresen erfuhren.

Auf die 140 Patienten verteilten sich 214 Zyklen Chemotherapie (\bar{x} : 1,53 Zyklen/Patient; Median: 1 Zyklus/Patient, Range: 2 Zyklen/Patient) und 407 untersuchte Separationen (\bar{x} : 1,9 Separationen/Zyklus; Median: 1 Separation/Zyklus; Range 4 Separationen/Zyklus; \bar{x} : 2,91 Separationen/Patient; Median 3 Separationen/Patient, Range: 6 Separationen/Patient). 50% der Patienten erhielten einen Zyklus, 45,7% zwei Zyklen und 3,6% drei Zyklen Chemotherapie (eine fehlende Angabe; s. Abbildung 1).

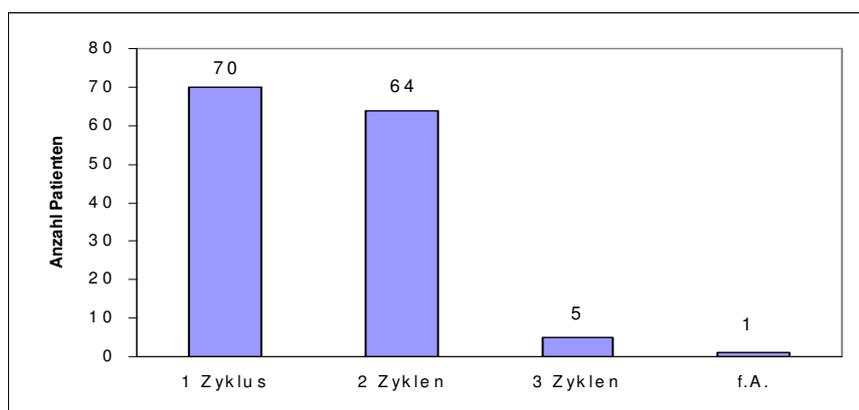


Abbildung 1: Verteilung der Zyklen auf die Patienten

Tabelle 2: Anzahl der untersuchten Protokolle in abnehmender Häufigkeit

Nr.	Protokoll	Anzahl
1	Dexa BEAM	105
2	HD Endoxan	29
3	m-CHOEP	16
4	E-SHAP	10
5	PEI	8
6	Bea COPP	6
7	HAM	6
8	DHAP (+Rituximab)	6
9	MAMAC	3
10	B-ALL Protokoll (Block A)	3
11	Carboplatin/ Etoposid	2
12	CLL 3 Studie	2
13	DII VP-16	2
14	EC	2
15	f. A.	2
16	Cis/AraC/Eto/Vinbl	1
17	I-MAC Protokoll	1
18	Euro-Ewing-Sarkom Studie	1
19	B-ALL Protokoll (Block B)	1
20	B-ALL Protokoll (Block C)	1
21	ALL Therapie-prog.-Konsolidierung I	1
22	MAV-Protokoll	1
23	mini ICE	1
24	PEB	1
25	Taxol/Endoxan	1
26	Ifosfamid/Taxol	1
27	VID	1
	gesamt:	214

2.2 Patientencharakteristika

Die Patienten waren zum Zeitpunkt der ersten Separation 18 bis 69 Jahre alt (\emptyset -Alter: 45,9 Jahre; Median: 48 Jahre; Range: 51 Jahre) und durchschnittlich 76,7 kg schwer (Median: 76 kg; Range: 83 kg).

Tabelle 3: Zusammensetzung des Patientenkollektivs

	männlich	weiblich	insgesamt
Geschlecht	85	55	140
\emptyset -Gewicht	80,8	70,5	76,7
Median Gewicht	81	68	76
Range Gewicht	49	83	83
\emptyset -Alter	45,6	46,4	45,9
Median Alter	48	47	48
Range Alter	51	45	51

Die verschiedenen Diagnosen unterteilten sich in Leukämien (4,3%), solide Tumoren (8,6%) und Lymphome (87,1%).

Tabelle 4: Verteilung und Häufigkeit der behandelten Krankheiten

Diagnose	Anzahl
solide Tumoren	12
Leukämien	6
Lymphome (gesamt):	122
gesamt:	140

Morbus Hodgkin	14
niedrigmaligne B-Zell-NHL	59
hochmaligne B-Zell-NHL	33
niedrigmaligne T-Zell-NHL	6
hochmaligne T-Zell-NHL	10

2.3 Untersuchte Chemotherapieprotokolle

2.3.1 Dexa-BEAM

Tag	Substanz (Generic/Handelsname)	Dosierung	Appl.
1 bis 10	Dexamethason/Fortecortin®	3x8mg	p.o.
2	Carmustin, BCNU/Carmubris®	60mg ²	i.v.
3	Melphalan/Alkeran®	20mg ²	i.v.
4 bis 7	Etoposidphosphat/Etopophos®	75mg ²	i.v.
4 bis 7	Cytosin-Arabinosid, AraC/Alexan® 8 ⁹⁹	100mg ²	i.v. 2x/d
ab Tag 8	G-CSF	2x5µg/kgKG	s.c. 5 und 17 Uhr

2.3.2 HD-Endoxan

Tag	Substanz (Generic/Handelsname)	Dosierung	Appl.
1	Mesna	20% der Cyclo. Dosis	i.v.
1	Cyclophosphamid/Endoxan®	2000mg/m ²	i.v.
1	Mesna	2000mg/m ²	i.v.
2	Cyclophosphamid/Endoxan®	2000mg/m ²	i.v.
2	Mesna	2000mg/m ²	i.v.
3	Mesna	1000mg/m ²	i.v.
ab Tag 5	G-CSF	1x5µg/kgKG	s.c. 8 Uhr

2.3.3 Mega-CHOEP

Tag	Substanz (Generic/Handelsname)	Dosierung	Appl.
1 und 2	Cyclophosphamid	750mg/m ²	i.v.
1 und 2	Adriamycin	35mg/m ²	i.v.
1	Vincristin	2mg	i.v.
1 bis 3	Etoposid	200mg/m ²	i.v.
1 bis 5	Prednisolon	100mg	i.v.
ab Tag 6	G-CSF	2x5µg/kgKG	s.c.

2.3.4 E-SHAP

Tag	Substanz (Generic/Handelsname)	Dosierung	Appl.
1 bis 4	Etoposid/Vespesid®	40mg/m ²	i.v.
1 bis 5	Methylprednisolon/Urbason sol.®	500mg	i.v.
5	Cytosin-Arabinosid/Alexan®	2000mg/m ²	i.v.
1 bis 4	Cisplatin/Platinex®	25mg/m ²	c.i.v.
ab Tag 6	G-CSF	1x5µg/kgKG	s.c. 8 Uhr

2.3.5 DHAP

Tag	Substanz (Generic/Handelsname)	Dosierung	Appl.
1	Cisplatin/Platiblastin®	100mg/m ²	c.i.v.
2	Cytosin-Arabinosid, AraC/Alexan®	2x2g/m ²	i.v.
1 bis 4	Dexamethason/Fortecortin®	40mg	i.v.
ab Tag 5	G-CSF	1x5µg/kgKG	s.c. 8 Uhr

2.3.6 PEI

Tag	Substanz (Generic/Handelsname)	Dosierung	Appl.
1 bis 5	Cisplatin/Platiblastin®	20mg/m ²	i.v.
1 bis 5	Ifosfamid/Holoxan®	1200mg/m ²	i.v.
1 bis 5	Etoposidphosphat/Etopophos®	75mg/m ²	i.v.
ab Tag 6	C-CSF	5-10µg/kgKG	s.c.

2.4 Durchflusszytometrie

Die Durchflusszytometrie (flow cytometry) ist ein auf dem Gebiet der Hämatologie etabliertes Verfahren und beruht auf der Emission optischer Signale einer Zelle, wenn sie einen Laserstrahl spezifischer Wellenlänge (z.B. 488nm) passiert (Fluoreszenz). Die Durchflusszytometrie ermöglicht die Analyse von Einzelzellen bzw. von Partikeln in Suspensionen auf der Grundlage von Fluoreszenz- und Streulichteigenschaften. Dabei emittiert die Zelle entweder ausschließlich Streulicht oder, wenn Antikörper gebunden sind, zusätzlich Fluoreszenzimpulse. Es werden das Vorwärtstreulicht FSC (Forward Scatter) als Maß für die Zellgröße und das Seitwärtstreulicht SSC (Side Scatter) als Maß für die Granularität bzw. interne Komplexität unterschieden. Bestimmte Zelleigenschaften können zusätzlich durch die Bindung von Fluorochromen (Fluoreszenzfarbstoffen) untersucht werden. Die bei diesen Untersuchungen erhobenen Daten lassen sich über einen angeschlossenen Computer auswerten, weiter bearbeiten und speichern.

Nach Inkubation einer Lösung mit einem geeigneten, fluoreszenzmarkierten AK lassen sich bestimmte CD-Antigene, wie z.B. CD34, anhand unterschiedlicher Fluoreszenzen sichtbar machen und quantifizieren. Fluoreszierende Verbindungen absorbieren Licht in einem für sie charakteristischen Wellenlängenbereich (Absorptionsspektrum), dessen Anregungsmaximum idealerweise möglichst nahe an der Anregungswellenlänge des

Lasers liegen sollte. Bei Verwendung zweier verschiedener Fluorochromen ist auf unterschiedliche Emissionsspektren bei überlappenden Absorptionsspektren zu achten, um unterschiedliche Signale zu erhalten.

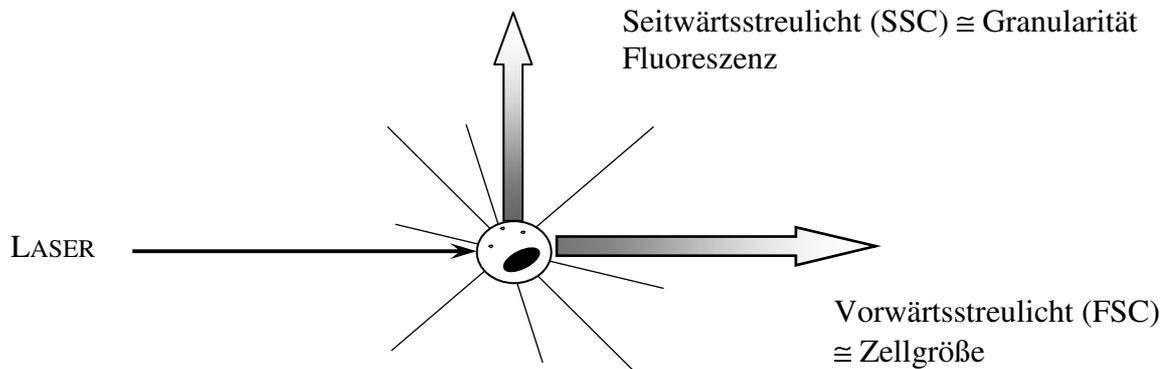


Abbildung 2: Prinzip der Lichtstreuung

2.5 Messung der CD34+ Zellen

Durch Verwendung der Parameter „gesammelte CD34+/ μ l/Separationstag“, „Separatvolumen“ und „Gewicht des Patienten“ lassen sich Aussagen über die Effektivität der Stammzellausbeute pro Separationstag machen, wodurch jedem Separationstag durch den durchschnittlich erzielten Separationsgewinn ein individueller Stellenwert zukommt.

Der individuelle Stellenwert eines Separationstages wird unter Einbeziehung des Sollwertes (2,5 Mio. CD34+/kgKG) noch näher charakterisiert.

Die Korrelation zwischen den CD34+ und Leukozyten im peripheren Blut und der durchschnittlichen Stammzellausbeute wird untersucht, um eventuell vor der Separation Rückschlüsse auf den Separationserfolg ziehen zu können.

Unter Hinzunahme des Parameters „Geschlecht“ lässt sich die Separationseffektivität geschlechtsgebunden ermitteln.

Um das Verhältnis zwischen Alter und Stammzellausbeute zu untersuchen, werden die Patienten nach ansteigendem Lebensalter (zum Zeitpunkt der 1. Separation) in drei

Kohorten eingeteilt und die gesammelten CD34+ Zellen pro Kilogramm Körpergewicht und Separationstag gemittelt.

Nach Einteilung der Diagnosen in Leukämien, solide Tumore und Lymphome lässt sich die Mobilisierungseffektivität auch bezogen auf die jeweilige Grundkrankheit untersuchen.

Für statistische Analysen wurde Software von Microsoft Excel 2002 (Microsoft Excel 2002 (10.2614.2625), Microsoft Corp., USA) und SPSS (SPSS für Windows, Version 13.0.1, SPSS-Inc., Chicago, USA) herangezogen. Zum Einsatz kamen der Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben sowie der Kruskal-Wallis-Test. Ein p-Wert $<0,05$ wurde als signifikant angesehen.

3 Ergebnisse

3.1 Einflussgrößen auf den Separationserfolg

3.1.1 Alter

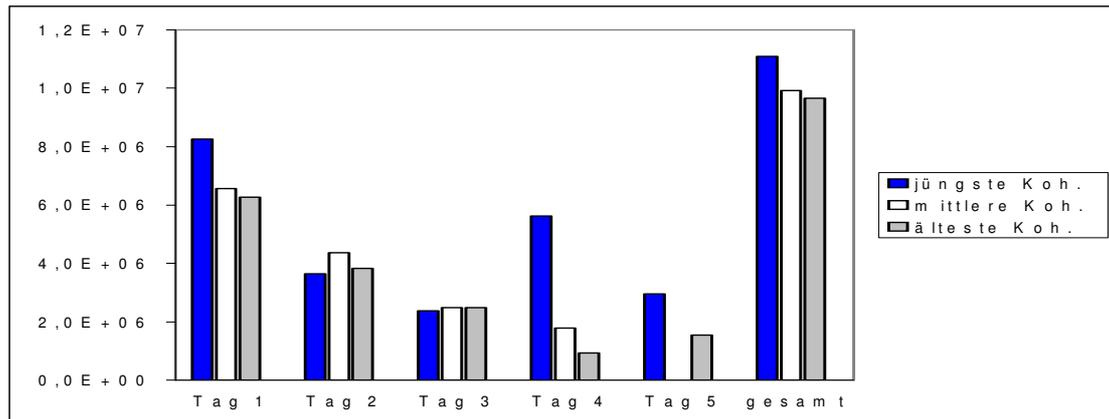


Abbildung 3: Stammzellausbeute aller Separationen in Abhängigkeit vom Alter, Mittelwerte

Abbildung 3 zeigt die Stammzellausbeute in Abhängigkeit vom Lebensalter nach Verteilung des Patientenkollektivs ($n=140$) in drei Kohorten (nach ansteigendem Lebensalter zum Zeitpunkt der ersten Separation). Das Durchschnittsalter der jüngsten Kohorte ($n=47$) beträgt 32 (Median 34; Range 23), das der mittleren Kohorte ($n=47$) beträgt 48 (Median 48; Range 11) und das der ältesten Kohorte ($n=46$) beträgt 58 (Median 58; Range 16) Jahre.

Bei Betrachtung der gesamten Stammzellausbeute je Zyklus mobilisiert die jüngste Kohorte durchschnittlich am besten, gefolgt von der mittleren und der ältesten.

Tabelle 5: Stammzellausbeute aller Separationen in Abhängigkeit vom Alter; Mittelwerte; stabw: Standardabweichung; Median; Range; Anzahl: Anzahl berücksichtigter Separationen

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	gesamt	
jüngste Koh.	8,26E+06	3,64E+06	2,38E+06	5,62E+06	2,96E+06	1,11E+07	jüngste
Stabw	1,11E+07	4,10E+06	2,15E+06	5,11E+06	/	1,13E+07	
Median	4,77E+06	2,10E+06	1,69E+06	3,67E+06	2,96E+06	7,41E+06	
Range	6,57E+07	2,17E+07	7,07E+06	9,65E+06	/	6,53E+07	
Anzahl	77	43	15	3	1	75	
mittlere Koh.	6,57E+06	4,37E+06	2,48E+06	1,79E+06	/	9,92E+06	mittlere
Stabw	1,08E+07	6,27E+06	2,06E+06	5,04E+05	/	1,23E+07	
Median	3,53E+06	2,18E+06	1,82E+06	1,98E+06	/	6,01E+06	
Range	7,64E+07	3,99E+07	6,07E+06	9,52E+05	/	7,55E+07	
Anzahl	70	45	17	3	0	70	
älteste Koh.	6,27E+06	3,82E+06	2,49E+06	9,39E+05	1,54E+06	9,66E+06	älteste
Stabw	6,26E+06	3,33E+06	2,80E+06	4,79E+05	/	6,31E+06	
Median	4,04E+06	2,34E+06	1,56E+06	6,88E+05	1,54E+06	7,74E+06	
Range	2,61E+07	1,15E+07	1,18E+07	8,54E+05	/	2,63E+07	
Anzahl	60	39	20	3	1	60	

Nach Prüfung auf Normalverteilung nach Shapiro-Wilk und nach Kolmogorov-Smirnov (modifiziert nach Lilliefors) konnte die Nullhypothese der Normalverteilung der Variable „Stammzellausbeute“ zurückgewiesen werden. Deswegen wurde die klassische einfaktorielle ANOVA verworfen und der Kruskal-Wallis-Test für die Variablen „Kohorte“ und „Stammzellausbeute“ angeschlossen.

Er zeigt, dass die Nullhypothese der Mittelwertgleichheit zwischen den drei Kohorten nicht zurückgewiesen werden kann und dass es somit zwischen ihnen keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Stammzellausbeute gibt ($p > 0,3$).

Tabelle 6: Kruskal-Wallis-Test

Statistik für Test^{a,b}

	Gesamtmenge CD34+/kgKG
Chi-Quadrat	1,916
df	2
Asymptotische Signifikanz	,384

a. Kruskal-Wallis-Test

b. Gruppenvariable: Kohorte

3.1.2 Geschlecht

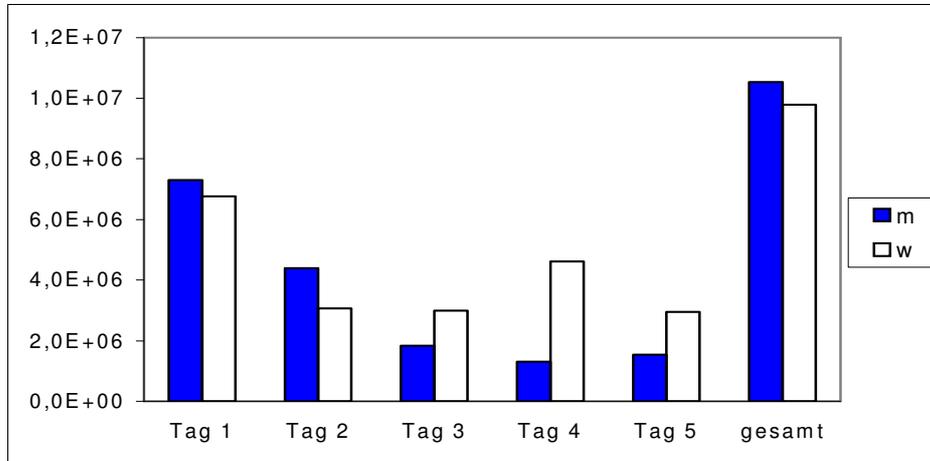


Abbildung 4: Durchschnittliche Anzahl gewonnener CD34+/kgKG und Separationstag (gesamt); Mittelwerte; m: Männer, w: Frauen

Die Abbildung 4 gibt die durchschnittlich gesammelte Menge CD34+ Zellen pro Kilogramm Körpergewicht an den jeweiligen Separationstagen und insgesamt pro Zyklus geschlechtsgebunden wieder.

Tabelle 7: Durchschnittliche Anzahl gewonnener CD34+/kgKG für Männer (gesamt); Mittelwerte; stabw: Standardabweichung; Anzahl: Anzahl der berücksichtigten Mittelwerte.

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	gesamt/Zyklus
Männer	7,30E+06	4,40E+06	1,84E+06	1,31E+06	1,54E+06	1,05E+07
Anzahl	135	85	28	5	1	134
stabw	1,04E+07	5,56E+06	1,46E+06	6,20E+05	/	1,16E+07
Median	4,30E+06	2,21E+06	1,48E+06	1,49E+06	1,54E+06	6,63E+06
Range	7,66E+07	4,02E+07	6,22E+06	1,34E+06	/	7,64E+07

Tabelle 8: Durchschnittliche Anzahl gewonnener CD34+/kgKG für Frauen (gesamt); Mittelwerte; stabw: Standardabweichung; Anzahl: Anzahl der berücksichtigten Mittelwerte.

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	gesamt/Zyklus
Frauen	6,76E+06	3,07E+06	2,99E+06	4,62E+06	2,96E+06	9,78E+06
Anzahl	72	42	23	4	1	71
stabw	8,56E+06	2,30E+06	2,87E+06	4,64E+06	/	7,88E+06
Median	3,70E+06	2,11E+06	2,25E+06	2,92E+06	2,96E+06	7,32E+06
Range	4,85E+07	9,90E+06	1,18E+07	1,02E+07	/	4,73E+07

Im Folgenden soll getestet werden, ob es einen signifikanten Unterschied in der Anzahl insgesamt pro Zyklus gesammelter CD34+ Zellen zwischen Mann und Frau gibt.

Tabelle 9: Gesamtmenge CD34+ Zellen pro Zyklus in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	Mittelwert	Stabw	Median	Range
männlich	1,05E+007	1,16E+007	6,63E+006	7,64E+007
weiblich	9,78E+006	7,88E+006	7,32E+006	4,73E+007

Tabelle 9 gibt noch einmal einen Überblick über die Variablen der Gesamtstammzellausbeute pro Kilogramm Körpergewicht bei Mann und Frau.

Nach Prüfung auf Normalverteilung nach Shapiro-Wilk und nach Kolmogorov-Smirnov (modifiziert nach Lilliefors) konnte die Nullhypothese der Normalverteilung der Variable „Stammzellausbeute“ zurückgewiesen werden (s. Tabelle 10). Deswegen wurde der klassische T-Test verworfen und der Mann-Whitney-U-Test für die Variablen „Geschlecht“ und „Stammzellausbeute“ angeschlossen.

Tabelle 10: Tests auf Normalverteilung

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Signifikanz	Statistik	df	Signifikanz
Gesamtmenge CD34+/kgKG	,178	205	,000	,664	205	,000

a. Signifikanzkorrektur nach Lilliefors

Er zeigt, dass die Nullhypothese der Mittelwertgleichheit zwischen den beiden Stichproben nicht zurückgewiesen werden kann und dass es somit keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Stammzellausbeute zwischen den Geschlechtern gibt ($p > 0,5$).

