

**Klinische Effektivität  
der Transfusion von Granulozytenkonzentraten  
bei Kindern in Neutropenie**

**Dissertation**

zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Frank Heinemann

geboren am 29.03.1982 in Halle / Saale

## Gutachter

1. Prof. Dr. med. Dagmar Barz, Jena
2. Prof. Dr. med. Hermann Einsele, Würzburg
3. PD Dr. med. Herbert Sayer, Jena

Tag der öffentlichen Verteidigung: 07.10.2008, Jena

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>6</b>
<b>3</b>	<b>Einleitung</b>	<b>8</b>
3.1	Hämatopoese	8
3.2	Granulozytenfunktion in physiologischer Umgebung	9
3.2.1	Histologische Einteilung und Vorkommen	9
3.2.2	Morphologie des neutrophilen Granulozyten	9
3.2.3	Granulozytenmigration	10
3.2.4	Phagozytose	12
3.2.5	Respiratory burst	13
3.3	Ursachen und Folgen von Neutropenien	14
3.4	Dysplastische Veränderungen des Knochenmarks	15
3.5	Hämatopoetische Stammzelltransplantation	16
3.5.1	Charakterisierung der hämatopoetischen Stammzelle	16
3.5.2	Gewinnung der hämatopoetischen Stammzellen	17
3.5.3	Konditionierung und Anwachsen des Stammzelltransplantates	18
3.5.4	Komplikationen der Stammzelltransplantation	19
3.6	Grundlagen der Hämapherese	20
3.6.1	Granulozytapherese	20
3.7	Granulozyten-Colonie stimulierender Faktor (G-CSF)	23
3.7.1	Morphologie, Funktion und Wirkungsweise von G-CSF unter physiologischen Bedingungen	23
3.7.2	Spezielle Wirkung auf die Bildung und Funktion neutrophiler Granulozyten	24
3.7.3	Nebenwirkungen beim klinischen Einsatz von G-CSF	25
3.8	Granulozytentransfusion	26
3.8.1	Therapeutische Anwendung von Granulozytentransfusionen bei Erwachsenen	26
3.8.2	Therapeutische Anwendung von Granulozytentransfusionen bei Neugeborenen und Kindern	27

3.8.3	Prophylaktische Anwendung von Granulozytentransfusionen.....	28
3.8.4	Risiken der Granulozytentransfusion.....	28
<b>4</b>	<b>Ziele der Arbeit.....</b>	<b>30</b>
<b>5</b>	<b>Material und Methodik.....</b>	<b>31</b>
5.1	Spender.....	31
5.2	Granulozytenpräparate.....	32
5.3	Empfänger.....	33
5.4	Statistische Auswertung.....	34
<b>6</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>35</b>
6.1	G-CSF assoziierte Veränderungen des Blutbildes der Spender.....	35
6.1.1	Gruppeneinteilung der Spender.....	35
6.1.2	Blutparameter der Spender.....	35
6.1.3	Abhängigkeit verschiedener Blutparameter zur G-CSF-Dosis.....	36
6.2	Charakterisierung der gewonnenen Granulozytenpräparate.....	36
6.2.1	Gruppeneinteilung der Granulozytenpräparate.....	36
6.2.2	Parameter der Granulozytenpräparate.....	37
6.2.3	Leukozytengehalt im Granulozytenpräparat.....	37
6.2.4	Granulozytengehalt im Granulozytenpräparat.....	38
6.2.5	Leukozytengehalt im Präparat in Abhängigkeit vom prozessierten Volumen.....	39
6.2.6	Leukozytengehalt im Präparat in Abhängigkeit von der Apheresedauer.....	39
6.2.7	Leukozytengehalt im Präparat in Abhängigkeit vom HES-Verbrauch.....	40
6.2.8	Leukozytengehalt im Präparat in Abhängigkeit vom Leukozyten-Ausgangswert des Spenders nach G-CSF-Gabe und vor Apherese.....	41
6.2.9	Leukozytengehalt im Präparat in Abhängigkeit vom Mobilisierungseffekt des Spenders nach G-CSF-Gabe.....	41
6.2.10	Granulozytenanteil im Präparat in Abhängigkeit vom Spender und Apherese .....	42
6.3	Empfängereffekte.....	42