3.1.3 Diagnose

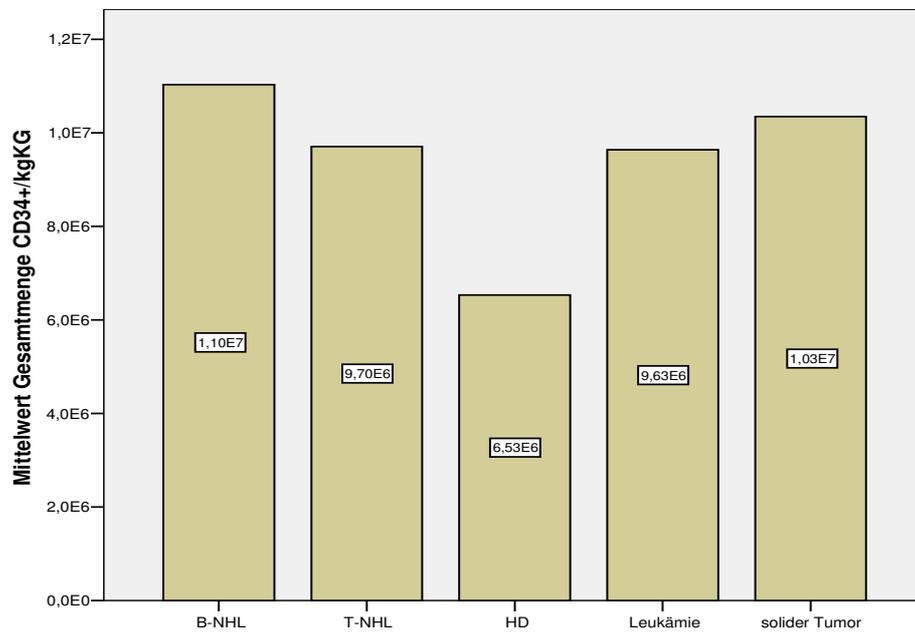


Abbildung 5: Übersicht über die Stammzellausbeute nach Krankheit geordnet

Abbildung 5 gibt eine Übersicht über die Stammzellausbeute nach Krankheit geordnet. Es fällt auf, dass das Separationsergebnis von der Diagnose wenig beeinflusst wird, dass aber Patienten mit einem Morbus Hodgkin (HD) durchschnittlich weniger gut separieren. Einen Überblick über die genauen Zahlen gibt Tabelle 11.

Tabelle 11: Diagnose bezogener Vergleich der Separationsergebnisse, Gesamtmenge CD34+ Zellen/kgKG

Diagnose	Mittelwert	Stabw	Median	Range	Anzahl
B-NHL	1,10E+007	1,18E+007	7,36E+006	7,54E+007	132
T-NHL	9,70E+006	9,15E+006	6,91E+006	4,18E+007	28
HD	6,53E+006	4,65E+006	4,94E+006	1,55E+007	22
Leukämie	9,63E+006	4,64E+006	8,60E+006	1,04E+007	6
solider Tumor	1,03E+007	7,89E+006	7,65E+006	3,13E+007	17
Insgesamt	1,03E+007	1,05E+007	7,00E+006	7,64E+007	205

Nach Prüfung auf Normalverteilung nach Shapiro-Wilk und nach Kolmogorov-Smirnov (modifiziert nach Lilliefors) konnte die Nullhypothese der Normalverteilung der Variable „Stammzellausbeute“ zurückgewiesen werden (s. Tabelle 12). Deswegen wurde die klassische einfaktorielle ANOVA verworfen und der Kruskal-Wallis-Test für die Variablen „Diagnose“ und „Stammzellausbeute“ angeschlossen.

Tabelle 12: Tests auf Normalverteilung

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistik	df	Signifikan z	Statistik	df	Signifikan z
Gesamtmenge CD34+/kgKG	B-NHL	,208	132	,000	,640	132	,000
	T-NHL	,159	28	,069	,797	28	,000
	HD	,215	22	,009	,869	22	,008
	Leukämie	,228	6	,200	,860	6	,190
	solider Tumor	,209	17	,047	,768	17	,001

a. Signifikanzkorrektur nach Lilliefors

Er zeigt, dass die Nullhypothese der Mittelwertgleichheit zwischen den Diagnosegruppen nicht zurückgewiesen werden kann und dass es somit keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Stammzellausbeute zwischen ihnen gibt ($p > 0,2$).

Tabelle 13: Kruskal-Wallis-Test für die Gruppenvariable „Diagnose“

	Gesamtmenge CD34+/kgKG
Asymptotische Signifikanz	,212

3.1.4 Die CD34+ Stammzellen im peripheren Blut am jeweiligen Separationstag

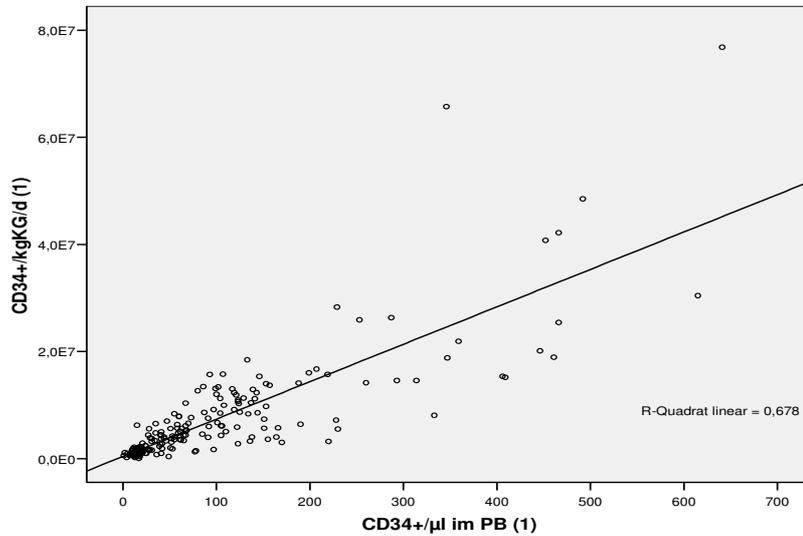


Abbildung 6: Streudiagramm für die Korrelation der CD34+ Zellen im peripheren Blut und der Stammzellausbeute pro Kilogramm Körpergewicht am ersten Separationstag

Abbildung 6 gibt als Streudiagramm eine Übersicht über die Korrelation zwischen den CD34+ Zellen/ μ l im peripheren Blut und der Stammzellausbeute pro Kilogramm Körpergewicht am ersten Separationstag für das gesamte Patientenkollektiv.

Nach Prüfung nach Shapiro-Wilk konnte die Nullhypothese der Normalverteilung zurückgewiesen werden. Somit wurden nichtparametrische Korrelationen errechnet.

Für die peripheren CD34+/ μ l und die Stammzellausbeute fand sich nach Spearman-Rho am Tag eins ein sehr starker positiver linearer Zusammenhang ($r=0,858$; $p<0,0005$).

Der Mittelwert der CD34+ Zellen/ μ l im peripheren Blut am Tag 1 betrug 97,02.

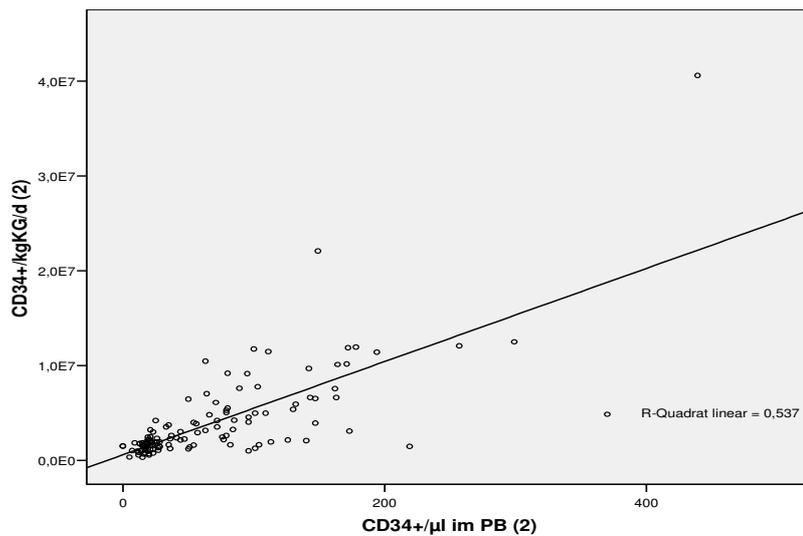


Abbildung 7: Streudiagramm für die Korrelation der CD34+ Zellen im peripheren Blut und der Stammzellausbeute pro Kilogramm Körpergewicht am zweiten Separationstag

Abbildung 7 gibt als Streudiagramm eine Übersicht über die Korrelation zwischen den CD34+ Zellen/ μl im peripheren Blut und der Stammzellausbeute pro Kilogramm Körpergewicht am zweiten Separationstag für das gesamte Patientenkollektiv.

Nach Spearman-Rho fand sich für die CD34+ Zellen/ μl im peripheren Blut und das Separationsergebnis pro Kilogramm Körpergewicht ein starker positiver linearer Zusammenhang ($r=0,734$; $p<0,005$).

Der Mittelwert der CD34+ Zellen/ μl im peripheren Blut am Tag 2 betrug 69,9.

3.1.5 Die Leukozyten im peripheren Blut am jeweiligen Separationstag

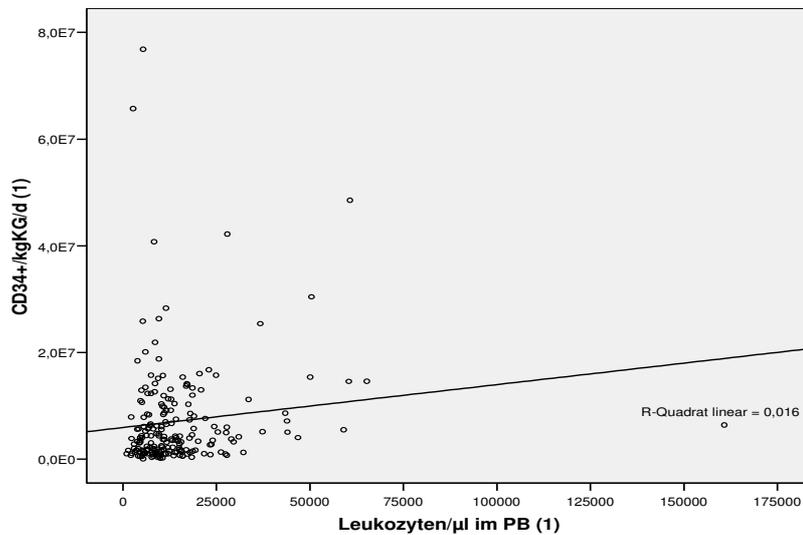


Abbildung 8: Streudiagramm für die Korrelation der Leukozyten im peripheren Blut und der Stammzellausbeute pro Kilogramm Körpergewicht am ersten Separationstag

Abbildung 8 gibt als Streudiagramm eine Übersicht über die Korrelation zwischen den Leukozyten/ μl im peripheren Blut und der Stammzellausbeute pro Kilogramm Körpergewicht am ersten Separationstag für das gesamte Patientenkollektiv.

Nach Prüfung nach Shapiro-Wilk konnte die Nullhypothese der Normalverteilung zurückgewiesen werden. Somit wurden nichtparametrische Korrelationen errechnet.

Für die Leukozyten/ μl im peripheren Blut und die Stammzellausbeute pro Kilogramm Körpergewicht fand sich nach Spearman-Rho am Tag eins ein sehr schwacher positiver linearer Zusammenhang ($r=0,174$; $p<0,05$).

Der Mittelwert der Leukozyten/ μl im peripheren Blut am Tag 1 betrug 14582,21.

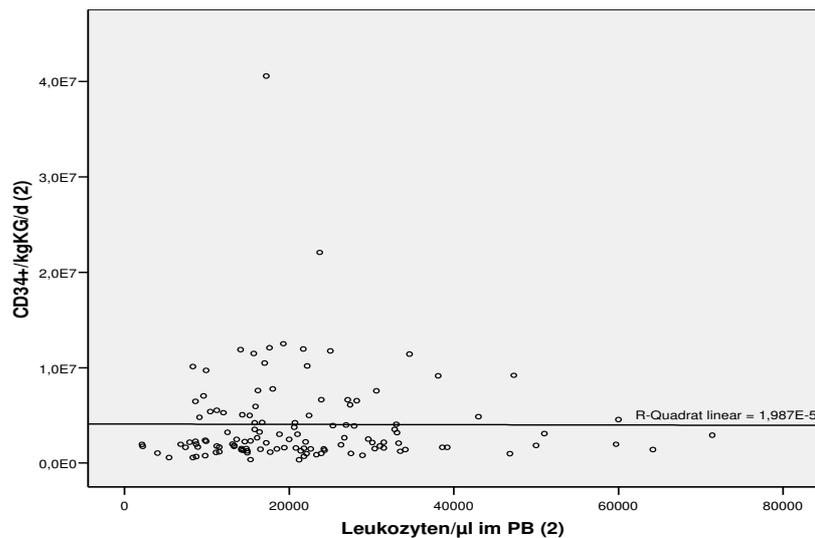


Abbildung 9: Streudiagramm für die Korrelation der Leukozyten im peripheren Blut und der Stammzellausbeute pro Kilogramm Körpergewicht am zweiten Separationstag

Abbildung 9 gibt als Streudiagramm eine Übersicht über die Korrelation zwischen den Leukozyten/ μl im peripheren Blut und der Stammzellausbeute pro Kilogramm Körpergewicht am zweiten Separationstag für das gesamte Patientenkollektiv.

Nach Spearman-Rho fand sich für die Leukozyten im peripheren Blut und das Separationsergebnis pro Kilogramm Körpergewicht ein sehr schwacher negativer linearer Zusammenhang ($r=-0,001$; $p>0,5$).

Der Mittelwert der Leukozyten/ μl im peripheren Blut am Tag 2 betrug 21502,44.

Tabelle 14: Übersicht der Werte und Korrelationen der ersten drei Separationstage (s. Text)

Tag		Mittelwert	Stabw	Median	Range	Korrelation mit CD34+/kgKG
		Tag 1	CD34+/ μl im PB	97,02	116,37	56,5
	Leukozyten/ μl im PB	14582,21	15284,169	10650	159800	0,174 ($p<0,05$)
Tag 2		Mittelwert	Stabw	Median	Range	Korrelation mit CD34+/kgKG
		CD34+/ μl im PB	69,9	72,437	44	439
	Leukozyten/ μl im PB	21502,44	12726,882	18500	69300	0,078 ($p>0,3$)
Tag 3		Mittelwert	Stabw	Median	Range	Korrelation mit CD34+/kgKG
		CD34+/ μl im PB	47	43,478	28	201
	Leukozyten/ μl im PB	25362,22	13604,8	22200	84200	"-0,001 ($p>05$)

3.2 Das Separationsergebnis und die Verteilung der Separationstage

3.2.1 gesamt

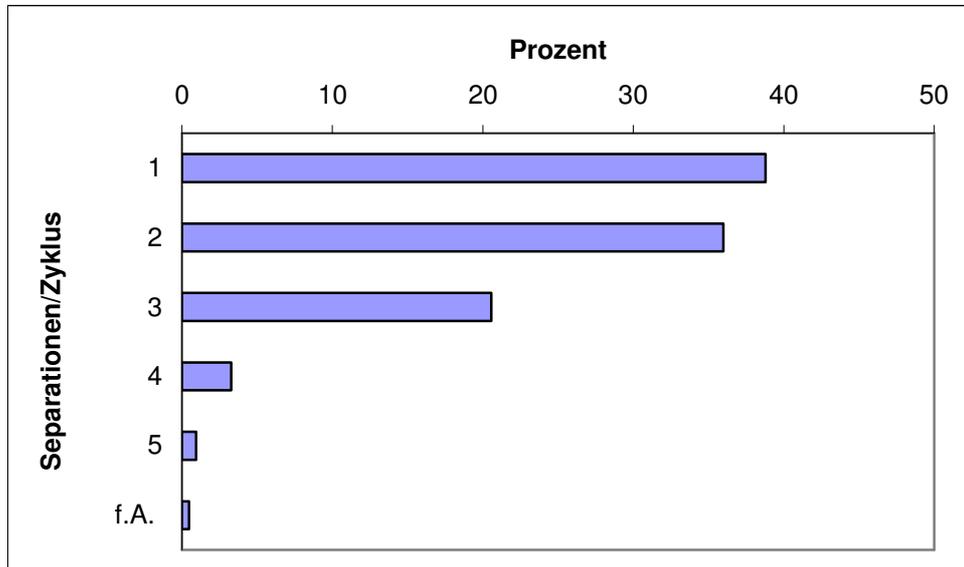


Abbildung 10: Anzahl der Separationen pro Zyklus (gesamt) in Prozent

Abbildung 10 veranschaulicht, wie viele Separationen bei dem vorliegenden Patientenkollektiv pro Zyklus jeweils durchgeführt wurden. Bei rund 75% aller untersuchten Zyklen wurden eine oder zwei Separationen durchgeführt, bei rund 20% drei Separationen und bei dem Rest vier oder fünf Separationen pro Zyklus.

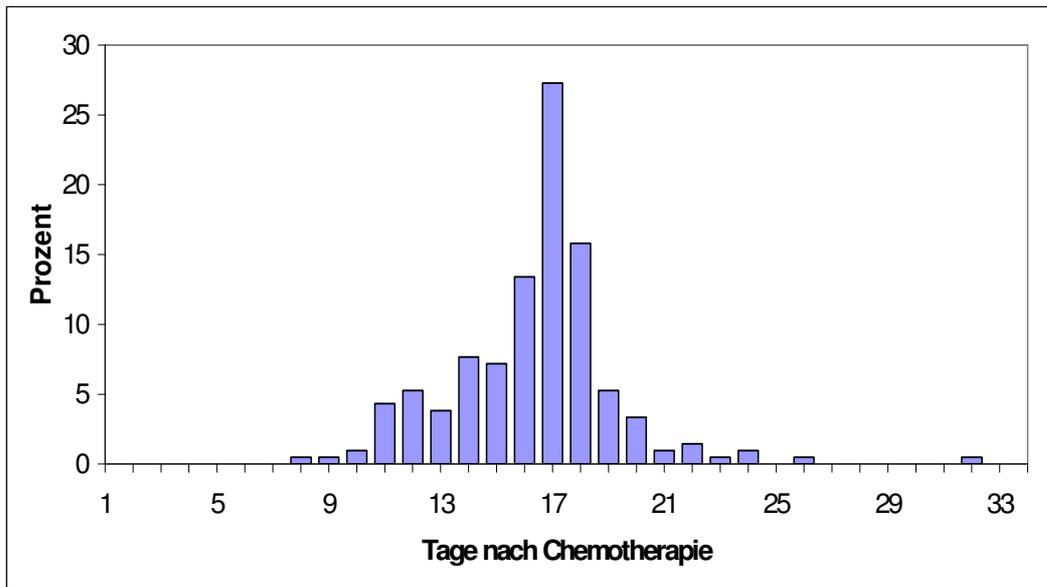


Abbildung 11: Verteilung und Häufigkeit des ersten Separationstages (gesamt) in Prozent

Abbildung 11 zeigt eine Übersicht über die Verteilung des ersten Separationstages aller untersuchter Zyklen nach der Induktionschemotherapie bei dem vorliegenden Patientenkollektiv, zeigt also den Zeitraum zwischen Beginn der Chemotherapie und Beginn der Separationen.

In 27,3% der Fälle war der Tag 17 post chemo der häufigste Separationsstartpunkt aller Zyklen. Würde man den Mittwoch als ersten Separationstag anstreben, so müsste man den Beginn einer Chemotherapie auf den Montag 17 Tage früher legen.

Der Beginn der Separationen fiel in 68,9% der Fälle auf die Tage 15 bis 19 (Montag bis Freitag) post Chemo, 15,8% verteilten sich dann auf die angrenzenden Wochenenden, 11,5% fielen in den Zeitraum davor und 3,8% in den Zeitraum danach.

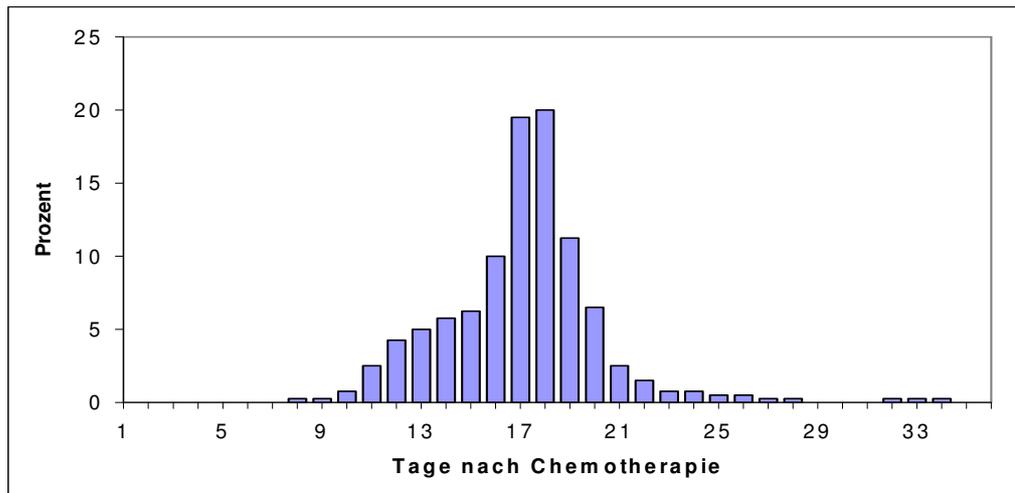


Abbildung 12: Verteilung und Häufigkeit aller Separationen (in Prozent)

Abbildung 12 zeigt eine Übersicht über die Verteilung aller Separationstage nach Beginn der Chemotherapie.

Bei schablonenhafter Betrachtung der fünf aufeinander folgenden Tage mit den meisten durchgeführten Separationen erhält man die Tage 16 bis 20. Um möglichst die Separationen an Wochentagen auszuführen und Wochenendseparationen zu vermeiden, empfiehlt es sich, diese Tage auf die Tage Montag bis Freitag zu legen.

Wählte man den Mittwoch als ersten Separationstag, so müsste der Beginn der Chemotherapie an einem Sonntag 18 Tage früher erfolgen

67,25% aller durchgeführten Separationen fielen dann in den Zeitraum zwischen Tag 16 und 20 post Chemo, 19,75% verteilten sich dann auf die angrenzenden Wochenenden, 8% fielen in den Zeitraum davor und 5,25% in den Zeitraum danach.

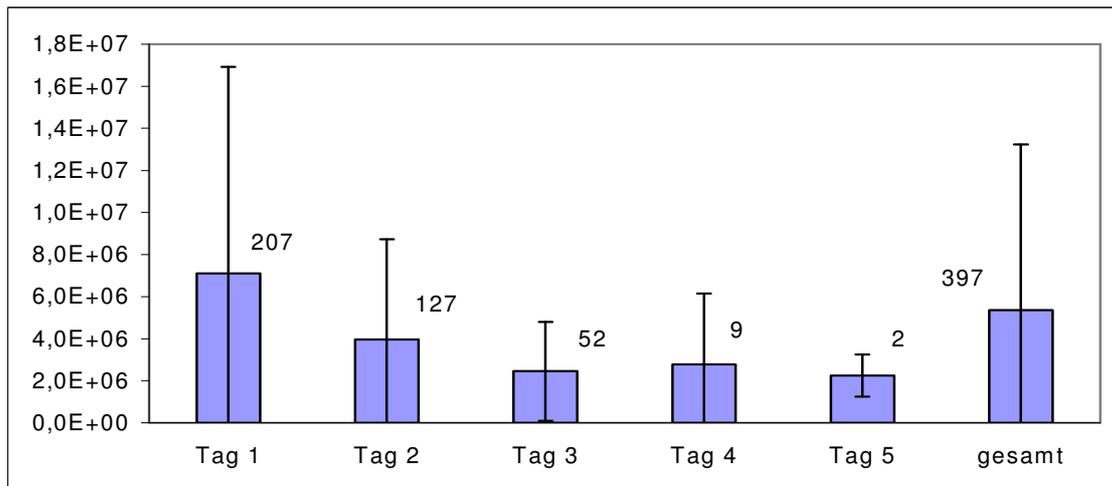


Abbildung 13: Stammzellausbeute am jeweiligen Separationstag pro kgKG (gesamt), Mittelwerte, Standardabweichung, Zahlen: Anzahl der gemessenen PBSC-Präparate

Die Abbildung 13 gibt die Mittelwerte aller gesammelten CD34+ Stammzellen pro Kilogramm Körpergewicht am jeweiligen Separationstag wieder. Die Zahlen über den Balken stehen für die Anzahl der zur Messung herangezogenen PBSC-Präparate je Separationstag. Die Standardabweichung beschreibt als verwendetes Streumaß die durchschnittliche Abweichung vom Mittelwert und zeigt gerade für den Tag eins und zwei sehr hohe Werte an.

Man kann sehen, dass die durchschnittliche Anzahl gewonnener Stammzellen vom ersten bis zum dritten Separationstag kontinuierlich um jeweils mehr als ein Drittel abnimmt, um vom dritten Separationstag an relativ konstant zu bleiben.

Durchschnittlich wurden, unabhängig vom Separationstag und bezogen auf alle Separationen, $5,37E+06$ CD34+/kgKG gesammelt.

Tabelle 15: Stammzellausbeute am jeweiligen Separationstag (pro kgKG)

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	gesamt
Mittelwert	7,11E+06	3,96E+06	2,46E+06	2,78E+06	2,25E+06	5,37E+06
Stabw	9,81E+06	4,77E+06	2,35E+06	3,36E+06	1,00E+06	7,86E+06
Median	4,02E+06	2,21E+06	1,70E+06	1,77E+06	2,25E+06	2,64E+06
Range	7,68E+07	4,02E+07	1,18E+07	1,08E+07	1,41E+06	7,68E+07
Anzahl der Werte	207	127	52	9	2	397

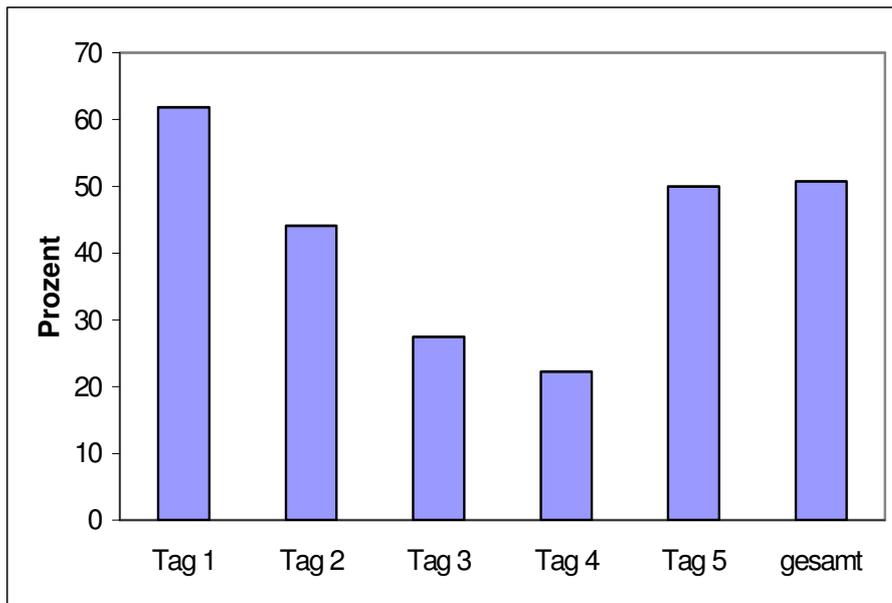


Abbildung 14: Anteil aller Separationen, der das Soll mindestens erreicht (gesamt) in Prozent; Soll: 2,5 Mio. CD34+/kgKG

Die Abbildung 14 veranschaulicht taggebunden den Anteil aller Separationen des gesamten Patientenkollektivs, der das Zyklussoll erreicht, d.h. es erfüllt oder übertrifft. Das Soll für die Stammzellausbeute pro Zyklus ist mit 2,5 Mio. CD34+/kgKG definiert. Die Anzahl der berücksichtigten Separationen ist die gleiche wie in Abbildung 13.

Bei rund 62% aller Separationen am Tag 1, bei rund 44% aller Separationen am Tag 2, bei rund 27% aller Separationen am Tag 3 und bei rund 22% aller Separationen am Tag 4 wird eine Stammzellausbeute von mehr als 2,5 Mio. CD34+/kgKG erreicht. Am Tag 5 (zwei Separationen) erreichten 50% das Soll.

Bei dem vorliegenden Patientenkollektiv und bei Berücksichtigung aller Separationen erreichten rund 50,8% aller Separationen, unabhängig vom Separationstag, das Zyklussoll von 2,5 Mio. CD34+/kgKG.

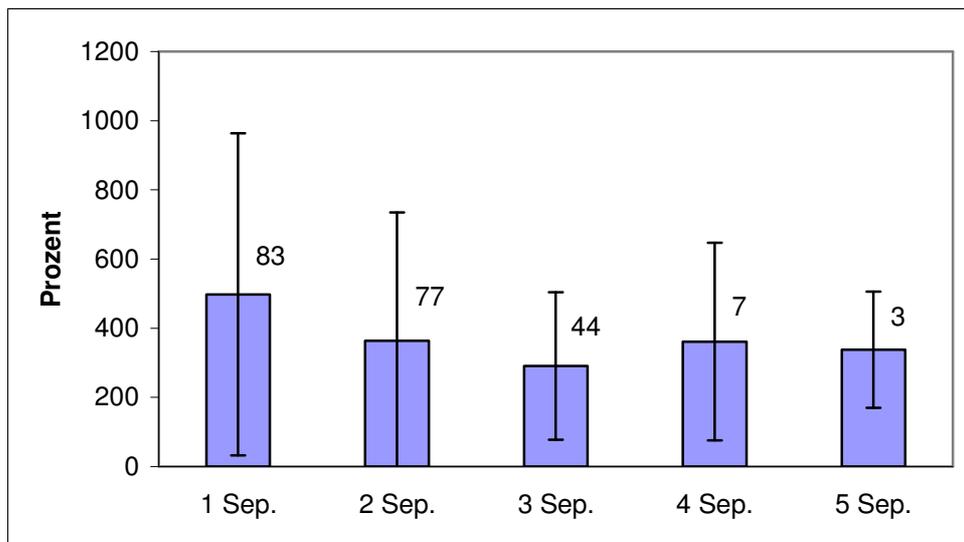


Abbildung 15: Durchschnittlich gewonnene Menge CD34+ Zellen in Prozent vom Soll nach x-Separationen eines Zyklus (gesamt); Mittelwerte; Soll: 2,5 Mio. CD34+/kgKG, Standardabweichung; Zahlen: Anzahl der berücksichtigten Zyklen

Abbildung 15 gibt die durchschnittlich erzielte Menge CD34+ Stammzellen in Prozent vom Soll nach einer, zwei, drei, vier und fünf durchgeführten Separationen pro Zyklus wieder. Die Zahlen über den Balken stehen für die Anzahl untersuchter Zyklen.

Es fällt auf, dass an den Tagen 1 bis 3 die durchschnittlich erzielte Stammzellmenge mit steigender Anzahl durchgeführter Separationen pro Zyklus abfällt.

Bezogen auf alle Zyklen wurden durchschnittlich 400,5% vom Soll gesammelt (s=389,07).

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	gesamt
Mittelwert	497,83	363,39	290,99	361,30	338,10	400,05
Anzahl	83	77	44	7	3	214
stabw	465,47	371,81	213,04	285,32	168,11	389,07
Median	390,05	242,69	214,59	232,06	338,10	280,00
range	3057,08	2636,01	1051,51	677,92	237,75	3057,08

3.2.2 Dexa-BEAM

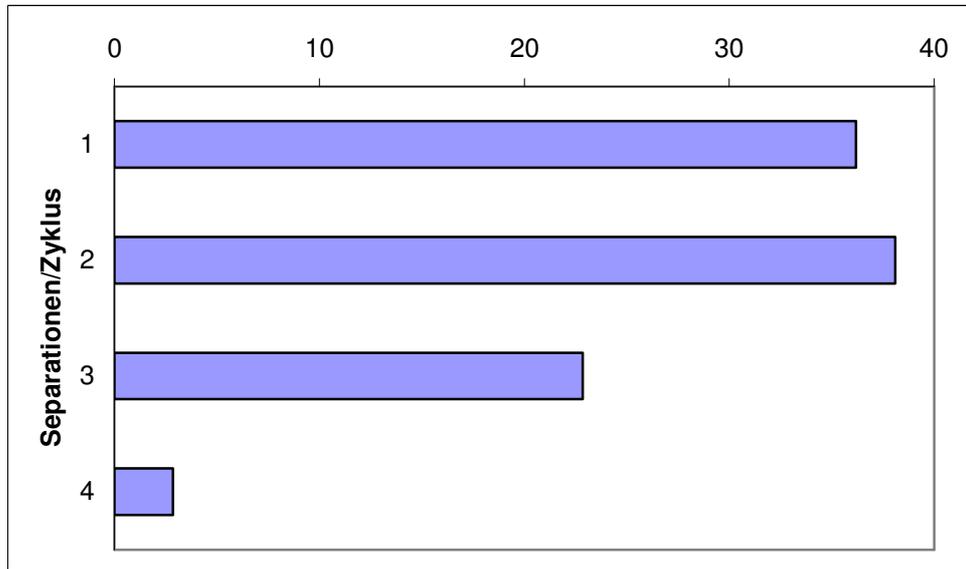


Abbildung 16: Anzahl der Separationen pro Zyklus (Dexa-BEAM) in Prozent

Abbildung 16 veranschaulicht, wie viele Separationen pro Zyklus bei den mit Dexa-BEAM mobilisierten Patienten jeweils durchgeführt wurden. Fast drei Viertel aller Zyklen setzen sich aus ein oder zwei Separationen zusammen, der Rest von rund 25% aus drei oder vier. Bei keinem Patienten ist innerhalb eines Zyklus eine fünfte Separation durchgeführt worden.

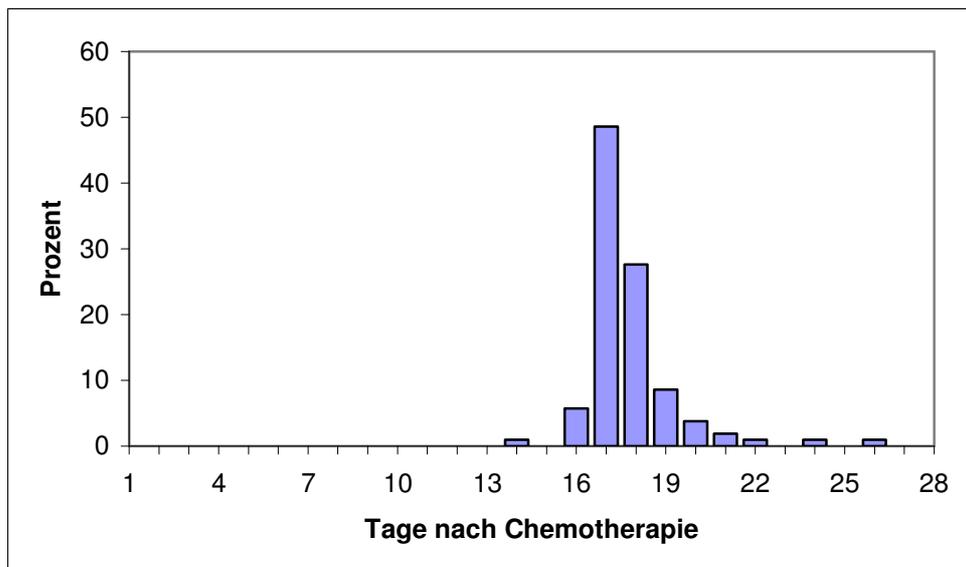


Abbildung 17: Verteilung und Häufigkeit des ersten Separationstages (Dexa-BEAM) in Prozent

Abbildung 17 zeigt eine Übersicht über die Verteilung des ersten Separationstages aller Zyklen nach einer Induktionschemotherapie mit Dexa-BEAM bei dem vorliegenden Patientenkollektiv, zeigt also den Zeitraum zwischen Beginn der Chemotherapie und Beginn der Separationen.

In 48,57% der Fälle war der Tag 17 post chemo der häufigste Separationsstartpunkt eines Zyklus. Würde man den Mittwoch als ersten Separationstag anstreben, so müsste man den Beginn einer Chemotherapie auf den Montag 17 Tage früher legen.

Der Beginn der Separationen fiel in 90,48% der Fälle auf die Tage 15 bis 19 (Montag bis Freitag) post Chemo, 6,67% verteilten sich dann auf die angrenzenden Wochenenden, 0% fielen in den Zeitraum davor und 2,86% in den Zeitraum danach.

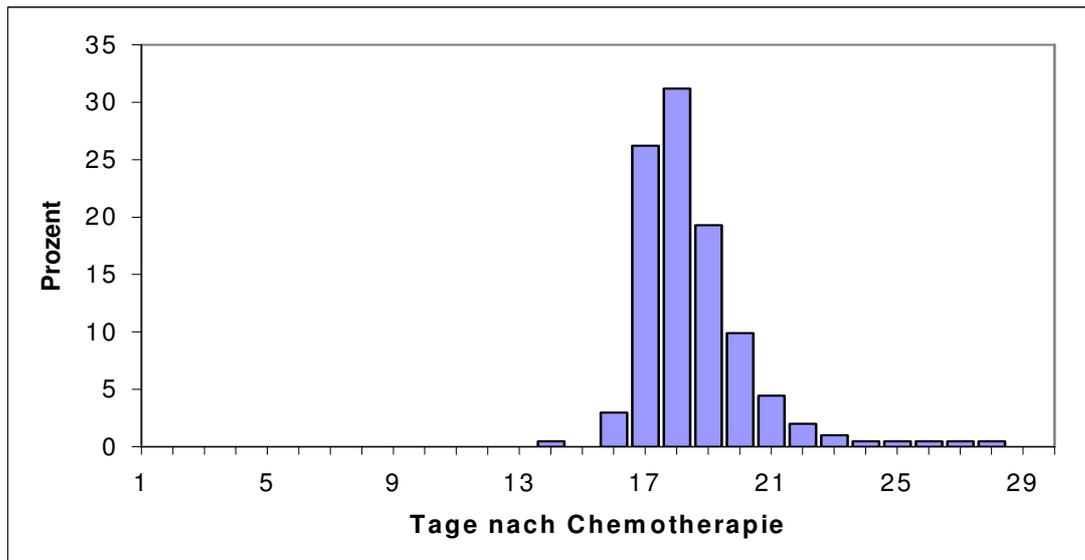


Abbildung 18: Verteilung und Häufigkeit aller Separationen (Dexa-BEAM) in Prozent

Abbildung 18 zeigt eine Übersicht über die Verteilung aller Separationstage nach Beginn der Chemotherapie unter Dexa-BEAM.

Bei schablonenhafter Betrachtung der fünf aufeinander folgenden Tage mit den meisten durchgeführten Separationen erhält man die Tage 17 bis 21. Um möglichst die Separationen an Wochentagen auszuführen und Wochenendseparationen zu vermeiden, empfiehlt es sich, diese Tage auf die Tage Montag bis Freitag zu legen.

Wählte man den Mittwoch als ersten Separationstag, so müsste der Beginn der Chemotherapie an einem Samstag 19 Tage früher erfolgen

91,09% aller durchgeführten Separationen fielen dann in den Zeitraum zwischen Tag 17 und 21 post Chemo, 5,94% verteilten sich dann auf die angrenzenden Wochenenden, 3,47% fielen in den Zeitraum davor und 2,48% in den Zeitraum danach.

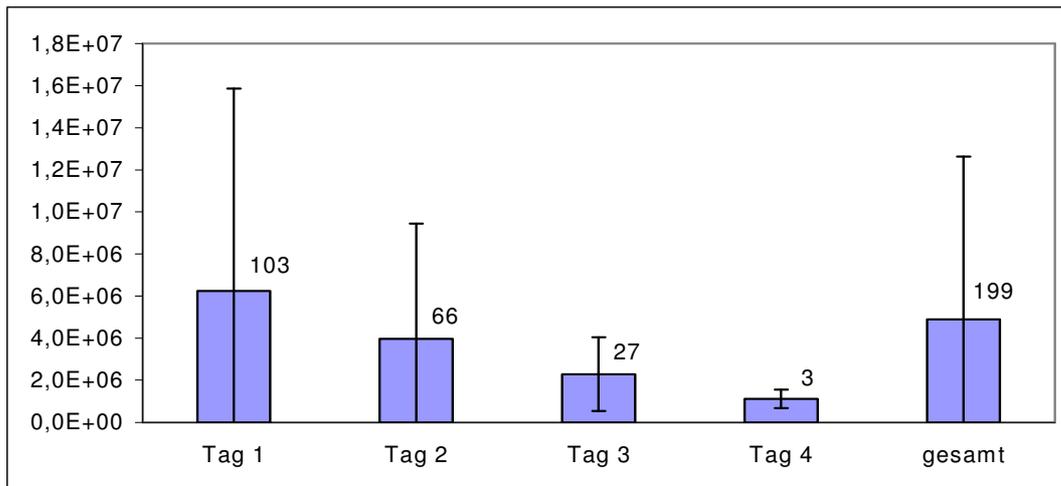


Abbildung 19: Stammzellausbeute am jeweiligen Separationstag pro kgKG (Dexa-BEAM), Mittelwerte, Standardabweichung, Zahlen: Anzahl der gemessenen PBSC-Präparate

Die Abbildung 19 gibt die Mittelwerte der gesammelten CD34+ Stammzellen pro Kilogramm Körpergewicht am jeweiligen Separationstag nach Dexa-BEAM wieder. Die Zahlen über den Balken stehen für die Anzahl der zur Messung herangezogenen PBSZ-Präparate je Separationstag. Die Standardabweichung beschreibt als verwendetes Streumaß die durchschnittliche Abweichung vom Mittelwert und zeigt gerade für den Tag eins und zwei hohe Werte an.

Man kann sehen, dass die durchschnittliche Anzahl gewonnener Stammzellen vom ersten bis zum dritten Separationstag kontinuierlich um jeweils mehr als ein Drittel abnimmt. Bei dem vorliegenden Patientenkollektiv fand nach Dexa-BEAM niemals eine fünfte Separation pro Zyklus statt.

Durchschnittlich wurden, unabhängig vom Separationstag und bezogen auf alle Separationen unter Dexa-BEAM, $4,88E+06$ CD34+/kgKG gesammelt.

Tabelle 16: Stammzellausbeute am jeweiligen Separationstag unter Dexa-BEAM

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	gesamt
Mittelwert	6,25E+06	3,97E+06	2,29E+06	1,12E+06	4,88E+06
stabw	9,60E+06	5,48E+06	1,76E+06	4,36E+05	7,75E+06
Median	3,52E+06	2,18E+06	1,97E+06	1,22E+06	2,40E+06
Range	7,66E+07	4,02E+07	6,03E+06	8,54E+05	7,66E+07
Anzahl	103	66	27	3	199

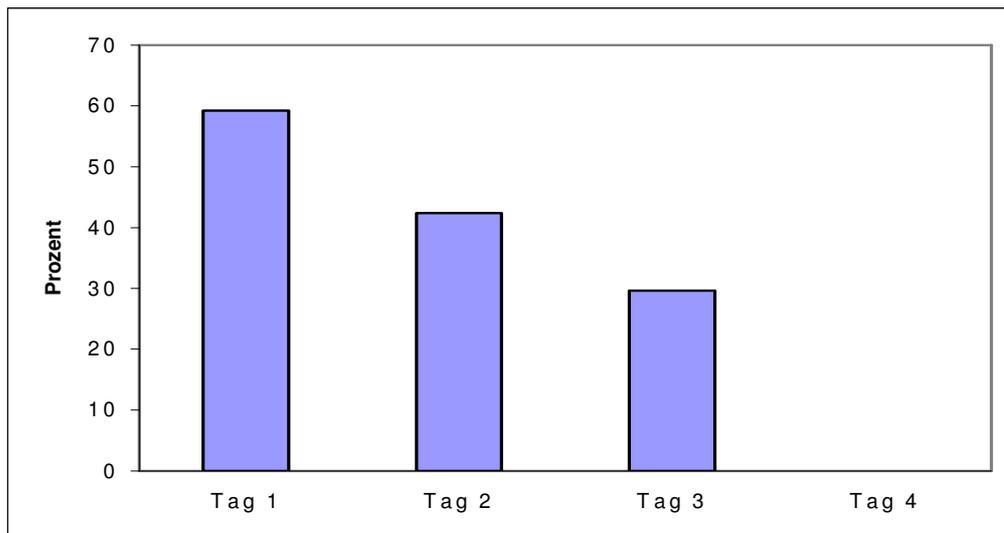


Abbildung 20: Anteil aller Separationen, der das Soll mindestens erreicht (Dexa-BEAM) in Prozent; Soll: 2,5 Mio. CD34+/kgKG

Die Abbildung 20 veranschaulicht taggebunden den Anteil aller Separationen unter Dexa-BEAM, der das Soll erreicht, d.h. es erfüllt oder übertrifft. Das Soll für die Stammzellausbeute pro Zyklus ist mit 2,5 Mio. CD34+/kgKG definiert. Die Anzahl der berücksichtigten Separationen ist die gleiche wie in Abbildung 19.

Bei rund 59% aller Separationen am Tag 1, bei rund 42% aller Separationen am Tag 2 und bei rund 30% aller Separationen am Tag 3 wird eine Stammzellausbeute von mindestens 2,5 Mio. CD34+/kgKG erreicht

Am vierten Separationstag fanden nur drei Separationen unter Dexa-BEAM statt, wovon keine einzige das Soll erreichte, am fünften Separationstag wurde zu keinem Zeitpunkt unter Dexa-BEAM separiert.