6.3.1	Gruppeneinteilung der Empfänger.....	42
6.3.2	Transfundierte Leukozyten und neutrophile Granulozyten pro m <sup>2</sup> KOF.....	43
6.3.3	Verteilung der körperoberflächenbezogenen Leukozyten- transfusion innerhalb der einzelnen Gruppen.....	44
6.3.4	Verteilung der körperoberflächenbezogenen neutrophilen Granulozytentransfusion innerhalb der einzelnen Gruppen.....	45
6.3.5	Veränderung der Blutparameter und Sauerstoffsubstitution nach Granulozytentransfusion allgemein.....	46
6.3.6	Gruppenspezifische Empfängereffekte in Abhängigkeit von der Transplantationsart und dem Transplantationsmaterial.....	47
6.3.7	Gruppenspezifische Empfängereffekte in Abhängigkeit von der Diagnose des Empfängers.....	51
6.3.8	Gruppenspezifische Empfängereffekte in Abhängigkeit vom Überleben der Empfänger.....	52
6.3.9	Abhängigkeit der Empfängereffekte von der körperoberflächen- bezogenen Dosis transfundierter Leukozyten bzw. neutrophile Granulozyten.....	54
<b>7</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>55</b>
7.1	Spender.....	55
7.2	Konzentrate.....	58
7.3	Empfänger.....	62
<b>8</b>	<b>Schlussfolgerung.....</b>	<b>69</b>
<b>9</b>	<b>Literatur- und Quellenverzeichnis.....</b>	<b>71</b>
<b>10</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>83</b>
10.1	Abbildungsverzeichnis.....	83
10.2	Tabellenverzeichnis.....	85
10.3	Danksagung.....	87
10.4	Lebenslauf.....	88
10.5	Ehrenwörtliche Erklärung.....	89

# 1 Abkürzungsverzeichnis

ADCC	antibody-dependent cellular cytotoxicity
ALL	akute lymphatische Leukämie
AML	akute myeloische Leukämie
ARDS	adult respiratory distress syndrome (akute respiratorische Insuffizienz)
ATP	Adenosintriphosphat
BFU-E	burst forming unit erythroid
CD	cluster of differentiation/cluster of determinants
CFU-Baso	colony forming unit basophile
CFU-E	colony forming unit erythroid
CFU-Eo	colony forming unit eosinophile
CFU-G	colony forming unit granulocyt
CFU-M	colony forming unit monocyct
CFU-Mast	colony forming unit Mastzelle
CFU-Meg	colony forming unit megacaryocyt
CMV	Cytomegalie Virus
CR	Complement receptor
CrP	C-reaktives Protein
EBV	Epstein-Barr-Virus
FcγRIII	Fc-Region-Rezeptor für Immunglobuline
G-CSF	granulocyte-colony stimulating factor
GK	Granulozytenkonzentrat
GM-CSF	granulocyte/macrophage-colony stimulating factor
GS	Granulozytenspende
GTX	Granulozytentransfusion
GvHD	Granft-versus-Host-Disease
HES	Hydroxyethylstärke
HIV	human immunodeficiency virus
HLA	human leukocyte antigen
HSZ	hämatopoetische Stammzelle
ICAM	Intercellular adhesion molecule
IFN	Interferon
IGF	Insulin-like growth factor

IL	Interleukin
JAM	junctional adhesion molecule
/kg KG	pro Kilogramm Körpergewicht
KMTX	Knochenmarkstransplantation
KOF	Körperoberfläche
LAM-1	leukozytäres Adhäsionsmolekül 1
LFA	leucocyte function associated antigen
Mac-1	membrane-activated complex 1
NAD	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
NADP	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
nG	neutrophile Granulozyten
NK	Natürliche Killerzelle
PAF	Plättchen aktivierender Faktor
PLT	Blutplättchen (Thrombozyten)
RBC	Red Blood Cells (Erythrozyten)
SLE	systemischer Lupus erythematodes
SZTX	Stammzelltransplantation
TNF	Tumornekrosefaktor
TX	Transplantation
VCAM	Vascular Cell Adhesion Molecule
WBC	White Blood Cells (Leukozyten)

## 2 Zusammenfassung

Die Granulozytentransfusion (GTX) ist ein seit den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts klinisch angewendetes therapeutisches Verfahren bei der Behandlung von mit Antibiotika bzw. Antimykotika unbeherrschbaren Infektionen. Nachdem die GTX auf Grund unzureichender Sammlungsqualität mit geringen Anzahlen von neutrophilen Granulozyten (nG) zwischenzeitlich wenig Beachtung fand, hat sie mit dem Einsatz von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren und der verbesserten Sammelausbeute durch technische Fortschritte in der Apherese eine Art Renaissance erlebt und findet wieder vermehrt Anwendung. Durch Zellmobilisierung in den Spendern mittels Vorbehandlung mit granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) alleine oder in Kombination mit Glykosteroiden und enorm verbesserten Sammeleffektivitäten können heute ausreichende Mengen an nG separiert werden. Das Haupteinsatzgebiet der GTX liegt in der Behandlung von unbeherrschbaren Infektionen während durch iatrogene Immunsuppression im Therapieverlauf von onko-hämatologischen Erkrankungen hervorgerufener Neutropenien. Da diese Erkrankungen in vielen Fällen bei Kindern und Jugendlichen auftreten, ist der Einsatz von GTX in dieser Altersgruppe nicht selten. Es liegen derzeit jedoch nur wenige kontrollierten Studien zur GTX bei Kindern und Jugendlichen vor, wobei diejenigen mit positiver Bewertung überwiegen.