Bei Berücksichtigung aller Separationen unter Dexa-BEAM erreichten rund 48,7% der Separationen, unabhängig vom Separationstag, das Zyklussoll von 2,5 Mio. CD34+/kgKG.

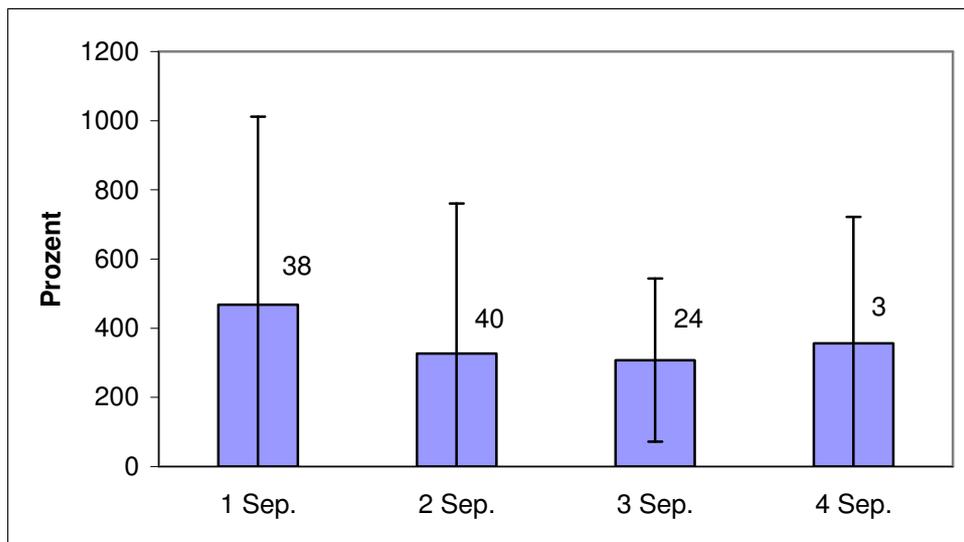


Abbildung 21: Durchschnittlich gewonnene Menge CD34+ Zellen in Prozent vom Soll nach x-Separationen eines Zyklus (Dexa-BEAM); Mittelwerte; Soll: 2,5 Mio. CD34+/kgKG, Standardabweichung; Zahlen: Anzahl der berücksichtigten Zyklen

Abbildung 21 gibt die durchschnittlich erzielte Menge CD34+ Stammzellen in Prozent vom Soll nach einer, zwei, drei und vier durchgeführten Separationen pro Zyklus nach Dexa-BEAM wieder. Die Zahlen über den Balken stehen für die Anzahl untersuchter Zyklen.

Die Patienten mit nur einer durchgeführten Separation pro Zyklus haben insgesamt 468% vom Soll gesammelt, die Patienten mit zwei durchgeführten Separationen pro Zyklus haben insgesamt 327% vom Soll gesammelt, die Patienten mit drei und vier Separationen jeweils 308% und 356% (Tag 4 mit 3 untersuchten Zyklen) vom Soll.

	1 Sep.	2 Sep.	3 Sep.	4 Sep.
Mittelwert	468,23	327,04	307,75	355,87
stabw	543,75	433,56	235,91	366,19
Median	315,22	224,17	239,37	195,85
Range	3057,08	2636,01	1051,51	677,92
Anzahl	38	40	24	3

3.2.3 HD Endoxan

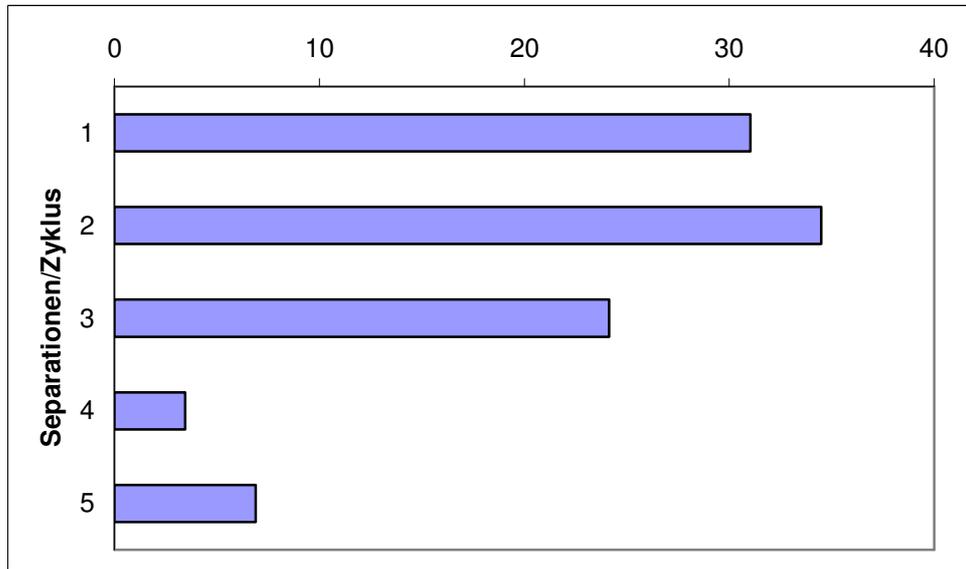


Abbildung 22: Anzahl der Separationen pro Zyklus (HD Endoxan) in Prozent

Abbildung 22 veranschaulicht, wie viele Separationen pro Zyklus bei den mit Endoxan mobilisierten Patienten jeweils durchgeführt wurden.

Rund zwei Drittel der Zyklen setzten sich aus ein oder zwei Separationen zusammen, rund ein Viertel aus drei Separationen und die restlichen rund 10% der Zyklen aus vier oder fünf.

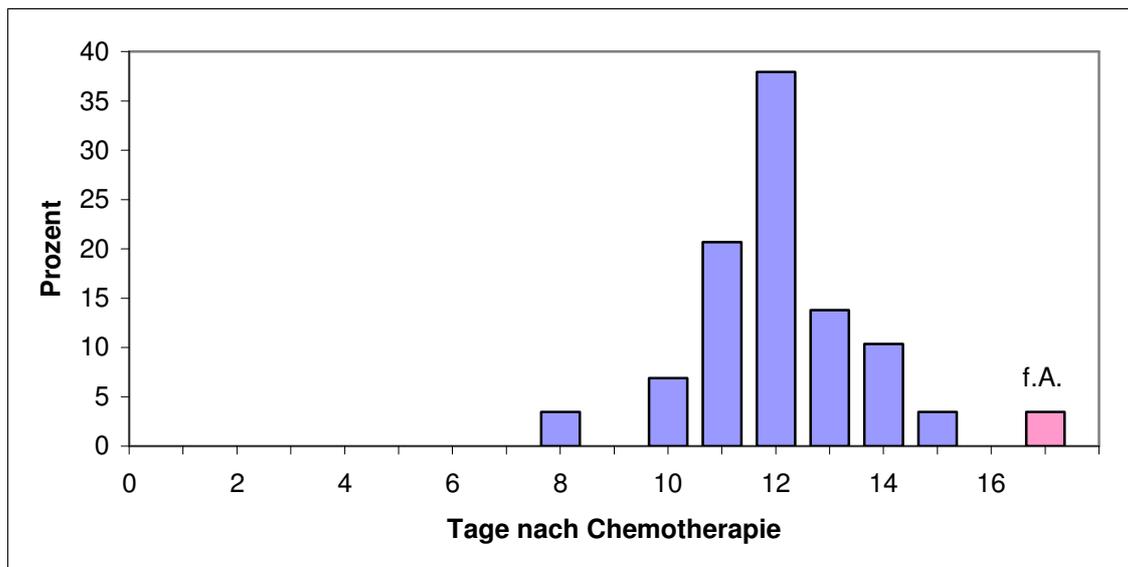


Abbildung 23: Verteilung und Häufigkeit des ersten Separationstages (HD Endoxan) in Prozent

Abbildung 23 zeigt eine Übersicht über die Verteilung des ersten Separationstages aller Zyklen nach einer Induktionschemotherapie mit HD Endoxan bei dem vorliegenden Patientenkollektiv, zeigt also den Zeitraum zwischen Beginn der Chemotherapie und Beginn der Separationen.

In 37,39% der Fälle war der Tag 12 post chemo der häufigste Separationsstartpunkt eines Zyklus. Würde man den Mittwoch als ersten Separationstag anstreben, so müsste man den Beginn einer Chemotherapie auf den Samstag 12 Tage früher legen.

Der Beginn der Separationen fiel in 89,66% der Fälle auf die Tage 10 bis 14 (Montag bis Freitag) post Chemo, 6,9% verteilten sich dann auf die angrenzenden Wochenenden, 0% fielen in den Zeitraum davor und 3,45% in den Zeitraum danach.

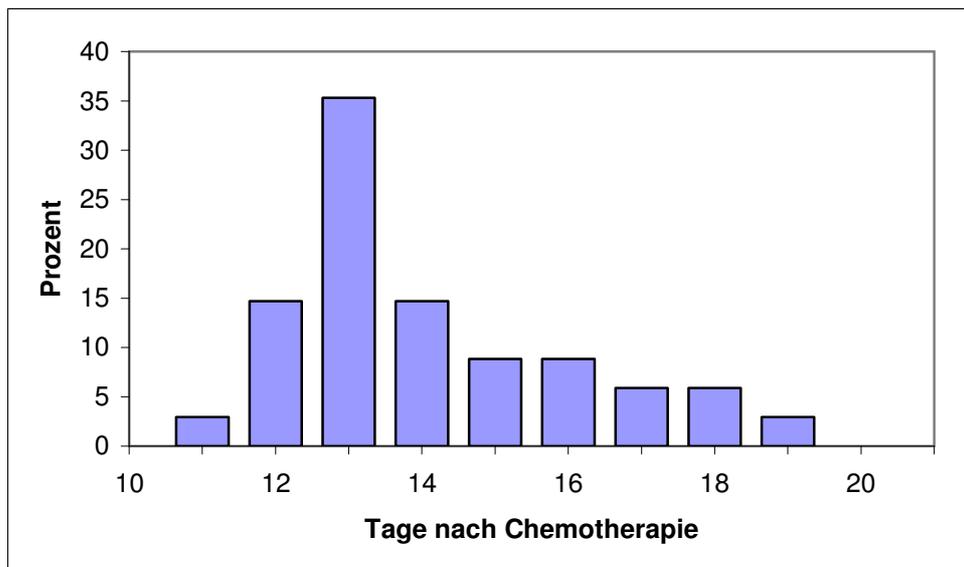


Abbildung 24: Verteilung und Häufigkeit aller Separationen (HD Endoxan) in Prozent

Abbildung 24 zeigt eine Übersicht über die Verteilung aller Separationstage nach Beginn der Chemotherapie unter HD Endoxan.

Bei schablonenhafter Betrachtung der fünf aufeinander folgenden Tage mit den meisten durchgeführten Separationen erhält man die Tage 12 bis 16. Um möglichst die Separationen an Wochentagen auszuführen und Wochenendseparationen zu vermeiden, empfiehlt es sich, diese Tage auf die Tage Montag bis Freitag zu legen.

Wählte man den Mittwoch als ersten Separationstag, so müsste der Beginn der Chemotherapie an einem Mittwoch 14 Tage früher erfolgen

82,35% aller durchgeführten Separationen fielen dann in den Zeitraum zwischen Tag 12 und 16 post Chemo, 14,71% verteilten sich dann auf die angrenzenden Wochenenden, 0% fielen in den Zeitraum davor und 2,94% in den Zeitraum danach.

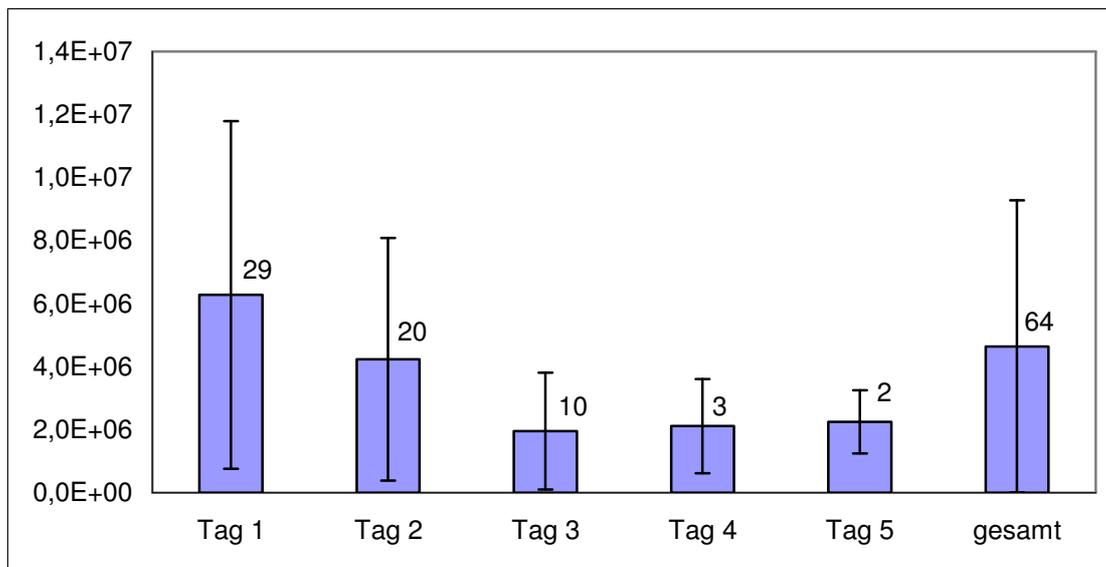


Abbildung 25: Stammzellausbeute am jeweiligen Separationstag pro kgKG (HD Endoxan), Mittelwerte, Standardabweichung, Zahlen: Anzahl der gemessenen PBSC-Präparate

Die Abbildung 25 gibt die Mittelwerte aller gesammelten CD34+ Stammzellen pro Kilogramm Körpergewicht am jeweiligen Separationstag nach HD Endoxan wieder. Die Zahlen über den Balken stehen für die Anzahl der zur Messung herangezogenen PBSC-Präparate je Separationstag. Man kann sehen, dass die durchschnittliche Anzahl gewonnener Stammzellen vom ersten bis zum dritten Separationstag kontinuierlich abnimmt, vom ersten auf den zweiten um etwa ein Drittel, vom zweiten auf den dritten sogar um mehr als die Hälfte, um vom dritten Separationstag an relativ konstant zu bleiben.

Durchschnittlich wurden, unabhängig vom Separationstag und bezogen auf alle Separationen unter HD Endoxan, $4,64E+06/kgKG$ gesammelt.

Tabelle 17: Stammzellausbeute am jeweiligen Separationstag unter HD Endoxan

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	gesamt
Mittelwert	6,28E+06	4,24E+06	1,96E+06	2,11E+06	2,25E+06	4,64E+06
stabw	5,52E+06	3,85E+06	1,86E+06	1,50E+06	1,00E+06	4,64E+06
Median	4,06E+06	2,26E+06	1,45E+06	1,98E+06	2,25E+06	2,42E+06
Range	2,01E+07	1,16E+07	6,54E+06	2,98E+06	1,41E+06	2,01E+07
Anzahl	29	20	10	3	2	64

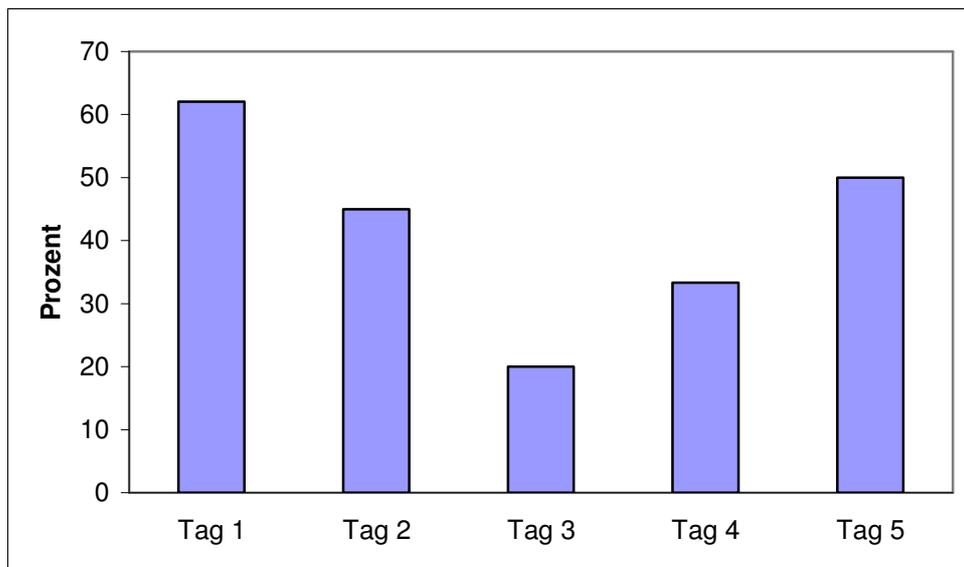


Abbildung 26: Anteil aller Separationen, der das Soll mindestens erreicht (HD Endoxan) in Prozent; Soll: 2,5 Mio. CD34+/kgKG

Die Abbildung 26 veranschaulicht taggebunden den Anteil aller Separationen unter HD Endoxan, der das Soll erreicht, d.h. es erfüllt oder übertrifft. Das Soll für die Stammzellausbeute pro Zyklus ist mit 2,5 Mio. CD34+/kgKG definiert. Die Anzahl der berücksichtigten Separationen ist die gleiche wie in Abbildung 25.

Bei rund 62% aller Separationen am Tag 1, bei rund 45% aller Separationen am Tag 2 und bei rund 20% aller Separationen am Tag 3 wird eine Stammzellausbeute von mindestens 2,5 Mio. CD34+/kgKG erreicht. Am vierten (drei Separationen) und fünften (zwei Separationen) Separationstag erreichten jeweils rund 33,3% und 50% aller Separationen das Soll.

Bei Berücksichtigung aller Separationen unter HD Endoxan erreichten etwa 48,4% aller Separationen, unabhängig vom Separationstag, das Zyklusoll von 2,5 Mio. CD34+/kgKG.

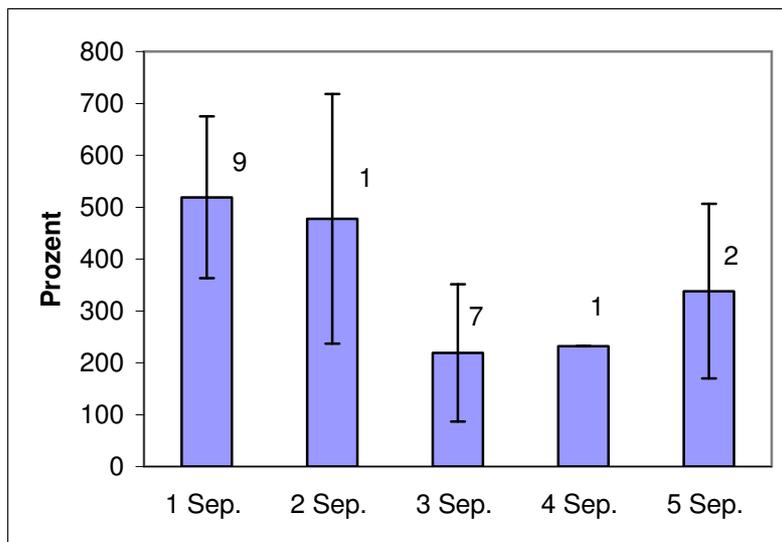


Abbildung 27: Durchschnittlich gewonnene Menge CD34+ Zellen in Prozent vom Soll nach x-Separationen eines Zyklus (HD Endoxan); Mittelwerte; Soll: 2,5 Mio. CD34+/kgKG, Standardabweichung; Zahlen: Anzahl der berücksichtigten Zyklen

Abbildung 27 gibt die durchschnittlich erzielte Menge CD34+ Stammzellen in Prozent vom Soll nach einer, zwei, drei, vier und fünf durchgeführten Separationen pro Zyklus nach HD Endoxan wieder. Die Zahlen über den Balken stehen für die Anzahl untersuchter Zyklen.

Die Patienten mit nur einer durchgeführten Separation pro Zyklus haben insgesamt 519% vom Soll gesammelt, die Patienten mit zwei durchgeführten Separationen pro Zyklus haben insgesamt 477% vom Soll gesammelt, die Patienten mit drei durchgeführten Separationen 219% und die mit vier und fünf durchgeführten Separationen pro Zyklus jeweils 232% und 338% (bei jeweils 1 und 2 untersuchten Zyklen) vom Soll.

	1 Sep.	2 Sep.	3 Sep.	4 Sep.	5 Sep.
Mittelwert	518,93	477,27	219,32	232,06	338,11
stabw	156,07	240,59	132,36	/	168,11
Median	520,36	425,83	199,97	232,06	338,11
Range	518,05	811,72	398,79	/	237,75
Anzahl	9	10	7	1	2

3.2.4 m-CHOEP

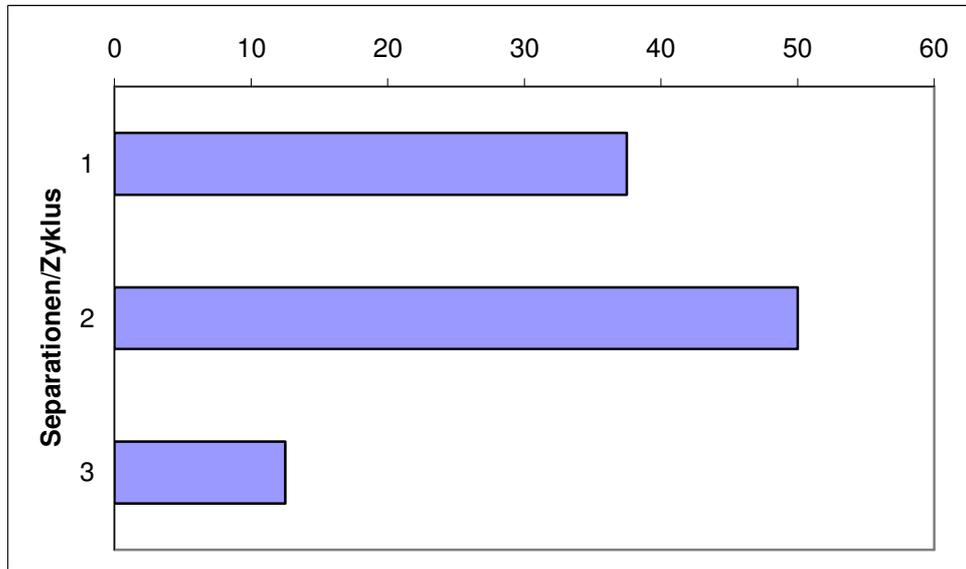


Abbildung 28: Anzahl der Separationen pro Zyklus (m-CHOEP) in Prozent

Abbildung 28 veranschaulicht, wie viele Separationen pro Zyklus bei den mit m-CHOEP mobilisierten Patienten jeweils durchgeführt wurden. Es handelt sich um 16 untersuchte Zyklen von neun Patienten.