Ziel dieser Arbeit war es, die Effektivität von GTX bei Kindern zur Beeinflussung von Infekten in neutropenen Situationen anhand von Blutbildveränderungen und Entzündungsparametern nachzuweisen. Dafür wurden 134 Granulozytenkonzentrate (GK) von 58 ausschließlich männlichen Spendern nach Stimulation mit 263 µg G-CSF per Durchflusszellseparation gewonnen. Unmittelbar nach Gewinnung wurden diese 26 Patienten im Kindes- und Jugendalter mit zumeist onko-hämatologischen Erkrankungen während eines unter gezielter antibiotischer bzw. antimykotischer Therapie andauernden neutropenischen Zustandes transfundiert.

Die gewonnenen GK's enthielten durchschnittlich  $4,2 - 4,6 \times 10^{10}$  Leukozyten (WBC) bzw.  $3,5 - 3,8 \times 10^{10}$  neutrophile Granulozyten (nG). Damit konnte eine mittlere Dosis von  $2,7 - 3,7 \times 10^{10}$  nG/m<sup>2</sup> KOF des Empfängers bzw.  $0,9 - 1,2 \times 10^9$  nG/kg KG des Empfängers erzielt werden. Nach erfolgter GTX stiegen die WBC im peripheren Blut der Empfänger durchschnittlich um  $0,87 \times 10^9/l$  an, das CrP sank



durchschnittlich um 16,2 mg/l und die Sauerstoffsubstitution blieb mit einem Absinken von 0,06 l annähernd unbeeinflusst.

Die während des multimodalen Therapieregimes erfolgte Transplantationsart und das verwendete Transplantationsmaterial, sowie ob es sich um eine neoplastische Erkrankung des hämatopoetischen Systems oder eine Erkrankung eines anderen Organsystems handelte, besaß keinen signifikanten Einfluss auf die Effektivität der GTX. Es konnte auf Grund eines zu kleinen Patientenkollektives nicht mit statistischer Signifikanz belegt oder widerlegt werden, ob dem Verlauf des CrP-Gehaltes im peripheren Blut nach GTX die Bedeutung eines prognostischen Faktors für das Ansprechen einer GTX-Therapie und des Outcomes zu zuschreiben ist. Der durchschnittliche CrP-Abfall nach GTX ist bei überlebenden Patienten mit 23,6 mg/l aber deutlich größer als mit 9,7 mg/l bei später verstorbenen Patienten.

Die gewonnenen Ergebnisse zeigen, dass Kinder und Jugendliche mit einem Anstieg der WBC und einem Abfall des CrP im peripheren Blut von der therapeutischen GTX bei mit Antibiotika bzw. Antimykotika unbeherrschbaren Infektionen profitieren. Mit der Verbesserung der Blutparameter wird damit die Ausgangslage zur Infektionsbekämpfung verbessert und die Grundlage für eine Verbesserung des klinischen Outcomes hergestellt.