37,5% der Zyklen setzten sich aus einer Separation, 50% der Zyklen aus zwei und 12,5% der Zyklen aus drei Separationen zusammen.

Bei keinem Patienten gab es eine vierte oder fünfte Separation innerhalb desselben Zyklus.

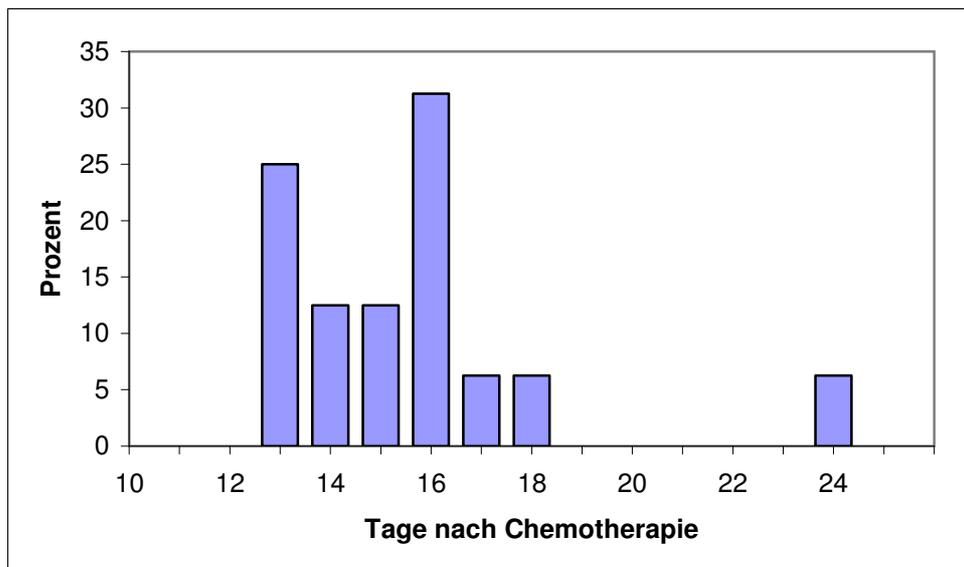


Abbildung 29: Verteilung und Häufigkeit des ersten Separationstages (m-CHOEP) in Prozent

Abbildung 29 zeigt eine Übersicht über die Verteilung des ersten Separationstages aller Zyklen nach einer Induktionschemotherapie mit m-CHOEP bei dem vorliegenden Patientenkollektiv, zeigt also den Zeitraum zwischen Beginn der Chemotherapie und Beginn der Separationen.

In 31,25% der Fälle war der Tag 16 post chemo der häufigste Separationsstartpunkt eines Zyklus. Würde man den Mittwoch als ersten Separationstag anstreben, so müsste man den Beginn einer Chemotherapie auf den Dienstag 16 Tage früher legen.

Der Beginn der Separationen fiel in 68,75% der Fälle auf die Tage 14 bis 18 (Montag bis Freitag) post Chemo, 25% verteilten sich dann auf die angrenzenden Wochenenden, 0% fielen in den Zeitraum davor und 6,25% in den Zeitraum danach.

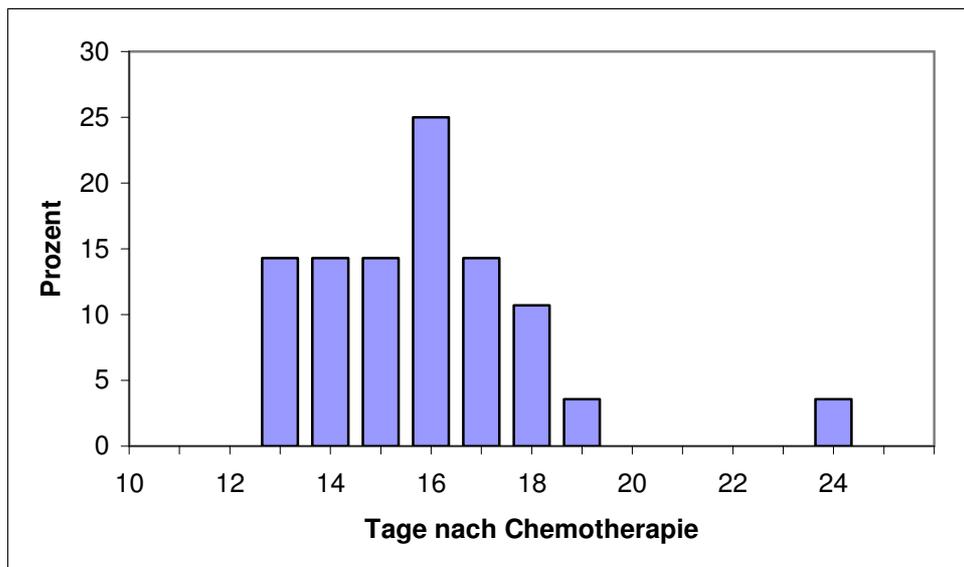


Abbildung 30: Verteilung und Häufigkeit aller Separationen (m-CHOEP) in Prozent

Abbildung 30 zeigt eine Übersicht über die Verteilung aller Separationstage nach Beginn der Chemotherapie unter m-CHOEP.

Bei schablonenhafter Betrachtung der fünf aufeinander folgenden Tage mit den meisten durchgeführten Separationen erhält man die Tage 13 bis 17. Um möglichst die Separationen an Wochentagen auszuführen und Wochenendseparationen zu vermeiden, empfiehlt es sich, diese Tage auf die Tage Montag bis Freitag zu legen.

Wählte man den Mittwoch als ersten Separationstag, so müsste der Beginn der Chemotherapie an einem Mittwoch 15 Tage früher erfolgen

82,14% aller durchgeführten Separationen fielen dann in den Zeitraum zwischen Tag 13 und 17 post Chemo, 14,29% verteilten sich dann auf die angrenzenden Wochenenden, 0% fielen in den Zeitraum davor und 3,57% in den Zeitraum danach.

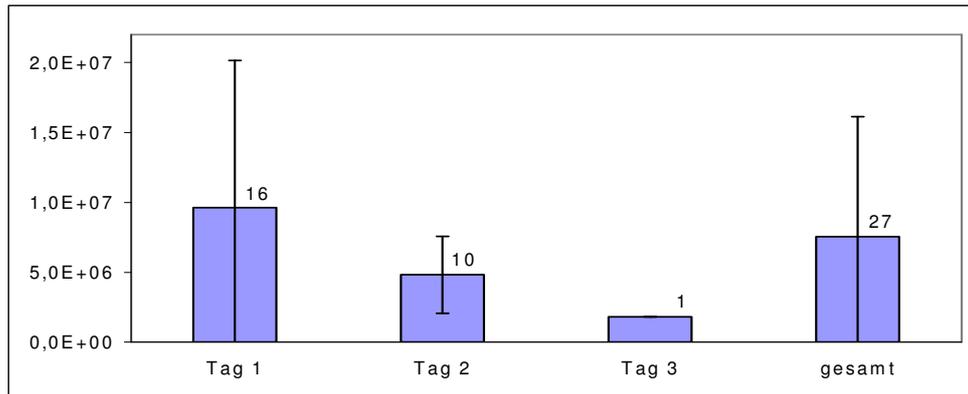


Abbildung 31: Stammzellausbeute am jeweiligen Separationstag pro kgKG (m-CHOEP), Mittelwerte, Standardabweichung, Zahlen: Anzahl der gemessenen PBSC-Präparate

Die Abbildung 31 gibt die Mittelwerte aller gesammelten CD34+ Stammzellen pro Kilogramm Körpergewicht am jeweiligen Separationstag nach m-CHOEP wieder. Die Zahlen über den Balken stehen für die Anzahl der zur Messung herangezogenen PBSC-Präparate je Separationstag.

Man kann sehen, dass die durchschnittliche Anzahl gewonnener Stammzellen vom ersten bis zum dritten Separationstag kontinuierlich abnimmt, vom ersten auf dem zweiten um etwa die Hälfte, vom zweiten auf den dritten sogar um etwa zwei Drittel.

Durchschnittlich wurden, unabhängig vom Separationstag und bezogen auf alle Separationen unter m-CHOEP, 7,55E+06 CD34+/kgKG gesammelt.

Tabelle 18: Stammzellausbeute am jeweiligen Separationstag unter m-CHOEP

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	gesamt
Mittelwert	9,62E+06	4,82E+06	1,82E+06	7,55E+06
Stabw	1,05E+07	2,75E+06	/	8,57E+06
Median	7,02E+06	5,14E+06	1,82E+06	5,74E+06
Range	4,00E+07	8,15E+06	/	4,00E+07
Anzahl	16	10	1	27

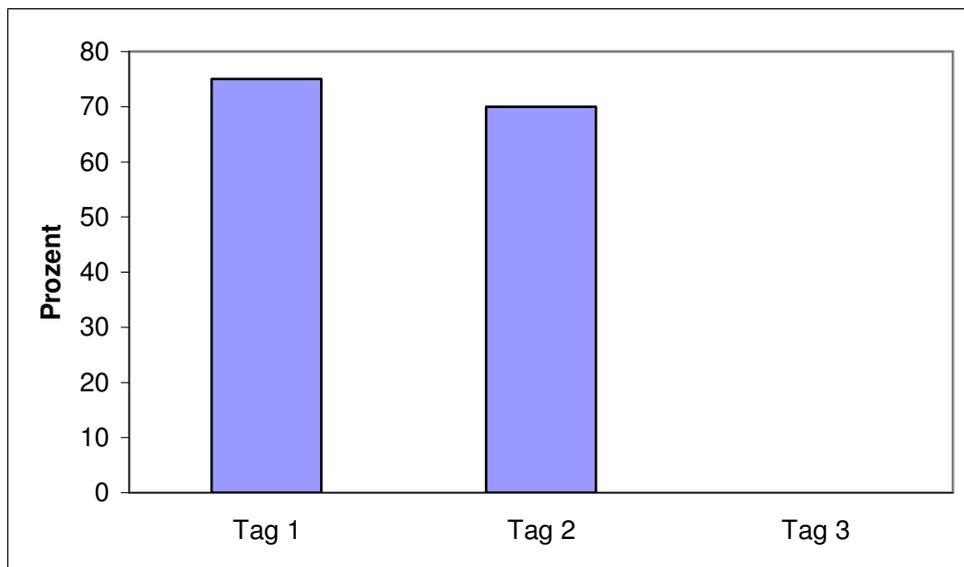


Abbildung 32: Anteil aller Separationen, der das Soll mindestens erreicht (m-CHOEP) in Prozent; Soll: 2,5 Mio. CD34+/kgKG

Die Abbildung 32 veranschaulicht taggebunden den Anteil aller Separationen unter m-CHOEP, der das Soll erreicht, d.h. es erfüllt oder übertrifft. Das Soll für die Stammzellausbeute pro Zyklus ist mit 2,5 Mio. CD34+/kgKG definiert. Die Anzahl der berücksichtigten Separationen ist die gleiche wie in Abbildung 31. Wie aus Abbildung 28 hervorgeht, wurde bei den Patienten am vierten und fünften Tag nicht separiert.

Bei 75% aller Separationen am Tag 1 und bei 70% aller Separationen am Tag 2 wird eine Stammzellausbeute von mindestens 2,5 Mio. CD34+/kgKG erreicht.

Am dritten Separationstag fand nur eine Separation unter m-CHOEP statt, die das Soll nicht erreichte.

Bei dem vorliegenden Patientenkollektiv und bei Berücksichtigungen aller Separationen unter m-CHOEP erreichten rund 70,4% aller Separationen, unabhängig vom Separationstag, das Zyklussoll von 2,5 Mio. CD34+/kgKG.

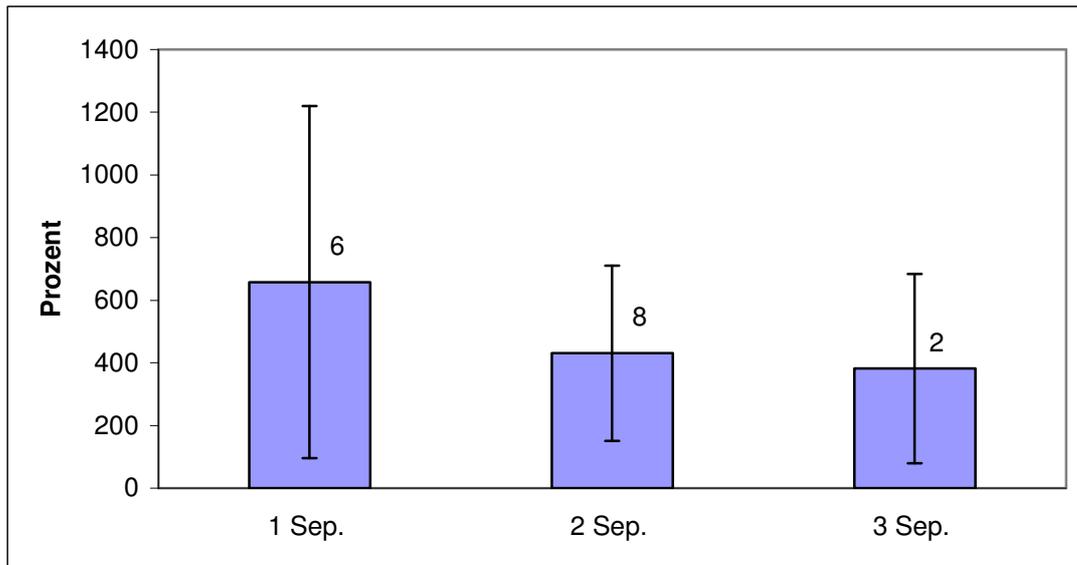


Abbildung 33: Durchschnittlich gewonnene Menge CD34+ Zellen in Prozent vom Soll nach x-Separationen eines Zyklus (m-CHOEP); Mittelwerte; Soll: 2,5 Mio. CD34+/kgKG, Standardabweichung; Zahlen: Anzahl der berücksichtigten Zyklen

Abbildung 33 gibt die durchschnittlich erzielte Menge CD34+ Stammzellen in Prozent vom Soll nach einer, zwei und drei durchgeführten Separationen pro Zyklus nach m-CHOEP wieder. Die Zahlen über den Balken stehen für die Anzahl untersuchter Zyklen. Die Patienten mit nur einer durchgeführten Separation pro Zyklus haben insgesamt 657% vom Soll gesammelt, die Patienten mit zwei durchgeführten Separationen pro Zyklus haben insgesamt 431% vom Soll gesammelt und die Patienten mit drei durchgeführten Separationen 382% (Tag 3 mit 2 untersuchten Zyklen).

Mittelwert	657,40	431,00	382,06
stabw	562,20	280,03	302,25
Median	413,79	372,72	382,06
Range	1479,33	778,48	427,44
Anzahl	6	8	2

3.2.5 DHAP+E-SHAP

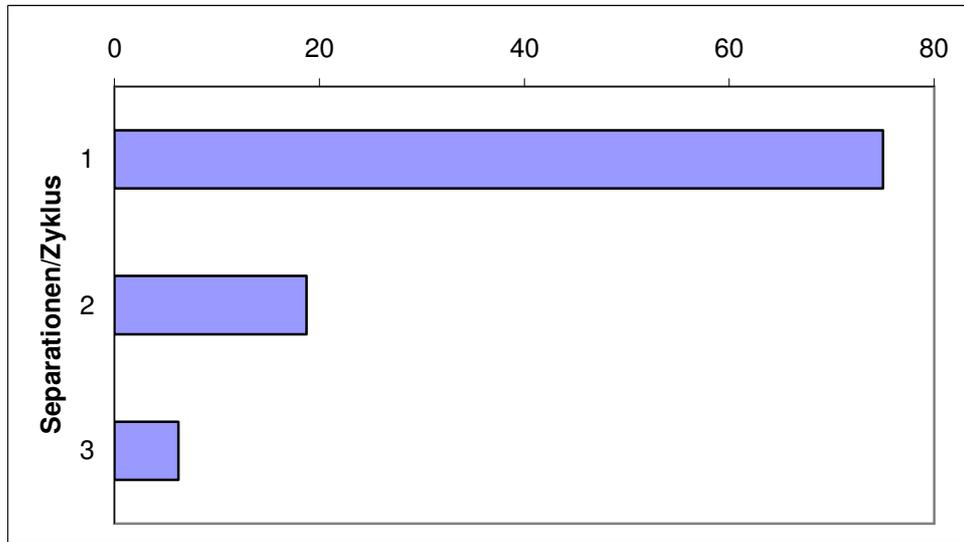


Abbildung 34: Anzahl der Separationen pro Zyklus (DHAP+E-Shap) in Prozent

Abbildung 34 veranschaulicht, wie viele Separationen pro Zyklus bei den mit DHAP und E-SHAP mobilisierten Patienten jeweils durchgeführt wurden. Es handelt sich um 16 untersuchte Zyklen von neun Patienten.

75% der Zyklen setzten sich aus einer Separation, 18,75% aus zwei und die restlichen 6,25% der Zyklen aus drei Separationen zusammen.

Bei keinem Patienten gab es eine vierte oder fünfte Separation innerhalb desselben Zyklus.

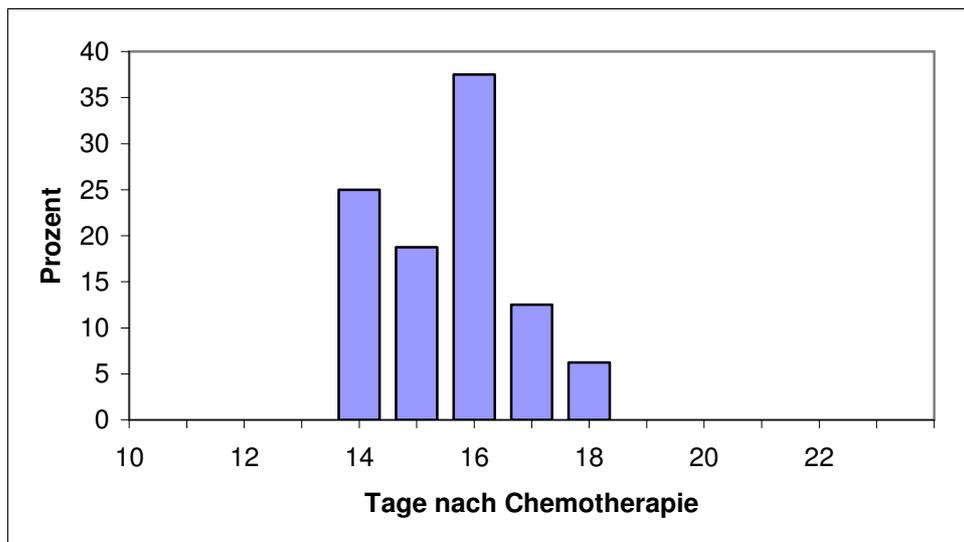


Abbildung 35: Verteilung und Häufigkeit des ersten Separationstages (DHAP+E-Shap) in Prozent

Abbildung 35 zeigt eine Übersicht über die Verteilung des ersten Separationstages aller Zyklen nach einer Induktionschemotherapie mit DHAP und E-SHAP bei dem vorliegenden Patientenkollektiv, zeigt also den Zeitraum zwischen Beginn der Chemotherapie und Beginn der Separationen.

In 37,5% der Fälle war der Tag 16 post chemo der häufigste Separationsstartpunkt eines Zyklus. Würde man den Mittwoch als ersten Separationstag anstreben, so müsste man den Beginn einer Chemotherapie auf den Dienstag 16 Tage früher legen.

Der Beginn der Separationen fiel in 100% der Fälle auf die Tage 14 bis 18 (Montag bis Freitag) post Chemo.

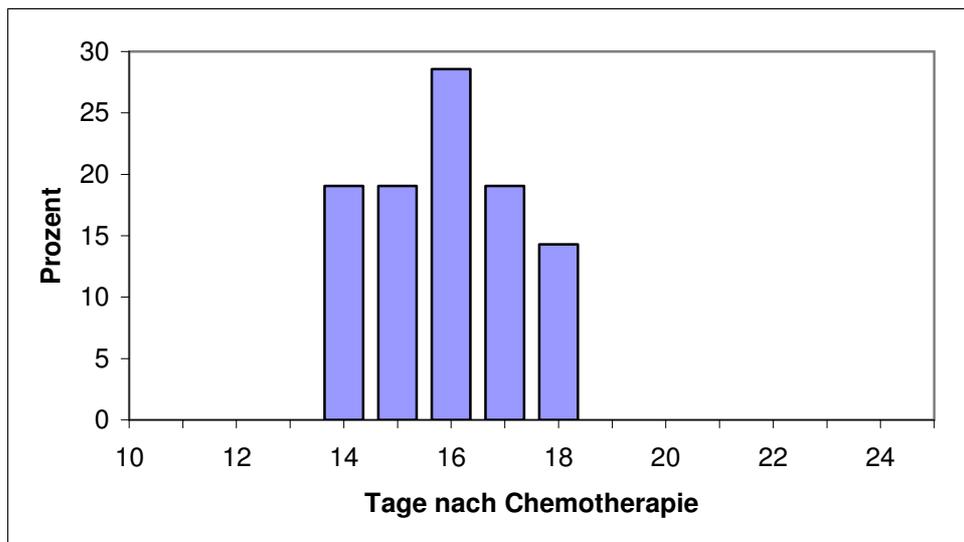


Abbildung 36: Verteilung und Häufigkeit aller Separationen (DHAP+E-Shap) in Prozent

Abbildung 36 zeigt eine Übersicht über die Verteilung aller Separationstage nach Beginn der Chemotherapie unter DHAP und E-SHAP.

Bei schablonenhafter Betrachtung der fünf aufeinander folgenden Tage mit den meisten durchgeführten Separationen erhält man die Tage 14 bis 18. Um möglichst die Separationen an Wochentagen auszuführen und Wochenendseparationen zu vermeiden, empfiehlt es sich, diese Tage auf die Tage Montag bis Freitag zu legen.

Wählte man den Mittwoch als ersten Separationstag, so müsste der Beginn der Chemotherapie an einem Dienstag 16 Tage früher erfolgen

100% aller durchgeführten Separationen fielen dann in den Zeitraum zwischen Tag 14 und 18 post Chemo.

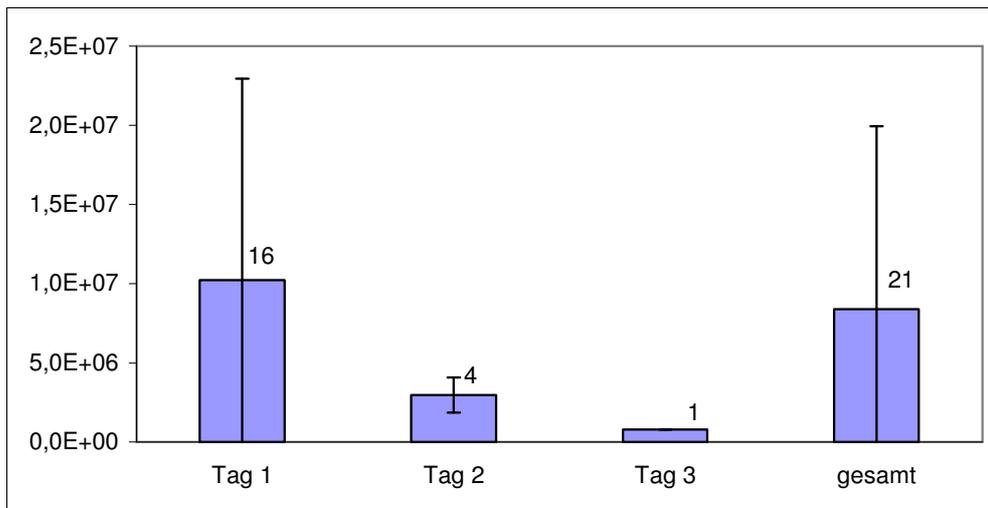


Abbildung 37: Stammzellausbeute am jeweiligen Separationstag pro kgKG (DHAP+E-Shap), Mittelwerte, Standardabweichung, Zahlen: Anzahl der gemessenen PBSC-Präparate

Die Abbildung 37 gibt die Mittelwerte der gesammelten CD34+ Stammzellen pro Kilogramm Körpergewicht am jeweiligen Separationstag nach (DHAP+E-Shap) wieder. Die Zahlen über den Balken stehen für die Anzahl der zur Messung herangezogenen PBSC-Präparate je Separationstag.

Man kann sehen, dass die durchschnittliche Anzahl gewonnener Stammzellen vom ersten bis zum dritten Separationstag kontinuierlich abnimmt; wobei über die Tage zwei und drei aufgrund der geringen Datenmenge keine verlässliche statistische Aussage zu machen ist.

Durchschnittlich wurden, unabhängig vom Separationstag und bezogen auf alle Separationen unter DHAP+E-Shap, $8,38E+06$ CD34/kgKG gesammelt.

Tabelle 19: Stammzellausbeute am jeweiligen Separationstag unter DHAP+E-Shap

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	gesamt
Mittelwert	1,02E+07	2,97E+06	7,89E+05	8,38E+06
stabw	1,27E+07	1,10E+06	/	1,16E+07
Median	5,95E+06	2,89E+06	7,89E+05	4,22E+06
Range	4,74E+07	2,36E+06	/	4,77E+07
Anzahl	16	4	1	21

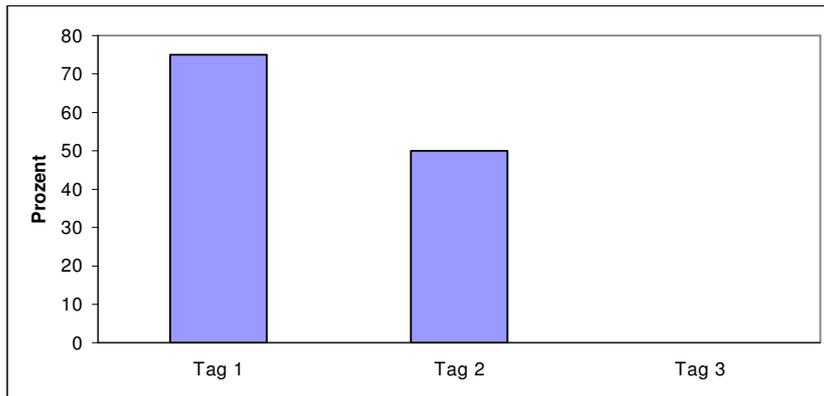


Abbildung 38: Anteil aller Separationen, der das Soll mindestens erreicht (DHAP+E-Shap) in Prozent; Soll: 2,5 Mio. CD34+/kgKG; Zahlen: Anzahl der berücksichtigten Separationen

Die Abbildung 38 veranschaulicht taggebunden den Anteil aller Separationen unter DHAP+E-Shap, der das Soll erreicht, d.h. es erfüllt oder übertrifft. Das Soll für die Stammzellausbeute pro Zyklus ist mit 2,5 Mio. CD34+/kgKG definiert. Die Anzahl der berücksichtigten Separationen ist die gleiche wie in Abbildung 37. Wie aus Abbildung 34 hervorgeht, wurde bei den Patienten am vierten und fünften Tag nicht separiert.

Bei 75% aller Separationen am Tag 1 und bei 50% aller Separationen am Tag 2 wird eine Stammzellausbeute von mindestens 2,5 Mio. CD34+/kgKG erreicht.

Am dritten Separationstag fand nur eine Separation unter DHAP+E-Shap statt, die das Soll nicht erreichte.

Bei Berücksichtigung aller Separationen unter DHAP+E-SHAP erreichten rund 66,7% aller Separationen, unabhängig vom Separationstag, das Zyklussoll von 2,5 Mio. CD34+/kgKG.

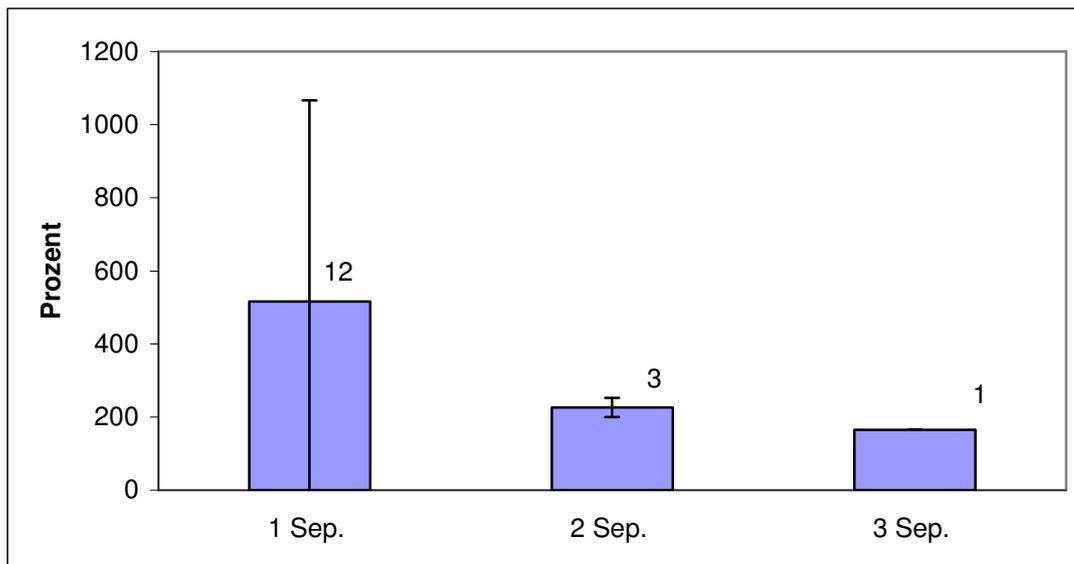


Abbildung 39: Durchschnittlich gewonnene Menge CD34+ Zellen in Prozent vom Soll nach x-Separationen eines Zyklus (DHAP+E-Shap); Mittelwerte; Soll: 2,5 Mio. CD34+/kgKG, Standardabweichung; Zahlen: Anzahl der berücksichtigten Zyklen

Abbildung 39 gibt die durchschnittlich erzielte Menge CD34+ Stammzellen in Prozent vom Soll nach einer, zwei und drei durchgeführten Separationen pro Zyklus nach DHAP+E-SHAP wieder. Die Zahlen über den Balken stehen für die Anzahl untersuchter Zyklen.

Die Patienten mit nur einer durchgeführten Separation pro Zyklus haben insgesamt 517% vom Soll gesammelt, die Patienten mit zwei durchgeführten Separationen pro Zyklus haben insgesamt 226% vom Soll gesammelt und die Patienten mit drei durchgeführten Separationen 165% (bei jeweils 3 und 1 untersuchten Zyklen an den Tagen 2 und 3).

	1 Sep.	2 Sep.	3 Sep.
Mittelwert	516,73	225,73	165,20
stabw	550,18	26,22	/
Median	317,42	238,98	165,20
Range	1888,90	47,16	/
Anzahl	12	3	1

3.2.6 PEI

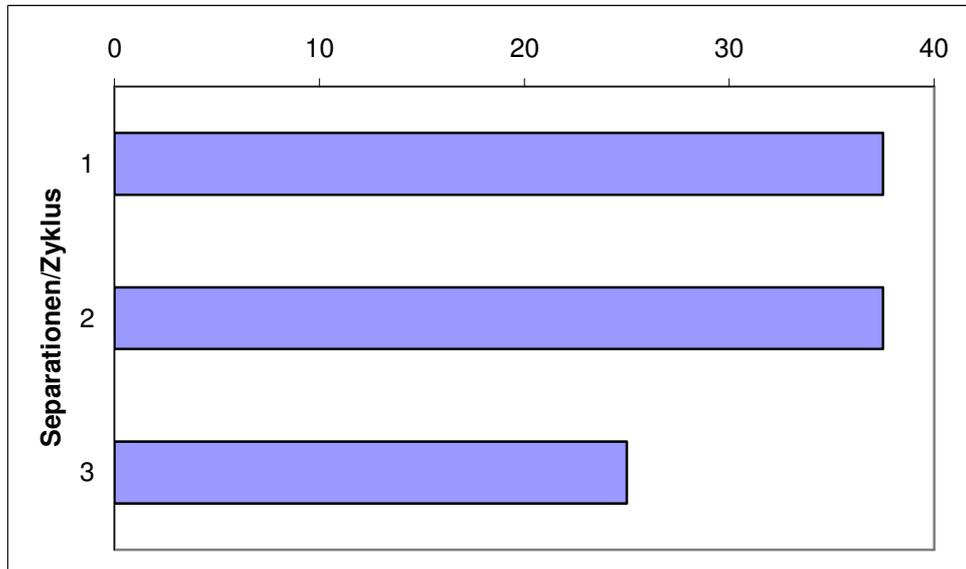


Abbildung 40: Anzahl der Separationen pro Zyklus (PEI) in Prozent

Abbildung 40 veranschaulicht, wie viele Separationen pro Zyklus bei den mit PEI mobilisierten Patienten jeweils durchgeführt wurden. Es handelt sich um acht untersuchte Zyklen von sechs Patienten.

37,5% der Zyklen setzen sich aus einer Separation, wieder 37,5% aus zwei und die restlichen 25% der Zyklen aus drei Separationen zusammen.

Bei keinem Patienten gab es eine vierte oder fünfte Separation innerhalb desselben Zyklus.

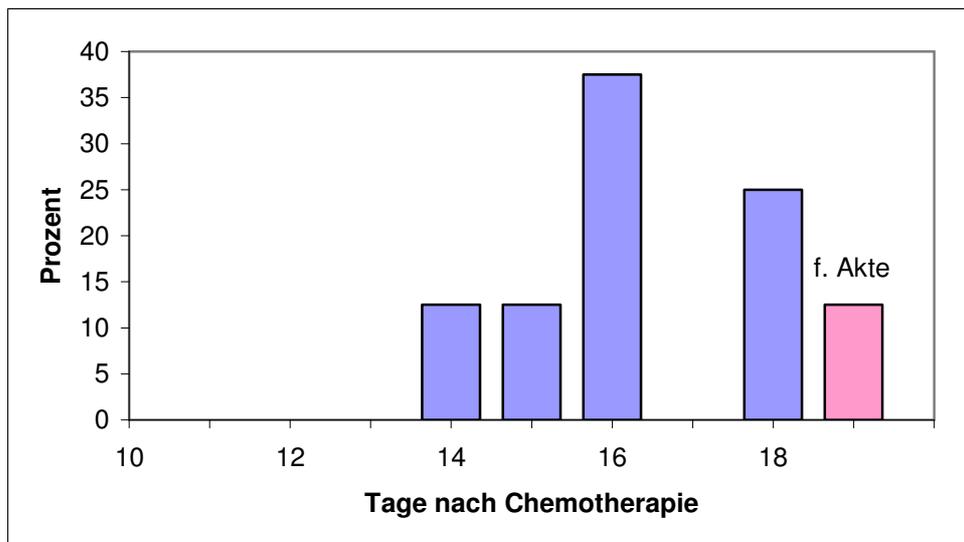


Abbildung 41: Verteilung und Häufigkeit des ersten Separationstages (PEI) in Prozent

Abbildung 41 zeigt eine Übersicht über die Verteilung des ersten Separationstages aller Zyklen nach einer Induktionschemotherapie mit PEI bei dem vorliegenden Patientenkollektiv, zeigt also den Zeitraum zwischen Beginn der Chemotherapie und Beginn der Separationen.

In 37,5% der Fälle war der Tag 16 post chemo der häufigste Separationsstartpunkt eines Zyklus. Würde man den Mittwoch als ersten Separationstag anstreben, so müsste man den Beginn einer Chemotherapie auf den Dienstag 16 Tage früher legen.

Der Beginn der Separationen fiel in 100% der Fälle auf die Tage 14 bis 18 (Montag bis Freitag) post Chemo bei einer fehlenden Angabe.

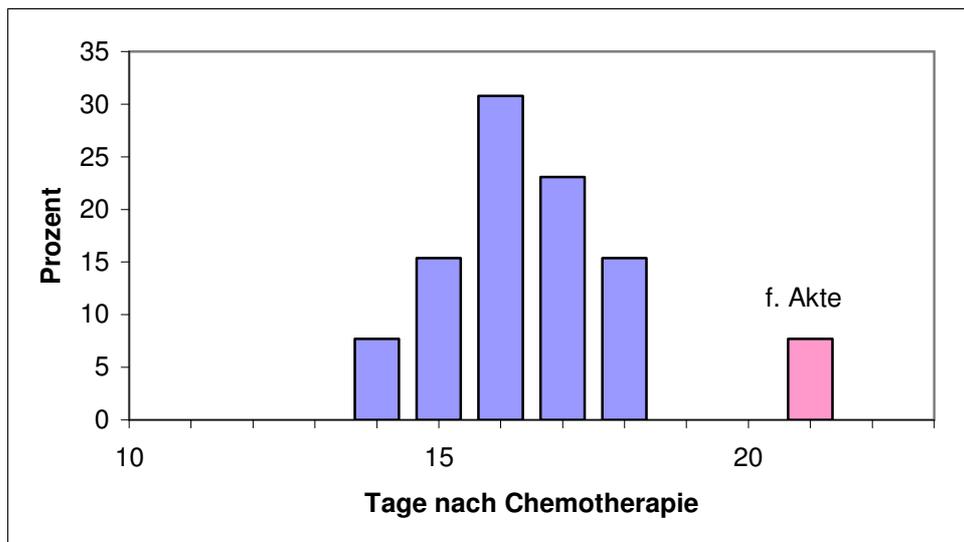


Abbildung 42: Verteilung und Häufigkeit aller Separationen (PEI) in Prozent

Abbildung 42 zeigt eine Übersicht über die Verteilung aller Separationstage nach Beginn der Chemotherapie mit PEI.

Bei schablonenhafter Betrachtung der fünf aufeinander folgenden Tage mit den meisten durchgeführten Separationen erhält man die Tage 14 bis 18. Um möglichst die Separationen an Wochentage auszuführen und Wochenendseparationen zu vermeiden, empfiehlt es sich, diese Tage auf die Tage Montag bis Freitag zu legen.

Wählte man den Mittwoch als ersten Separationstag, so müsste der Beginn der Chemotherapie an einem Sonntag 18 Tage früher erfolgen

100% aller durchgeführten Separationen fielen dann in den Zeitraum zwischen Tag 14 und 18 post Chemo bei einer fehlenden Angabe.

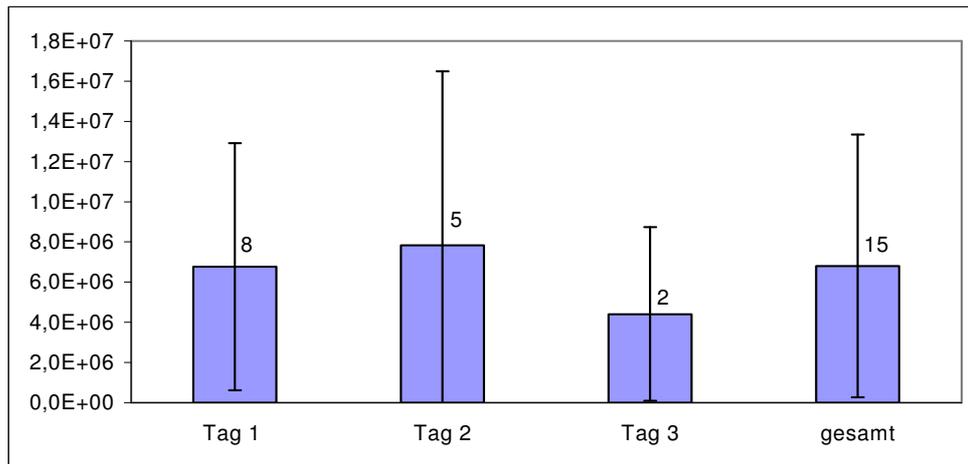


Abbildung 43: Stammzellausbeute am jeweiligen Separationstag pro kgKG (PEI), Mittelwerte, Standardabweichung, Zahlen: Anzahl der gemessenen PBSC-Präparate

Die Abbildung 43 gibt die Mittelwerte aller gesammelten CD34+ Stammzellen pro Kilogramm Körpergewicht am jeweiligen Separationstag nach PEI wieder. Die Zahlen über den Balken stehen für die Anzahl der zur Messung herangezogenen PBSC-Präparate je Separationstag.

Man kann sehen, dass die durchschnittliche Anzahl gewonnener Stammzellen vom ersten zum zweiten Separationstag ansteigt, um vom zweiten auf den dritten Tag um rund die Hälfte wieder abzufallen.

Durchschnittlich wurden, unabhängig vom Separationstag und bezogen auf alle Separationen, 6,81E+06 CD34/kgKG gesammelt.

Tabelle 20: Stammzellausbeute am jeweiligen Separationstag unter PEI

	Tag 1	Tag 2	Tag 3	gesamt
Mittelwert	6,77E+06	7,83E+06	4,41E+06	6,81E+06
stabw	6148364,93	8,66E+06	4,32E+06	6,55E+06
Median	4,86E+06	2,65E+06	4,41E+06	3,72E+06
Range	1,74E+07	2,03E+07	6,11E+06	2,10E+07
Anzahl	8	5	2	15

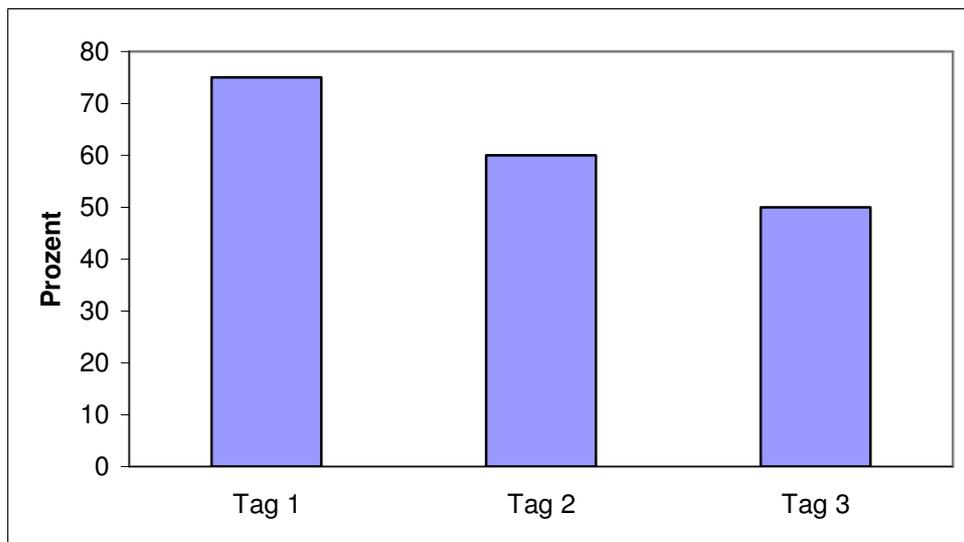


Abbildung 44: Anteil aller Separationen, der das Soll mindestens erreicht (PEI) in Prozent

Die Abbildung 44 veranschaulicht taggebunden den Anteil aller Separationen unter PEI, der das Soll erreicht, d.h. es erfüllt oder übertrifft. Das Soll für die Stammzellausbeute pro Zyklus ist mit 2,5 Mio. CD34+/kgKG definiert. Die Anzahl der berücksichtigten Separationen ist die gleiche wie in Abbildung 43. Wie aus Abbildung 40 hervorgeht, wurde bei den Patienten am vierten und fünften Tag nicht separiert.

Bei 75% aller Separationen am Tag 1, bei 60% aller Separationen am Tag 2 und bei 50% aller Separationen am Tag 3 wird eine Stammzellausbeute von mehr als 2,5 Mio. CD34+/kgKG erreicht.

Bei Berücksichtigung aller Separationen unter PEI erreichten rund 66,7% aller Separationen, unabhängig vom Separationstag, das Zyklussoll von 2,5 Mio. CD34+/kgKG.

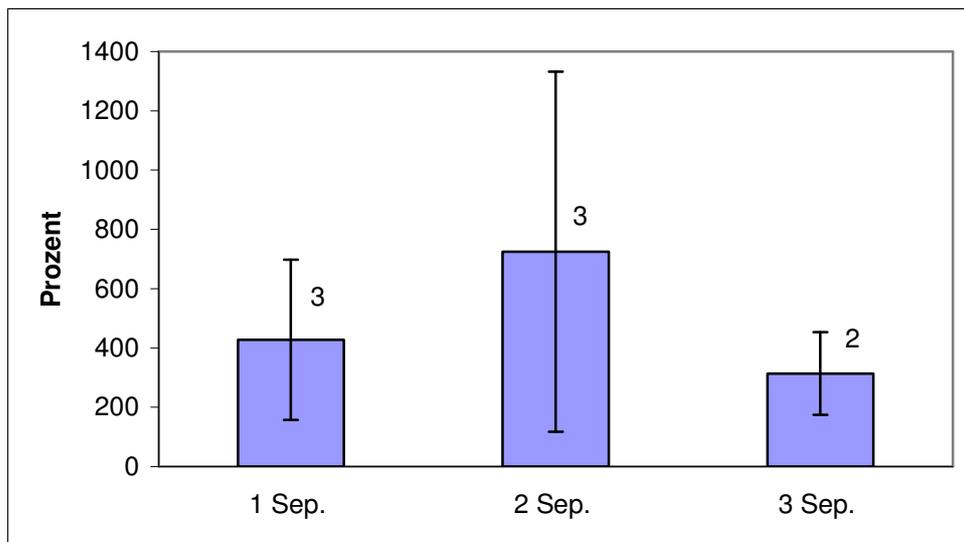


Abbildung 45: Durchschnittlich gewonnene Menge CD34+ Zellen in Prozent vom Soll nach x-Separationen eines Zyklus (PEI); Mittelwerte; Soll: 2,5 Mio. CD34+/kgKG, Standardabweichung; Zahlen: Anzahl der berücksichtigten Zyklen

Abbildung 45 gibt die durchschnittlich erzielte Menge CD34+ Stammzellen in Prozent vom Soll nach einer, zwei und drei durchgeführten Separationen pro Zyklus nach PEI wieder. Die Zahlen über den Balken stehen für die Anzahl untersuchter Zyklen.