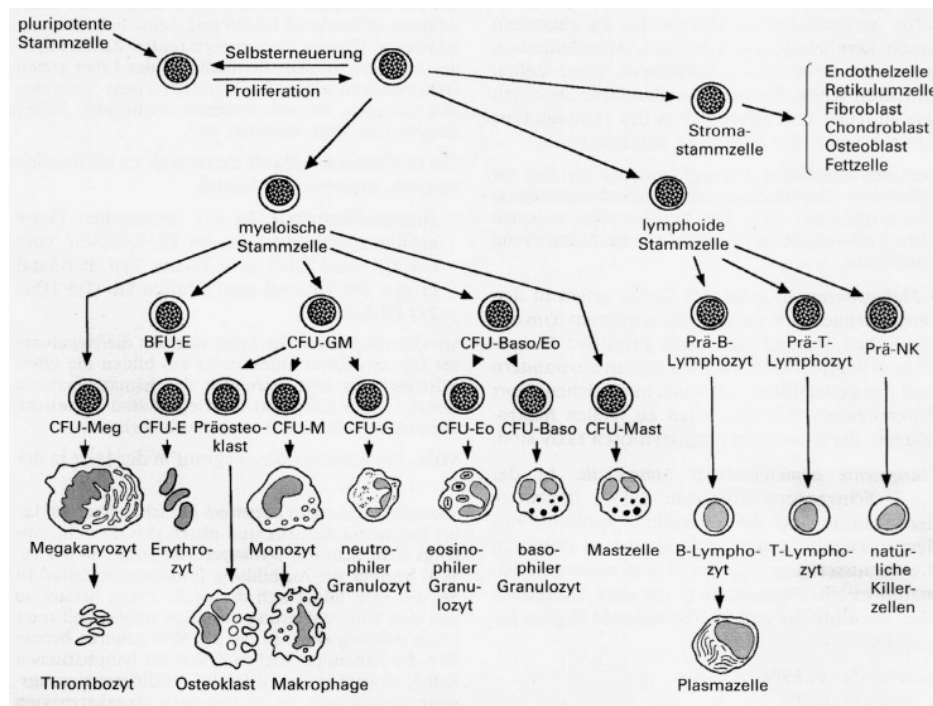
Für die erfolgreiche Zukunft des klinischen Einsatzes der GTX sind noch eine Vielzahl von weiterführenden Untersuchungen notwendig. So besteht zur Verbesserung der Qualität der GK's noch großes Potential in der Ermittlung der optimalen Spenderstimulation sowie der Eruiierung des Sammlungsprozederes mit der besten Effektivität und den besten Zelleigenschaften der GK's. Weiterhin erforderlich ist eine allgemeine Leitlinie zum GTX-Regime bezüglich der empfohlenen Dosierung von nG's und der Dauer der Anwendung. Die Dosierungsempfehlung sollte dabei nicht in absoluten Zellzahlen, sondern in Zellen je kg KG des Spenders bzw. je m<sup>2</sup> KOF des Spender erfolgen, um die GTX somit der physischen Konstitution des Empfängers gerechter werden zu lassen. Da das CrP im klinischen Alltag bereits als unspezifischer Marker für bakterielle Infektionen anerkannt ist, sollte ermittelt werden, ob es neben einer Verlaufbeschreibung der Infektion auch eine prognostische Aussage liefern kann.

# 3 Einleitung

## 3.1 Hämatopoese

Die im peripheren Blut zirkulierenden reifen Zellen sind funktionelle Endzellen. Das heißt, sie besitzen nicht die Fähigkeit zur Teilung und gehen dem Körper nach ihrer begrenzten Lebensdauer verloren. Diese Verluste müssen ersetzt werden, und dabei das bestehende Verhältnis der Menge der verschiedenen Blutzellen zueinander erhalten bleiben. Ferner muss der Körper dynamisch auf Akutsituationen, die den Verbrauch oder den Bedarf an Blutzellen steigern, mit einer adäquaten Neubildungsrate reagieren können und so den Mehrbedarf decken.

Die Produktion der Blutzellen findet beim Erwachsenen im Knochenmark statt. Ausgehend von einer pluripotenten hämatopoetischen Stammzelle beginnt die Hämatopoese unter dem Einfluss verschiedener hämatopoetischer Wachstumsfaktoren mit der Stammzellendifferenzierung in myeloische (aus welchen die neutrophilen Granulozyten hervorgehen), lymphoide und nichthämatopoetische Stammzellen. (48, 97)



**Abb. 1:** Schematische Darstellung der hämatopoetischen Differenzierung  
*Abkürzungen:* BFU-E = erythroid burst forming unit, CFU-GM = granulocyte-monocyte colony-forming unit, CFU-Baso/Eo = basophile and eosinophile colony-forming unit

## **3.2 Granulozytenfunktion in physiologischer Umgebung**

### **3.2.1 Histologische Einteilung und Vorkommen**

Die histologische Einteilung der Granulozyten erfolgt durch Färbung nach Pappenheim in basophile Granulozyten, eosinophile Granulozyten und neutrophile Granulozyten. Neutrophile Granulozyten bilden mit 50 – 70% den größten Anteil an Leukozyten. Eosinophile Granulozyten sind mit 2 – 5% und basophile Granulozyten mit 0 – 1% in deutlich geringerer Anzahl im menschlichen Blut vorhanden. (97)

Ihre Lebensdauer ist mit maximal 4 Tagen sehr gering. Trotz ihrer niedrigen Halbwertszeit im Blut von 6 - 7 Stunden zirkulieren ca. 20 Milliarden neutrophile Granulozyten im Blut und bilden den so genannten zirkulierenden Pool. Weitere 20 Milliarden haften an Gefäßwänden, vor allem in Milz und Lunge, und werden als marginaler Pool bezeichnet. Der aus nochmals 40 Milliarden reifer neutrophiler Granulozyten bestehende Knochenmarkspool stellt eine Reserve an rasch mobilisierbaren Zellen bei einem gesteigerten Bedarf dar. (48)

### **3.2.2 Morphologie des neutrophilen Granulozyten**

Leukozyten sind kernhaltige Blutzellen, die im ungefärbten mikroskopischen Präparat neben den kräftig roten Erythrozyten als weiße Zellen imponieren und mit einer Anzahl von 4000 bis 11000 pro  $\text{mm}^3$  ( $\mu\text{l}$ ) im menschlichen Blut eines Erwachsenen vorkommen. Neutrophile Granulozyten bilden mit rund 2/3 die größte Fraktion der Leukozyten des Menschen, wobei ihr Anteil altersabhängig schwankt.

Neutrophile Granulozyten haben einen Durchmesser von ca. 12  $\mu\text{m}$ . Charakteristisch ist der mit einer Kernmembran begrenzte, im Zytoplasma liegende Zellkern, welcher aus 2 – 5 untereinander mit feinen Chromatinfäden verbundenen Segmenten besteht. Junge Neutrophile besitzen einen stabförmigen Zellkern, der sich erst im Zuge der Reifung segmentiert. Zellen mit Kernen die aus mehr als 5 Segmenten bestehen werden als hypersegmentiert bezeichnet und gelten als alt.



**Abb. 2:** Elektronenmikroskopische Aufnahme eines neutrophilen Granulozyten

*Abkürzungen:* 1 = Erythrozyt, 2 = Endothelzelle, Pfeil = Nucleus

Für das Zytoplasma kennzeichnend ist das Vorkommen von 50 – 200 Granula pro Zelle. Sie sind von einer Membran umgeben und werden in azurophile und spezifische Granula unterteilt. Beide Arten von Granula enthalten Enzyme, die zur Parasitenverdauung nach erfolgter Phagozytose von Bedeutung sind. Bestandteile der Granula sind Myeloperoxidasen zur Bildung von Hypochlorid,  $\alpha$ -Defensine, Lysozyme, Serinproteasen, saure Hydrolasen, Kollagenasen, Gelatinasen, Histaminasen, Plasminogenaktivator, Katalasen, alkalische Phosphatase und NADH-Oxidase zur Wasserstoffperoxidproduktion.

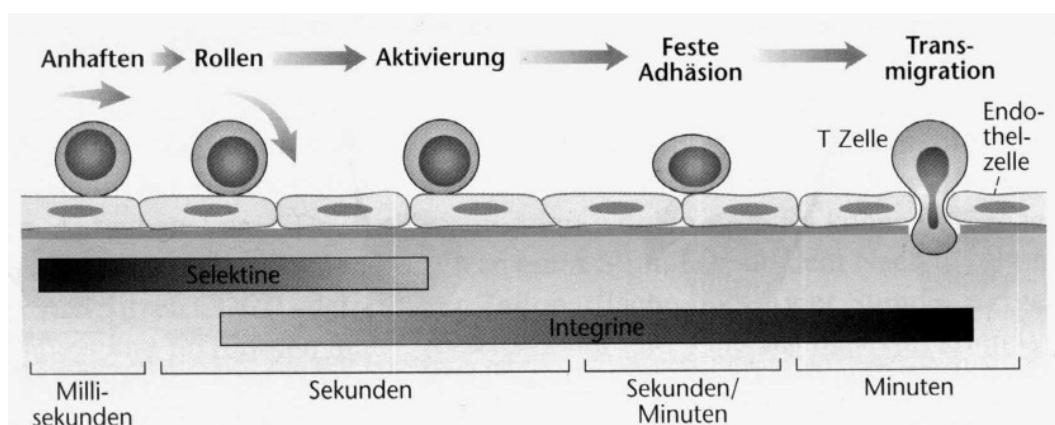
Ferner sind im Zytoplasma ein feines raues endoplasmatisches Retikulum, wenige freie Ribosomen, ein rudimentärer Golgi-Apparat, einige Mitochondrien, viele Glykogengranula sowie Sekretvesikel, die präformierte Membranproteine beinhalten, zu finden. (48, 61, 97)

### 3.2.3 Granulozytenmigration

Die Hauptaufgabe der neutrophilen Granulozyten besteht in der Phagozytose und Abtötung mikrobieller Erreger und dem Abbau abgestorbenen körpereigenen Gewebes. Als primäre Effektorzellen spielen sie somit eine Schlüsselrolle bei der akuten Entzündung.

Unter dem Einfluss von unterschiedlichen Zytokinen wie granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF), granulocyte/macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF), Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), IGF-2, Interleukin 3 (IL-3) und IL-6 werden im Knochenmark eines Erwachsenen täglich etwa  $9 \times 10^8$  neue Granulozyten gebildet. Bei akuten Infektionen kann diese Neubildung, hauptsächlich durch G-CSF, um das Zehnfache gesteigert werden. Nachdem die reifen neutrophilen Granulozyten noch bis zu 5 Tage im Knochenmark verbleiben, gelangen sie anschließend über die Blutzirkulation an ihren Wirkungsort oder werden infolge Alterung apoptotisch beseitigt. Durchschnittlich 10 Stunden zirkulieren reife neutrophile Granulozyten im peripheren Blut.