Die Patienten mit nur einer durchgeführten Separation pro Zyklus haben insgesamt 428% vom Soll gesammelt, die Patienten mit zwei durchgeführten Separationen pro Zyklus haben insgesamt 725% vom Soll gesammelt und die Patienten mit drei durchgeführten Separationen 314% (bei jeweils 3 untersuchten Zyklen an den Tagen 1 und 2 und 2 untersuchten Zyklen am Tag 3).

	1 Sep.	2 Sep.	3 Sep.
Mittelwert	427,80	724,83	313,65
stabw	270,11	606,96	139,55
Median	306,05	518,15	313,65
Range	497,36	1159,93	197,36
Anzahl	3	3	2

4 Diskussion

4.1 Der Separationserfolg

Der Separationserfolg orientiert sich, wie auch in dieser Arbeit, sowohl an den pro Tag als auch an den pro Zyklus durchschnittlich gesammelten CD34+ Stammzellen pro Kilogramm Körpergewicht und steht u. a. sowohl in direktem Zusammenhang mit der Schnelligkeit der Erholung der Neutrophilen und Plättchen, als auch mit dem Gesamtüberleben, weshalb der durchschnittlich erzielten Stammzellmenge und deren Verhältnis zum Soll im Rahmen dieser Arbeit auch eine besondere Bedeutung zukommt⁵⁵.

Bezogen auf alle Separationen wurden durchschnittlich $5,37E+06$ ($s=7,86E+06$) CD34+ Zellen pro Kilogramm Körpergewicht gesammelt. Am ersten Separationstag war die Stammzellmenge mit durchschnittlich $7,11E+06/kgKG$ ($s=9,81E+06$) am höchsten, gefolgt von Tag zwei mit $3,96E+06/kgKG$ ($s=4,77E+06$) und Tag drei mit $2,46E+06/kgKG$ ($s=2,35E+06$). Durchschnittlich wurden pro Zyklus $1,03E+07$ CD34+ Zellen gesammelt ($s=1,05E+07$).

Nowroussian et al. von der Universität Essen untersuchten ebenfalls im Rahmen einer Studie an 262 Patienten mit hämatologischen und nicht-hämatologischen Erkrankungen, die mit unterschiedlichen Protokollen mobilisiert worden waren, die Separationseffizienz an verschiedenen Tagen und fanden bei einem Gesamtdurchschnitt aller Separationen von $8,62E+06$ CD34+/kgKG für den Tag eins eine durchschnittliche Stammzellausbeute von $6,7E+06$ CD34+/kgKG, für den Tag zwei von $6,6E+06$ CD34+/kgKG und von Tag drei von $7,0E+06$ CD34+/kgKG⁵³. Pro Zyklus wurden durchschnittlich $1,3E+07$ CD34+ gesammelt, wobei bei einem Sollwert von $2,50E+06$ CD34+/kgKG 89,7% der Patienten das Separationsziel erreichten.

Die Schwellendosis ist die Stammzellmenge, die bei dem Empfänger nach Reinfusion eine Erholung der Neutrophilen und Plättchen nach einer myeloablativen Therapie gewährleisten soll und liegt bei verschiedenen Studien bei $2,0$ bis $2,5E+06$ CD34+/kgKG^{57,54}. Bei der vorliegenden Arbeit wurde das Soll mit $2,5E+06$ CD34+/kgKG definiert. Die Stammzellendosis erlaubt in gewissen Grenzen, Aussagen über den Transplantationserfolg zu machen. So fanden Haas et al. für Patienten, die

Transplantate mit mehr als $2,5E+06$ CD34+/kgKG erhielten, einen vergleichsweise niedrigeren Bedarf an Antiinfektiva, Plättchentransfusionen und Krankenhaustagen⁵⁷.

Bezogen auf alle Separationen im Rahmen dieser Arbeit erreichten 50,76% das Zyklussoll am jeweils einzelnen Separationstag. Am ersten Tag erreichten es 61,84% aller Separationen, am zweiten Tag 44,09% und am dritten Tag 27,45%. Über die Tage vier und fünf war aufgrund der geringen Datenmenge keine verlässliche statistische Aussage zu machen.

Die Stammzellausbeute der Patienten bei nur einer einzigen durchgeführten Separation pro Zyklus betrug durchschnittlich 497,83% vom Soll ($s=465,47$), bei zwei durchgeführten Separationen 363,39% ($s=371,81$) und bei drei durchgeführten Separationen 290,99% ($s=213,04$) vom Soll. Das zeigt, dass, retrospektiv betrachtet, eine höhere Separationsfrequenz nicht zwangsläufig zu einem besseren outcome führt, was ebenfalls durch die Studie von Nowrouzian et al. gezeigt wurde⁵³.

Durchschnittlich wurden pro Zyklus im Rahmen dieser Arbeit 400,5% vom Soll gesammelt ($s=389,07$).

Bei Betrachtung aller Zyklen lässt sich sagen, dass 92,2% aller Zyklen das Soll von $2,5E+06$ CD34+/kgKG erreichten. 7,8% aller Zyklen blieben unterhalb der Schwellendosis (bei einer Zieldosis von $2,0E+06$ CD34+/kgKG erreichten 94,63% aller Zyklen das Separationsziel).

Insgesamt betrachtet hat ein Patient von den 140 Patienten im Rahmen dieser Untersuchung das Soll nicht erreicht (entspricht 0,71%), wobei der Rest es mit einem oder mehreren Zyklen übertraf.

4.2 Einflussgrößen auf den Separationserfolg

Im Rahmen der autologen Stammzellseparation gilt es, den Separationsablauf und Separationserfolg mit möglichen Einflussgrößen zu analysieren und zu optimieren, um für den Patienten die angestrebte Zieldosis an Stammzellen zu erreichen und gleichzeitig kosteneffektiv zu arbeiten. Einflussgrößen werden seit Jahren, teilweise kontrovers, diskutiert und sind sehr variabel, was die Vergleichbarkeit des Separationserfolges zwischen verschiedenen Studien erschweren kann. Als mögliche Einflussgrößen auf den Separationserfolg gelten u. a. die Art der Mobilisierung (z.B.

Chemotherapie plus Wachstumsfaktoren oder nur Wachstumsfaktoren) bzw. das verwendete Chemotherapieprotokoll, die Diagnose, frühere Chemotherapiezyklen oder Bestrahlungen und Knochenmarksbefall^{55,56,57}.

Bei dem vorliegenden Patientenkollektiv konnte kein signifikanter Unterschied der Stammzellausbeute im Zusammenhang mit der Diagnose nachgewiesen werden ($p > 0,2$). Während hohes Alter bei allogenen gesunden Blutstammzellspendern den Separationserfolg signifikant vermindert, wird es bei einer auf Chemotherapie basierenden Mobilisierungstherapie laut Bensinger et al. nicht als Risikofaktor für eine verminderte Stammzellausbeute betrachtet, obwohl manche Autoren von inversen Korrelationen berichten^{55,58,59,60,61}.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte die These von Bensinger bestätigt werden. Die Analyse der nach ansteigendem Lebensalter zusammengesetzten drei Kohorten ergab ebenfalls keinen signifikanten Unterschied bezüglich des Separationsergebnisses zwischen den Gruppen ($p > 0,3$).

Auch fanden Bensinger et al. keinen signifikanten Unterschied in der Stammzellausbeute zwischen den beiden Geschlechtern⁵⁵.

Auch diese These konnte bestätigt werden. Bei der vorliegenden Arbeit zeigte sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied im Separationsergebnis zwischen den beiden Geschlechtern ($p > 0,5$).

4.3 Die Bestimmung des optimalen Separationszeitpunktes

Die Bestimmung des optimalen Separationszeitpunktes vermag die Anzahl und Dauer der Apheresen zu reduzieren, führt zu Kostenersparnis und zu einer Reduktion der Belastungen und Risiken für den Patienten⁶¹.

Es hat sich gezeigt, dass am Tage der Separation eine starke Korrelation zwischen den im peripheren Blut zirkulierenden CD34+ Zellen und deren Gehalt pro Kilogramm Körpergewicht im Separat besteht⁶². Das heißt, die Werte der zirkulierenden CD34+ Zellen am Tage der Separation lassen gewisse Rückschlüsse auf den Separationserfolg zu.

Bei der vorliegenden Arbeit ließen sich für den ersten und zweiten Separationstag starke positive lineare Zusammenhänge zwischen den im peripheren Blut zirkulierenden

CD34+ Zellen und deren Gehalt pro Kilogramm Körpergewicht im Separat zeigen ($r=0,858$ und $r=0,734$; $p<0,0005$).

Der dritte Separationstag erbrachte einen mittleren positiven linearen Zusammenhang ($r=0,576$; $p<0,0005$).

Für den Tag der ersten Separation werden unterschiedliche Empfehlungen für die Konzentration CD34+/ μl im peripheren Blut gegeben, die sich mindestens im Bereich von fünf bis fünfzehn Stammzellen/ μl bewegen sollten^{62,63}. Ein Wert von 50/ μl zeigt an, dass die Schwellendosis von $2,5\text{E}+06$ CD34+/kgKG, die für ein erfolgreiches engraftment ausreicht, wahrscheinlich mit einer einzigen Leukapherese erreicht werden kann⁶².

Bei der vorliegenden Arbeit nahm die Konzentration der CD34+ Zellen im peripheren Blut von durchschnittlich 97/ μl Zellen am Tag eins über 70/ μl am Tag zwei auf 47/ μl am Tag drei ab ($s=116,37$; $s=72,4$; $s=43,5$).

Einen eingeschränkten prädiktiven Wert mit geringerer Korrelation besitzt auch die Zählung zirkulierender Leukozyten und Monozyten⁶⁴. Die Leukozytenzählung zur Optimierung des Separationszeitpunktes lässt keine Rückschlüsse auf die Stammzellausbeute zu, wird aber von manchen Autoren bei Werten zwischen 1000-5000/ μl als Startsignal empfohlen, die CD34+ Zellen zu beobachten⁶⁵.

Bei der vorliegenden Arbeit erwiesen sich die Leukozyten als nicht brauchbares Instrument, die Stammzellausbeute vorherzusagen. Die Korrelation war am ersten Separationstag mit $r=0,174$ ($p<0,05$) gering, gefolgt von Tag zwei mit $r=0,078$ ($p>0,3$) und Tag drei mit $r=-0,001$ ($p>0,5$).

Es findet sich während der Mobilisierung eine starke Korrelation zwischen CD34+ Zellen und CFU-GM, sowohl im peripheren Blut als auch im Separat^{66,67}. Die Zellkultur benötigt jedoch zwei Wochen, um verwertbare Ergebnisse zu liefern und ist schwierig zu standardisieren, eignet sich deshalb nicht dazu, den Zeitpunkt der Apherese während der Mobilisierung zu optimieren⁶⁴. Beide Werte also, CD34+/ μl und CFU-GM im peripheren Blut korrelieren mit der Schnelligkeit der Erholung der Neutrophilen und Plättchen nach der Transplantation⁶⁸.

Die Richtlinien zur Transplantation peripherer Blutstammzellen, erarbeitet vom Wissenschaftlichen Beirat der Bundesärztekammer geben neben Definitionen für Leukozyten und CD34+ Zellen im peripheren Blut noch eine

Thrombozytenkonzentration von mindestens 50.000/ μ l als Voraussetzung zum Apheresebeginn an, was auf eine Reduzierung von Blutungskomplikationen beim Patienten abzielt⁶⁹.

4.4 Die Planbarkeit der Separationen unter klinischen und ökonomischen Gesichtspunkten

Ein wichtiger Aspekt im Rahmen dieser Arbeit war die Frage, ob und wie sich der erste Separationstag planbar machen ließe, um eine Optimierung der autologen Stammzellseparation unter klinischen und ökonomischen Gesichtspunkten zu erreichen. Diese Optimierung spiegelt sich in der Vermeidung von Wochenenden im Separationsablauf wider, was zu einer Kostenersparnis führt.

Die rein personellen Zusatzkosten des Wochenendes belaufen sich bei einer vier bis sechs Stunden dauernden Apherese bei Anwesenheit eines Arztes und einer Schwester (BAT Lohngruppe II/IIa und Va/Vb) von eine Stunde vor bis eine Stunde nach der Sammlung sowie einer morgendlichen und abendlichen CD34+-Zählung durch eine MTA (BAT Va/Vb; jeweils zwei Stunden veranschlagt) auf rund 190 bis 350 Euro für einen Samstag und rund 230 bis 430 Euro für einen Sonntag⁷⁰. Kommt es zu Separationen an beiden Tagen, belaufen sich diese Kosten auf rund 420 bis 790 Euro.

Eine Herangehensweise für eine gesteigerte Planbarkeitseffizienz ist die protokollgebundene Berücksichtigung der fünf aufeinander folgenden Tage mit den meisten Separationen, die schablonenhaft zwischen zwei Wochenenden gelegt werden können, wobei der Tag drei innerhalb dieser Schablone auf einen Mittwoch gelegt werden soll.

Innerhalb des vorliegenden Patientenkollektivs wurde dieses Schema angewandt und auf seine Wirksamkeit bezüglich einer möglichen Optimierung des Zeitpunktes der autologen Stammzellseparation in der Vermeidung von Wochenenden protokollgebunden, retrospektiv überprüft, auch mit dem Ziel, für den Beginn der Mobilisierungstherapie eine Empfehlung geben zu können.

Bei den vorliegenden Separationen handelte es sich nicht um Blindstudien, und die behandelnden Ärzte waren sich des Wochentages stets bewusst, so dass man annehmen muss, dass sie möglicherweise bei der Einschätzung des Separationsablaufs aufgrund

ihrer Erfahrungen, bewusst oder unbewusst, in einigen Fällen diesen beeinflussten. So hätte zum Beispiel eine Separation bei einem Patienten, der an einem Sonntag aufgrund klinischer Parameter für die Separation bereit war, auf den folgenden Montag verschoben werden können. Diese Beeinflussung konnte bei der vorliegenden Arbeit nicht ausgeschlossen werden, auch wurden bei den Separationen nicht die jeweiligen Wochentage dokumentiert. Bezüglich des Separationsbeginnes gab es keine obligat verbindlichen Kriterien.

Tabelle 21: Protokollgebundene Separationsverteilung in %

Protokoll	Separationsverteilung			
	Mo-Fr	Mittwoch	Wochenenden	Tag post chemo
Dexa-BEAM	91,09	19,31	5,94	19
Endoxan	82,35	14,71	14,71	14
m-CHOEP	82,14	14,29	14,29	15
DHAP+E-SHAP	100	28,57	0	16
PEI	100	33,33	0	16
gesamt	67,25	20	16,5	18

Tabelle 21 gibt noch einmal wieder, wie viele Separationen bei den jeweiligen Protokollen auf einen Wochentag der Zielwoche, auf den Mittwoch selbst und auf Wochenenden fallen. Der Tag post chemo beschreibt das Intervall zwischen Beginn der Mobilisierungstherapie und dem Zieltag (Mittwoch). Die Tabelle zeigt, dass es möglich ist, mehr als zwei Drittel aller Separationen an einem Wochentag der Zielwoche durchzuführen.

Bezogen auf das gesamte Patientengut muss man immer noch mit 16,5% Separationen an Wochenenden rechnen.

4.5 Empfehlungen für den Beginn der Mobilisierungstherapie

Die gesammelten Ergebnisse zeigen, dass die Berücksichtigung der fünf aufeinander folgenden Tage, an denen am häufigsten separiert wurde, und die Festlegung eines Zieltages die Anzahl an Wochenendseparationen vermindern könnte. Für den Beginn der Chemotherapie können also in Anlehnung an Tabelle 21 folgende Empfehlungen gegeben werden: DEXA-BEAM soll an einem Samstag begonnen werden, Endoxan an einem Donnerstag, m-CHOEP an einem Mittwoch, DHAP+E-SHAP und PEI an einem Dienstag.

Seggewiss et al. untersuchten in einer der vorliegenden Arbeit inhaltlich verwandten Studie den optimalen Separationszeitpunkt anhand von 113 mit Chemotherapie und Wachstumsfaktoren behandelten Patienten mit hämatologischen und nicht hämatologischen Erkrankungen⁷¹. Sie fanden für den ersten Separationstag eine Range von Tag sechs bis Tag 32 bei einem durchschnittlichen Separationsbeginn am Tag 14. Sie fanden eine uniforme Kinetik aller 13 Protokolle bis zum Separationszeitpunkt, unabhängig von Diagnose, Protokoll und Wachstumsfaktordosis. Es fiel auf, dass 97% aller Anfangsseparationen am elften oder an einem späteren Tag stattfanden. Sie starteten die Apherese, sobald die CD34+ Werte im peripheren Blut 20/ μ l erreichten. So konnten 96% aller Patienten die Zieldosis von 2,0 Mio. CD34+/kgKG erreichen. Sie untersuchten daraufhin die Separationshäufigkeiten der Anfangsseparationen eines Zyklus und kamen bis zum neunten Tag nach Beginn der Chemotherapie auf Werte von 0 und 3% aller Separationen (erster Wert für das Multiple Myelom, zweiter Wert für andere Diagnosen), vom 10. bis 15. Tag auf Werte von 63% und 68%, vom 16. bis 20. Tag auf Werte von 30% und 24% und darüber hinaus auf Werte von 4% und 8%.

Bei der vorliegenden Arbeit war der durchschnittliche Separationsbeginn Tag 16 post chemo bei einer Range von Tag 8 bis Tag 32. Bei einer Zieldosis von 2,0 Mio. CD34+/kgKG konnten 98,1% aller Patienten das Separationsziel erreichen.

Bei einem durchschnittlichen Separationsbeginn am Tag 16 post chemo (also zwei Tage später als bei Seggewiss et al.) und bei Anwendung des o.g. Schemas erhält man für die Verteilung der Anfangsseparationen entsprechende Werte von 0,96% (Tag 1-9), 29,19% (Tag 10-15), 65,07% (Tag 16-20) und 4,78% (Tag >20).

Bei der Arbeit von Seggewiss et al. wird der 14. Tag post chemo als durchschnittlicher Separationszeitpunkt angegeben, dessen Kenntnis einen klinischen und ökonomischen Vorteil bringen soll, doch geht die Arbeit von Seggewiss et al. nicht auf die Separationshäufigkeit und Verteilung aller Separationen ein. Ein weiterer Unterschied zu dieser Arbeit könnte die Überpräsenz des Multiplen Myeloms gegenüber anderen Krankheiten darstellen (über zwei Drittel aller Diagnosen stellten das MM dar), was, zusammen mit der Anwendung unterschiedlicher Mobilisierungsprotokolle, für den früheren Separationsbeginn verantwortlich sein könnte.

Dem Postulat einer uniformen Separationskinetik, unabhängig vom Mobilisierungsprotokoll, steht die Aussage von Dettke et al. entgegen, die vorschlagen, unterschiedliche Protokolle bei der Planung von Stammzellseparationen zu berücksichtigen⁷². Sie fanden bei 89 Patientinnen mit Brustkrebs, die mit zwei verschiedenen Protokollen mobilisiert worden waren, eine unterschiedliche Kinetik, bis die CD34+ Zellen im peripheren Blut 20/ μ l übertrafen, was in unterschiedlichen Separationstagen resultierte. Auch die in der vorliegenden Arbeit gewonnenen Erkenntnisse unterstützen den Vorschlag Dettkes et al. einer protokollbezogenen Analyse der Separationskinetik nach der Chemotherapie bis zum Tage der ersten Separation.

5 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden 140 Patienten retrospektiv auf eine mögliche Optimierung des Separationsablaufs analysiert. Die fünf aufeinander folgenden Tage, an denen am häufigsten separiert wurde, und deren Berücksichtigung in der Separationsplanung in der geschilderten Weise können zu einer Kostenreduktion beitragen. Für den Beginn der Mobilisierungstherapie konnte für die fünf am häufigsten vorkommenden Protokolle innerhalb des Patientenkollektivs eine Empfehlung gegeben werden. Diese Empfehlung sollte durch die Vermeidung von Wochenenden im Separationsablauf zu einer Kostenersparnis führen, was durch eine zukünftige Integration in den Separationsablauf näher geprüft werden sollte.

Bezogen auf alle Separationen wurden durchschnittlich $5,37E+06$ ($s=7,87E+06$) CD34+/kgKG pro Separation gesammelt. Am ersten Tag war die Stammzellmenge pro Kilogramm Körpergewicht mit durchschnittlich $7,11E+06$ ($s=9,81E+06$) am höchsten, gefolgt von Tag zwei mit $3,96E+06$ ($s=4,77E+06$) und Tag drei mit $2,36E+06$ ($s=2,26E+06$). Über die Tage vier und fünf war aufgrund der geringen Datenmenge keine verlässliche statistische Aussage zu machen. Durchschnittlich wurden pro Zyklus $1,03E+07$ CD34+/kgKG gesammelt ($s=1,05E+07$).

Diagnose, Alter und Geschlecht hatten keinen signifikanten Einfluss auf das Separationsergebnis. Es zeigte sich, dass an den ersten beiden Separationstagen eine sehr starke Korrelation zwischen den CD34+ Zellen im peripheren Blut und deren Gehalt im Separat besteht ($r=0,872$ und $r=0,806$; $p<0,0005$). Die Leukozyten erwiesen sich als ein nicht brauchbares Instrument, den Separationsgewinn vorherzusagen.

Hinsichtlich Anzahl gewonnener CD34+ Zellen, Korrelationen zwischen CD34+ Zellen bzw. Leukozyten und dem Separationserfolg und seinen Einflussfaktoren wurden keine bedeutenden Abweichungen zu anderen Studien gefunden.