Um an den in aller Regel extravasal gelegenen Ort der Entzündung zu gelangen, müssen neutrophile Granulozyten durch das Endothel hindurchwandern, was in charakteristischen Phasen geschieht. (vgl. Abb. 3)



**Abb. 3:** Phasen der Migration der neutrophilen Granulozyten

Die erste Phase wird als Rollen bezeichnet und beschreibt eine lockere Adhäsion und durch die Scherkräfte des Blutflusses bewirkte De-Adhäsion des Granulozyten auf der Endotheloberfläche. Sie ist sehr schwach, bewirkt aber eine Abbremsung der Granulozyten. Für die Adhäsion sind sogenannte Selektine auf der Granulozytenoberfläche verantwortlich, die sich an endotheliale Adressine binden. Vor allem sind dies das granulozytäre L-Selektin (CD62L), welches sich an periphere Lymphknotenadressine (PNA<sub>d</sub>) wie zum Beispiel CD34 und das mucosale Adressin cell adhesion molecule-1 (MAdCAM-1) bindet und Sialyl Lewis X (CD15S), welches an das auf dem Endothel exprimierte E-Selektin (CD62E) und P-Selektin (CD62P) binden kann.

In der zweiten Phase, der Aktivierung, wird eine weitere Familie von Adhäsionsmolekülen, die Integrine, von der inaktiven in die aktive Form überführt. Zur Aktivierung tragen eine Vielzahl von Stoffe wie Zytokine (TNF, IL-1, IL-4) Lipide (PAF, Leukotriene), Peptide (C5a, N-formyl-Peptide) und diverse Chemokine bei. Die danach exprimierten Integrine interagieren mit spezifischen Liganden auf der Endotheloberfläche und bewirken so die in Phase drei stattfindende feste Adhäsion der Granulozyten auf dem Endothel. Die hierfür wichtigen Integrine und ihre Liganden sind der Tabelle 1 zu entnehmen.

**Tab. 1:** Integrine der neutrophilen Granulozyten und ihre Liganden

Integrin	Vorkommen	Ligand	Vorkommen
$\alpha_L\beta_2$ (CD11a/CD18, LFA-1)	neutrophile Granulozyten, Monozyten, Lymphozyten	ICAM-1 (CD54) ICAM-2 (CD102) ICAM-3 (CD50) JAM-A	Endothelzellen, Lymphozyten Endothelzellen, Lymphozyten antigenpräsentierende Zellen
$\alpha_M\beta_2$ (CD11b/CD18, Mac-1)	Granulozyten, Monozyten, Makrophagen, NK-Zellen	ICAM-1 (CD54) Fibrinogen	Endothelzellen, Lymphozyten
$\alpha_9\beta_1$	neutrophile Granulozyten, Endothelzellen	VCAM-1 (CD106)	Endothelzellen
$\alpha_X\beta_2$ (CD11c/CD18, CR4)	Granulozyten, Monozyten	Fibrinogen JAM-C	

Danach folgt die vierte Phase, die transendotheliale Migration. Hierbei durchschreiten die Granulozyten die Gefäßwand im Bereich von Zell-Zell-Kontakten, indem sie ihre Pseudopodien zwischen benachbarte Endothelzellen schieben und danach über Aktin/Myosin-vermittelte und ATP-abhängige Änderungen des Zytoskelettes den Zellkörper nachziehen.

Hierbei ist eine besondere örtliche und zeitliche Koordination der Interaktion von Adhäsionsmolekülen mit ihren Liganden von Nöten, welche in allen molekularen Einzelheiten noch unklar ist. Nach erfolgter Diapedese kommt es zu einer aktiven Migration entlang eines Chemokin-Gradienten von niedriger zu hoher Konzentration, welche erst bei uniformer Chemokinkonzentration sistiert. (39)

### 3.2.4 Phagozytose

Die Ingestion partikulärer Fremdkörper ist die wichtigste Wirkungsweise des Immunsystems in der Frühphase der Infektabwehr, noch bevor Antikörper gebildet werden. Phagozyten können einerseits in Abwesenheit von Opsoninen oder sehr viel effizienter in Anwesenheit dieser, Fremdstoffe in sich aufnehmen. Die drei Hauptklassen der Opsonine sind Komplementfaktoren der dritten Komponente wie CD3b oder iCD3b, Immunglobuline des IgG-Isotyps und bestimmte Kohlenhydrate bzw. kohlenhydratbindende Proteine.

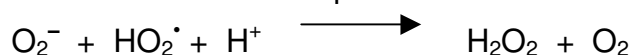
Nach der chemotaktischen Anlockung der Phagozyten binden sich die Opsonine mit einem Ende an die Oberfläche des zu phagozytierenden Partikels und mit dem anderen Ende an die Phagozytenoberfläche. Sie erleichtern somit die Anlagerung. Danach bilden sich Pseudopodien aus, welche den Fremdkörper schließlich vollständig umschließen und ihn somit in einem Vesikel einschließen – dem Phagosomen. Nach erfolgter Aufnahme fusionieren in der anschließenden Verdauungsphase die präformierten Granula der Phagozyten mit dem Phagosomen und schütten ihren Inhalt aus Enzymen in das so gebildete Phagolysosomen. Phagozytierte Fremdkörper können so vollständig abgebaut und im Zellmetabolismus weiter verwertet werden. (39, 48, 97)

### 3.2.5 Respiratory burst

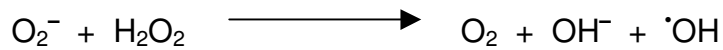
Der wohl wichtigste Effektormechanismus der Phagozyten ist die als respiratory burst bezeichnete Bildung von mikrobioziden Sauerstoffmetaboliten. Die hierfür nötige NADPH-Oxidase wird nach Stimulation durch die Proteinkinase C phosphoryliert. Sie setzt sich aus zwei in die Phagosomenmembran integrierten (gp91<sup>phox</sup> und p22<sup>phox</sup>) und drei aus dem Zytosol rekrutierten Komponenten (p40<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup> und p67<sup>phox</sup>) sowie dem gebundenem monomeren G-Protein Rap1a zusammen und katalysiert folgende Reaktion:



Das benötigte NADPH wird über den Pentosephosphatweg durch Glukoseabbau bereitgestellt. Die instabilen Superoxid-Anionen dissoziieren im sauren pH-Wert des Phagosomens in Wasserstoffperoxid und Sauerstoff:



Gebildetes Wasserstoffperoxid wird entweder in Anwesenheit von Chlor- oder Jodanionen durch die Myeloperoxidase zu Oxyhaliden katalysiert, welche eine nochmals höhere keimabtötende Aktivität besitzen oder mittels Laktoferrin zu Hydroxyl-Ionen ( $\text{OH}^-$ ) abgebaut. Weiter kann durch Übertragung eines Elektrons auf das Wasserstoffperoxid ein Hydroxylradikal gebildet werden:



Eine Vielzahl von Bakterien, Pilzen, Viren, Protozoen und andere Parasiten können durch diese Stoffwechselprodukte abgetötet werden. (39)

### 3.3 Ursachen und Folgen von Neutropenien

1922 beschrieb Werner Schultz (83) zum ersten Mal ein Syndrom, welches durch eine extrem reduzierte bis nicht mehr nachweisbare Granulozytenanzahl im Blut sowie Sepsis und Tod bei Frauen mittleren Alters charakterisiert war. Heute ist dieses von Schultz beschriebene Syndrom als Neutropenie deklariert und definiert als eine Anzahl von weniger als  $1,5 \times 10^9$  neutrophile Granulozyten pro Liter Blut. Menschen dunkelhäutiger Abstammung besitzen physiologisch weniger neutrophile Granulozyten, so dass bei ihnen die Untergrenze mit  $1,0 \times 10^9/\text{l}$  Blut angegeben wird. Ab einer Granulozytenzahl von weniger als  $0,5 \times 10^9/\text{l}$  Blut wird in mancher Literatur auch von einer Agranulozytose gesprochen. Bodey et al. (9) erkannten 1966, dass der Schweregrad, die Entstehungsgeschwindigkeit und die Dauer der Neutropenie direkt mit dem relativen Risiko einer Infektion zusammenhängt.

Bei der Einteilung der Neutropenien nach Ursachen, unterteilt man in erworbene und echte Neutropenien, welche innere Ursachen besitzen. Zur ersten Gruppe zählen postinfektiöse, medikamenteninduzierte, durch Mangelernährung bedingte, durch Strahlenschäden bedingte, nach Knochenmarkersatz auftretende und Neutropenien, welchen mit einer Aktivierung des Komplementsystems assoziiert sind. Bei den medikamenteninduzierten Neutropenien wird in dosisabhängige und dosisunabhängige Neutropenien unterschieden. Echte Neutropenien sind das Kostmann's Syndrom, die zyklische Neutropenie, chronisch benigne Neutropenien und autoimmune Neutropenien.

Klinisch manifestiert sich eine Neutropenie durch rezidivierende Infekte, hauptsächlich mit Läsionen der Mundschleimhaut (Schleimhautulzerationen, Peridontitis), der Haut (Ausschlag, Ulcerationen, Abszesse, verzögerter



Wundheilung) sowie der Rektal- und Genitalregion. Physiologisch vorkommende Bakterien wie Staphylokokkus aureus der Haut und gram-negative Organismen des Gastrointestinal- und Urogenitalsystems sind gewöhnlich die Erreger dieser Infekte. Da die Funktion der neutrophilen Granulozyten in der Abwehr gegen Bakterien- und Pilzinfektionen besteht, sind Pilze, insbesondere Candida albicans, eine weitere große Gruppe von Infektionserregern bei Neutropenien.