6 Literaturverzeichnis

- ¹ Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, Entman ML, Michael LH, Hirschi KK, Goodell MA.: Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest.* 2001 Jun;107(11):1395-402.
- ² Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M, Paolucci E, Stornaiuolo A, Cossu G, Mavilio F.: Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science.* 1998 Mar 6;279(5356):1528-30.
- ³ Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, Wang X, Finegold M, Weissman IL, Grompe M.: Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med.* 2000 Nov;6(11):1229-34.
- ⁴ Wang X, Willenbring H, Akkari Y, Torimaru Y, Foster M, Al-Dhalimy M, Lagasse E, Finegold M, Olson S, Grompe M.: Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature.* 2003 Apr 24;422(6934):897-901. Epub 2003 Mar 30.
- ⁵ Vassilopoulos G, Wang PR, Russell DW.: Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature.* 2003 Apr 24;422(6934):901-4. Epub 2003 Mar 30.
- ⁶ Richman CM, Weiner RS, Yankee RA: Increase in circulating stem cells following chemotherapy in man. *Blood.* 1976 Jun;47(6):1031-1039.
- ⁷ Gianni AM, Siena S, Bregni M, Tarella C, Stern AC, Pileri A, Bonadonna G.: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor to harvest circulating haemopoietic stem cells for autotransplantation. *Lancet.* 1989 Sep 9;2(8663):580-585.
- ⁸ Schwartzberg LS, Birch R, Hazelton B, Tauer KW, Lee P Jr, Altemose R, George C, Blanco R, Wittlin F, Cohen J, et al.: Peripheral blood stem cell mobilization by chemotherapy with and without recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *J Hematother.* 1992 Winter;1(4):317-327.
- ⁹ Gianni AM, Bregni M, Siena S, Orazi A, Stern AC, Gandola L, Bonadonna G.: Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor reduces hematologic toxicity and widens clinical applicability of high-dose cyclophosphamide treatment in breast cancer and non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol.* 1990 May;8(5):768-778.
- ¹⁰ Huber HM, Heider M, Seitz R: Hämatopoetische Stammzellen- Zulassung und Qualitätskontrolle. *Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz* 1999, 42: 105–112 © Springer-Verlag 1999
- ¹¹ LORENZ E, UPHOFF D, REID TR, SHELTON E.: Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. *J Natl Cancer Inst.* 1951 Aug;12(1):197-201.
- ¹² MAIN JM, PREHN RT.: Successful skin homografts after the administration of high dosage X radiation and homologous bone marrow. *J Natl Cancer Inst.* 1955 Feb;15(4):1023-9.
- ¹³ FERREBEE JW, LOCHTE HL Jr, JARETZKI A 3rd, SAHLER OD, THOMAS ED.: Successful marrow homograft in the dog after radiation. *Surgery.* 1958 Mar;43(3):516-20.
- ¹⁴ THOMAS ED, LOCHTE HL Jr, LU WC, FERREBEE JW.: Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med.* 1957 Sep 12;257(11):491-6.

- ¹⁵ THOMAS ED, LOCHTE HL Jr, CANNON JH, SAHLER OD, FERREBEE JW.: Supralethal whole body irradiation and isologous marrow transplantation in man. *J Clin Invest.* 1959 Oct;38:1709-16.
- ¹⁶ Rainer Storb, Robert H. Rudolph, and E. Donnall Thomas: Marrow grafts between canine siblings matched by serotyping and mixed leukocyte culture. *J Clin Invest.* 1971 June; 50(6): 1272–1275.
- ¹⁷ Meyers JD, Wade JC, Shepp DH, Newton B.: Acyclovir treatment of varicella-zoster virus infection in the compromised host. *Transplantation.* 1984 Jun;37(6):571-4.
- ¹⁸ Hughes WT, Kuhn S, Chaudhary S, Feldman S, Verzosa M, Aur RJ, Pratt C, George SL.: Successful chemoprophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonitis. *N Engl J Med.* 1977 Dec 29;297(26):1419-26.
- ¹⁹ Santos GW, Owens AH Jr.: Allogeneic marrow transplants in cyclophosphamide treated mice. *Transplant Proc.* 1969 Mar;1(1):44-6.
- ²⁰ Appelbaum FR, Herzig GP, Ziegler JL, Graw RG, Levine AS, Deisseroth AB.: Successful engraftment of cryopreserved autologous bone marrow in patients with malignant lymphoma. *Blood.* 1978 Jul;52(1):85-95.
- ²¹ Kessinger A, Armitage JO, Landmark JD, Weisenburger DD.: Reconstitution of human hematopoietic function with autologous cryopreserved circulating stem cells. *Exp Hematol.* 1986 Mar;14(3):192-6.
- ²² Korbling M, Dorken B, Ho AD, Pezzutto A, Hunstein W, Flidner TM.: Autologous transplantation of blood-derived hemopoietic stem cells after myeloablative therapy in a patient with Burkitt's lymphoma. *Blood.* 1986 Feb;67(2):529-32.
- ²³ Kurtzberg J, Laughlin M, Graham ML, Smith C, Olson JF, Halperin EC, Ciocchi G, Carrier C, Stevens CE, Rubinstein P.: Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients. *N Engl J Med.* 1996 Jul 18;335(3):157-66.
- ²⁴ Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, Esperou H, Thierry D, Socie G, Lehn P, et al.: Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med.* 1989 Oct 26;321(17):1174-8.
- ²⁵ Storb R, Deeg HJ, Whitehead J, Appelbaum F, Beatty P, Bensinger W, Buckner CD, Clift R, Doney K, Farewell V, et al.: Methotrexate and cyclosporine compared with cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft versus host disease after marrow transplantation for leukemia. *N Engl J Med.* 1986 Mar 20;314(12):729-35.
- ²⁶ Horowitz MM: Uses and growth of Hematopoietic Cell Transplantation. In: E.D. Thomas, Karl G. Blume, Stephen J. Forman: *Hematopoietic Cell Transplantation*, 2nd Edition; Blackwell Science, Inc.; Malden, USA 1999: 13
- ²⁷ Tjonnfjord GE, Steen R, Evensen SA, Thorsby E, Egeland T.: Characterization of CD34+ peripheral blood cells from healthy adults mobilized by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Blood.* 1994 Oct 15;84(8):2795-2801.
- ²⁸ Przepiorka D, Anderlini P, Ippoliti C, Khouri I, Fietz T, Thall P, Mehra R, Giralt S, Gajewski J, Deisseroth AB, Cleary K, Champlin R, van Besien K, Andersson B, Korbling M.: Allogeneic blood stem cell transplantation in advanced hematologic cancers. *Bone Marrow Transplant.* 1997 Mar;19(5):455-460.
- ²⁹ Bensinger WI, Clift R, Martin P, Appelbaum FR, Demirer T, Gooley T, Lilleby K, Rowley S, Sanders J, Storb R, Buckner CD.: Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in patients with advanced

hematologic malignancies: a retrospective comparison with marrow transplantation. *Blood*. 1996 Oct 1;88(7):2794-2800.

³⁰ Ottinger HD, Beelen DW, Scheulen B, Schaefer UW, Grosse-Wilde H.: Improved immune reconstitution after allotransplantation of peripheral blood stem cells instead of bone marrow. *Blood*. 1996 Oct 1;88(7):2775-9.

³¹ Bacigalupo A, Van Lint MT, Valbonesi M, Lercari G, Carlier P, Lamparelli T, Gualandi F, Occhini D, Bregante S, Valeriani A, Piaggio G, Pitto A, Benvenuto F, Figari O, De Stefano G, Caimo A, Sessarego M.: Thiotepe cyclophosphamide followed by granulocyte colony-stimulating factor mobilized allogeneic peripheral blood cells in adults with advanced leukemia. *Blood*. 1996 Jul 1;88(1):353-7.

³² Rosenfeld C, Collins R, Pineiro L, Agura E, Nemunaitis J.: Allogeneic blood cell transplantation without posttransplant colony-stimulating factors in patients with hematopoietic neoplasm: a phase II study. *Clin Oncol*. 1996 Apr;14(4):1314-1319.

³³ Marmont AM, Horowitz MM, Gale RP, Sobocinski K, Ash RC, van Bekkum DW, Champlin RE, Dicke KA, Goldman JM, Good RA, et al.: T-cell depletion of HLA-identical transplants in leukemia. *Blood*. 1991 Oct 15;78(8):2120-30.

³⁴ Kolb HJ, Schattenberg A, Goldman JM, Hertenstein B, Jacobsen N, Arcese W, Ljungman P, Ferrant A, Verdonck L, Niederwieser D, et al.: Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. European Group for Blood and Marrow Transplantation Working Party Chronic Leukemia. *Blood*. 1995 Sep 1;86(5):2041-2050.

³⁵ Przepiorka D, Anderlini P, Ippoliti C, Khouri I, Fietz T, Thall P, Mehra R, Giralt S, Gajewski J, Deisseroth AB, Cleary K, Champlin R, van Besien K, Andersson B, Korbling M.: Allogeneic blood stem cell transplantation in advanced hematologic cancers. *Bone Marrow Transplant*. 1997 Mar;19(5):455-460.

³⁶ Bensinger WI, Clift R, Martin P, Appelbaum FR, Demirel T, Gooley T, Lilleby K, Rowley S, Sanders J, Storb R, Buckner CD.: Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in patients with advanced hematologic malignancies: a retrospective comparison with marrow transplantation. *Blood*. 1996 Oct 1;88(7):2794-2800.

³⁷ Cutler C, Giri S, Jeyapalan S, Paniagua D, Viswanathan A, Antin JH.: Acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral-blood stem-cell and bone marrow transplantation: a meta-analysis. *J Clin Oncol*. 2001 Aug 15;19(16):3685-91.

³⁸ Przepiorka D, Anderlini P, Ippoliti C, Khouri I, Fietz T, Thall P, Mehra R, Giralt S, Gajewski J, Deisseroth AB, Cleary K, Champlin R, van Besien K, Andersson B, Korbling M.: Allogeneic blood stem cell transplantation in advanced hematologic cancers. *Bone Marrow Transplant*. 1997 Mar;19(5):455-460.

³⁹ Bensinger WI, Clift R, Martin P, Appelbaum FR, Demirel T, Gooley T, Lilleby K, Rowley S, Sanders J, Storb R, Buckner CD.: Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in patients with advanced hematologic malignancies: a retrospective comparison with marrow transplantation. *Blood*. 1996 Oct 1;88(7):2794-2800.

⁴⁰ J. Kurtzberg, P. Martin, N. Chao, C. Stevens, P. Rubinstein: Unrelated Placental Blood in Marrow Transplantation. *Stem Cells*, Vol. 18, No. 2, 153-154, March 2000

⁴¹ Davies SM, Wagner JE, Weisdorf DJ, Shu XO, Blazar BR, Enright H, McGlave PB, Ramsay NK.: Unrelated donor bone marrow transplantation for hematological malignancies-current status. *Leuk Lymphoma*. 1996 Oct;23(3-4):221-6.

⁴² Howrey RP, Martin PL, Driscoll T, Szabolcs P, Kelly T, Shpall EJ, Bearman SI, Slat-Vasquez V, Rubinstein P, Stevens CE, Kurtzberg J.: Graft-versus-leukemia-induced complete remission following

unrelated umbilical cord blood transplantation for acute leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 2000 Dec;26(11):1251-4.

⁴³ Newburger PE, Quesenberry PJ.: Umbilical cord blood as a new and promising source of unrelated-donor hematopoietic stem cells for transplantation. *Curr Opin Pediatr.* 1996 Feb;8(1):29-32.

⁴⁴ Rocha V, Labopin M, Sanz G, Arcese W, Schwerdtfeger R, Bosi A, Jacobsen N, Ruutu T, de Lima M, Finke J, Frassoni F, Gluckman E; Acute Leukemia Working Party of European Blood and Marrow Transplant Group; Eurocord-Netcord Registry: Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *N Engl J Med.* 2004 Nov 25;351(22):2276-85.

⁴⁵ Hamza NS, Lisgaris M, Yadavalli G, Nadeau L, Fox R, Fu P, Lazarus HM, Koc ON, Salata RA, Laughlin MJ.: Kinetics of myeloid and lymphocyte recovery and infectious complications after unrelated umbilical cord blood versus HLA-matched unrelated donor allogeneic transplantation in adults. *Br J Haematol.* 2004 Feb;124(4):488-98.

⁴⁶ Cohen Y, Nagler A.: Umbilical cord blood transplantation--how, when and for whom? *Blood Rev.* 2004 Sep;18(3):167-79.

⁴⁷ Jondeau K, Job-Deslandre C, Bouscary D, Khanlou N, Menkes CJ, Dreyfus F.: Remission of nonerosive polyarthritis associated with Sjogren's syndrome after autologous hematopoietic stem cell transplantation for lymphoma. *J Rheumatol.* 1997 Dec;24(12):2466-8.

⁴⁸ Roubenoff R, Jones RJ, Karp JE, Stevens MB.: Remission of rheumatoid arthritis with the successful treatment of acute myelogenous leukemia with cytosine arabinoside, daunorubicin, and m-AMSA. *Arthritis Rheum.* 1987 Oct;30(10):1187-90.

⁴⁹ A. Tyndall, A. Fassas, J. Passweg et al. for the Autoimmune Disease and Lymphoma Working Parties of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT), the European League Against Rheumatism (EULAR) and on behalf of the International Stem Cell Project for Autoimmune Disease: utologous haematopoietic stem cell transplants for autoimmune disease - feasibility and transplant - related mortality. *Bone Marrow Transpl* 24: 729-734, 1999

⁵⁰ M. Bierings: Paediatric Rheumatology: Autologous Stem Cell Transplantation in Rheumatic Diseases of Childhood: The role of T-cell depletion of autografts for autoimmune diseases. *Rheumatology* 1999; 38: 755-756

⁵¹ Lim SH, Kell J, al-Sabah A, Bashi W, Bailey-Wood R.: Peripheral blood stem-cell transplantation for refractory autoimmune thrombocytopenic purpura. *Lancet.* 1997 Feb 15;349(9050):475.

⁵² HH Euler, AM Marmont, A Bacigalupo, S Fastenrath, P Dreger, M Hoffknecht, AR Zander, B Schalke, U Hahn, R Haas and N Schmitz: Early recurrence or persistence of autoimmune diseases after unmanipulated autologous stem cell transplantation. *Blood.* 1997 Jun 15;89(12):4659.

⁵³ Nowrousian MR, Waschke S, Bojko P, Welt A, Schuett P, Ebeling P, Flashove M, Moritz T, Schuette J, Seeber S.: Impact of chemotherapy regimen and hematopoietic growth factor on mobilization and collection of peripheral blood stem cells in cancer patients. *Ann Oncol.* 2003;14 Suppl 1:i29-36.

⁵⁴ Bender JG, To LB, Williams S, Schwartzberg LS: Defining a therapeutic dose of peripheral blood stem cells. *J Hematother.* 1992 Winter;1(4):329-41.

⁵⁵ Bensinger W, Appelbaum F, Rowley S, Storb R, Sanders J, Lilleby K, Gooley T, Demirer T, Schiffman K, Weaver C, et al.: Factors that influence collection and engraftment of autologous peripheral-blood stem cells.: *J Clin Oncol.* 1995 Oct;13(10):2547-55.

- ⁵⁶ Lee JL, Kim S, Kim SW, Kim EK, Kim SB, Kang YK, Lee J, Kim MW, Park CJ, Chi HS, Huh J, Kim SH, Suh C.: ESHAP plus G-CSF as an effective peripheral blood progenitor cell mobilization regimen in pretreated non-Hodgkin's lymphoma: comparison with high-dose cyclophosphamide plus G-CSF. *Bone Marrow Transplant.* 2005 Mar;35(5):449-54.
- ⁵⁷ Haas R, Mohle R, Fruhauf S, Goldschmidt H, Witt B, Flentje M, Wannenmacher M, Hunstein W.: Patient characteristics associated with successful mobilizing and autografting of peripheral blood progenitor cells in malignant lymphoma. *Blood.* 1994 Jun 15;83(12):3787-94.
- ⁵⁸ Anderlini P, Przepiorka D, Seong C, Smith TL, Huh YO, Lauppe J, Champlin R, Korbling M.: Factors affecting mobilization of CD34+ cells in normal donors treated with filgrastim. *Transfusion.* 1997 May;37(5):507-12.
- ⁵⁹ Chatta GS, Price TH, Allen RC, Dale DC.: Effects of in vivo recombinant methionyl human granulocyte colony-stimulating factor on the neutrophil response and peripheral blood colony-forming cells in healthy young and elderly adult volunteers. *Blood.* 1994 Nov 1;84(9):2923-9.
- ⁶⁰ Kotasek D, Shepherd KM, Sage RE, Dale BM, Norman JE, Charles P, Gregg A, Pillow A, Bolton A.: Factors affecting blood stem cell collections following high-dose cyclophosphamide mobilization in lymphoma, myeloma and solid tumors. *Bone Marrow Transplant.* 1992 Jan;9(1):11-7.
- ⁶¹ Olivieri A, Offidani M, Ciniero L, Poloni A, Tedeschi A, Refe MC, Strusi AS, Leoni P.: PBSC collection after high dose chemotherapy followed by G-CSF in patients with malignancies: analysis of results regarding factors affecting the yield of hemopoietic progenitors. *Int J Artif Organs.* 1993 Dec;16 Suppl 5:57-63.
- ⁶² Kudo Y, Minegishi M, Saito N, Itoh T, Fushimi J, Takahashi H, Suzuki A, Narita A, Sato Y, Miura J, Yoshihara K, Meguro K, Imaizumi M, Sato M, Murakawa Y, Tsuchiya S.: The absolute number of peripheral blood CD34+ cells predicts a timing for apheresis and progenitor cell yield in patients with hematologic malignancies and solid tumors. *Tohoku J Exp Med.* 2003 Feb;199(2):111-8.
- ⁶³ Perez-Simon JA, Caballero MD, Corral M, Nieto MJ, Orfao A, Vazquez L, Amigo ML, Berges C, Gonzalez M, Del Canizo C, San Miguel JF.: Minimal number of circulating CD34+ cells to ensure successful leukapheresis and engraftment in autologous peripheral blood progenitor cell transplantation. *Transfusion.* 1998 Apr;38(4):385-91.
- ⁶⁴ Lee JL, Kim SB, Lee GW, Ryu MH, Kim EK, Kim S, Kim WK, Lee JS, Park KU, Suh C.: Clinical usefulness of the hematopoietic progenitor cell counts in predicting the optimal timing of peripheral blood stem cell harvest. *J Korean Med Sci.* 2003 Feb;18(1):27-35.
- ⁶⁵ Yu J, Leisenring W, Bensinger WI, Holmberg LA, Rowley SD.: The predictive value of white cell or CD34+ cell count in the peripheral blood for timing apheresis and maximizing yield. *Transfusion.* 1999 May;39(5):442-50.
- ⁶⁶ Dreger P, Marquardt P, Haferlach T, Jacobs S, Mulverstedt T, Eckstein V, Suttorp M, Loffler H, Muller-Ruchholtz W, Schmitz N.: Effective mobilisation of peripheral blood progenitor cells with 'Dexa-BEAM' and G-CSF: timing of harvesting and composition of the leukapheresis product. *Br J Cancer.* 1993 Nov;68(5):950-7.
- ⁶⁷ Schots R, Van Riet I, Damiaens S, Flament J, Lacor P, Staelens Y, Steenssens L, van Camp B, De Waele M.: The absolute number of circulating CD34+ cells predicts the number of hematopoietic stem cells that can be collected by apheresis. *Bone Marrow Transplant.* 1996 Apr;17(4):509-15.
- ⁶⁸ Lee J, Lee MH, Park KW, Kang JH, Im do H, Kim K, Lee SH, Kim WS, Park J, Jung CW, Parka K.: Influential factors for the collection of peripheral blood stem cells and engraftment in acute myeloid leukemia patients in first complete remission. *Int J Hematol.* 2005 Apr;81(3):258-63.

⁶⁹ Richtlinien zur Transplantation peripherer Blutstammzellen. Aufgestellt vom Wissenschaftlichen Beirat der Bundesärztekammer unter Mitwirkung des Paul-Ehrlich-Institutes. Stand: 01.06.1997

⁷⁰ Quelle: Tabelle der Zeitzuschläge nach §35 Abs. 1 Satz 2 BAT und der Überstundenvergütung nach §35 Abs. 3 Unterabs. 2 BAT; gültig ab 1. Mai 2004

⁷¹ Seggewiss R, Buss EC, Herrmann D, Goldschmidt H, Ho AD, Fruehauf S.: Kinetics of peripheral blood stem cell mobilization following G-CSF-supported chemotherapy. *Stem Cells*. 2003;21(5):568-74.

⁷² Dettke M, Greinix HT, Kalhs P, Kuhrer I, Worel N, Hocker P. Kinetics of PBPC mobilization by cyclophosphamide, as compared with that by epirubicin/paclitaxel followed by G-CSF support: implications for optimal timing of PBPC harvest. *Transfusion*. 2001 May;41(5):681-6.

Danksagung

Meinem Doktorvater, Herrn Priv.-Doz. Dr. med. F. Weissinger, danke ich herzlich für die Überlassung des Dissertationsthemas und insbesondere für die immer freundliche und allzeit geduldige Unterstützung und Beratung.

Herrn Prof. Dr. med. M. Böck danke ich ebenso für die Übernahme des Koreferates.

Mein ausdrücklicher Dank gilt ebenfalls Herrn Dr. med. J. Rath für die umfassende, freundschaftliche Betreuung und die vielseitigen konstruktiven Anregungen während des Schaffungsprozesses.

Darüber hinaus danke ich ebenfalls herzlich Frau Heidrun Bönig für die wertvolle Beratung in computertechnischen und verwaltungstechnischen sowie PD Dr. Frank Marohn vom Institut für Mathematik und Statistik für die Unterstützung bei statistischen Fragen.

Lebenslauf

Darius Dominik Sepehrmanesh

*10.07.1979 in Düsseldorf
Nationalität: deutsch
Konfession: katholisch
E-Mail: DariusS@web.de

Schulbildung

1987-1991
1991-1999

Grundschule
Görres-Gymnasium-Düsseldorf
Leistungsfächer: Englisch, Französisch

Wehrdienst/Ersatzdienst:

1999-2000

Zivildienst auf der Station für Innere Medizin des
Evangelischen Krankenhauses Düsseldorf

Hochschulbildung

5/2000

Aufnahme des Medizinstudiums an der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität
Würzburg

3/2002

Ärztliche Vorprüfung

3/2003

Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

4/2005

Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

11/2006

Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Praktisches Jahr

Ab 10/2005

1. Tertial: Innere Medizin an der Medizinischen
Universitätsklinik Würzburg

2. Tertial: Neurologie an der Universitätsklinik für
Neurologie in Würzburg

3. Tertial: Chirurgie im ZOM der
Universitätsklinik Würzburg

Beruf:
2/2007

Assistenzarzt in der Abteilung für Innere Medizin
am Florence-Nightingale-Krankenhaus Düsseldorf

Praktische Tätigkeiten

8/2002

Famulatur auf der Station für Innere Medizin im
Gerresheimer Krankenhaus Düsseldorf

9/2003

Famulatur in internistischer Praxis in Düsseldorf

4/2004

Praktikum in einer allgemeinmed. Praxis in
Würzburg

8-10/2004

Praktikum in der hämatologischen Abteilung des
Texas Medical Center Houston/Texas, USA

Düsseldorf, den 11.10.2007