Die Therapie der Neutropenie beinhaltet neben der, wenn möglich, Behebung der Ursache, die Abschirmung der Patienten gegen Infektionen und die schnelle und möglichst resistogrammgerechte Behandlung aufgetretener Infektionen. Optionen dafür sind die Verabreichung von Antibiotika, die Gabe von G-CSF bzw. GM-CSF und die Transfusion von Granulozyten. (53)

### **3.4 Dysplastische Veränderungen des Knochenmarks**

Unter einer aplastischen Anämie versteht man eine Bi- oder Trizytopenie des peripheren Blutes als Folge einer erworbenen Knochenmarksaplasie. Hiervon abzugrenzen sind die kongenitalen aplastischen Syndrome wie z. B. die Fanconi-Anämie oder das Schwachmann-Diamond-Syndrom. Des Weiteren werden Anämien, die durch Verdrängung der normalen Hämatopoese durch maligne Zellen oder infolge myelotoxischer Zytostatika- oder Strahlentherapie entstanden sind oder deutliche dysplastische Veränderung der Hämatopoese aufweisen, nicht als aplastische Anämien bezeichnet.

Mit einer Inzidenz von ca. 2 – 4 pro 1 Millionen pro Jahr in Mitteleuropa ist die aplastische Anämie eine sehr seltene Erkrankung, welche mit zwei Altersgipfeln (15 – 30 Jahre und > 60 Jahre) praktisch in jedem Alter auftritt und bei beiden Geschlechtern gleich häufig vorkommt. Die Pathophysiologie ist noch nicht vollständig geklärt. Im Vordergrund stehen Destruktion oder Suppression hämatopoetischer Stammzellen, wobei neben direkten Schädigungen durch Chemikalien und Viren T-Zell-vermittelte Autoimmunmechanismen mit der Produktion von Zytokinen wie IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  und IL-2 eine wesentliche Rolle spielen. Danach lassen sich die aplastischen Anämien ätiologisch einteilen in idiopatische (> 80%), medikamentös-bedingte (< 10%), postinfektiöse nach Virusinfekten (< 5%; z. B. Hepatitisviren, EBV, Parvovirus B19, HIV) und durch Chemikalien ausgelöste (< 5%; z. B. Benzol und Insektizide).

Die Klinik ist nach akutem oder schleichendem Beginn unspezifisch. Blässe, Müdigkeit, Leistungsminderung, Dyspnoe und Tachykardie können durch die Anämie bedingt auftreten. Fieber, oft nekrotisierende Infektionen der Schleimhäute und Sepsis resultieren aus der Granulozytopenie. Durch die Thrombozytopenie besteht ein erhöhtes Blutungsrisiko mit Petechien, Sugillationen, Ekchymosen, Epistaxis, Schleimhaut- und Zahnfleischblutungen. Die Diagnostik erfolgt mittels laborchemische Untersuchungen, speziell Blutbild, sowie die Zytologie bzw. Histologie, Immunphänotypisierung und Zytogenetik einer Knochenmarksbiopsie.

Die frühzeitige allogene Stammzelltransplantation (SZTX) stellt derzeit die einzige kurative Therapie mit einer 10-Jahres-Überlebensrate von bis zu 80% dar. Hierbei wird als Stammzellquelle das Knochenmark bevorzugt, weil peripher mobilisierte Stammzellen nach Transplantation mit einem erhöhtem Risiko für eine chronische Graft-versus-Host-Disease (GvHD) assoziiert zu sein scheinen. Eine weitere Option ist die immunsuppressive Therapie mit Antithymozytenglobulinen (z. B. Lymphoglobulin), Cyclosporin A und Methylprednisolon mit einer geringeren 10-Jahres-Überlebensrate von etwa 50%. Daneben sind supportive Maßnahmen wie Haut- und Schleimhautpflege, Infektionsprophylaxe und –therapie mit Antibiotika und die Substitution von Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentraten angezeigt. (54, 73)

### **3.5 Hämatopoetische Stammzelltransplantation**

#### **3.5.1 Charakterisierung der hämatopoetischen Stammzelle**

Die hämatopoetische Stammzelle (HSZ) besitzt die Fähigkeit die Hämatopoese sowohl mit ihrer myeloischen als auch ihrer lymphatischen Entwicklungslinie in Individuen mit zerstörtem hämatopoetischen Knochenmark wieder zu etablieren. Diese Fähigkeit macht sie zum therapeutischen Interesse bei malignen als auch nonmalignen Erkrankungen, die direkt oder durch Therapiefolgen zu einem Verlust der Hämatopoese führen.

Nachdem die Hämatopoese des Fetus ausgehend vom Dottersack zunächst in der Leber stattfindet, verlagert sich ihr Ort später in das Knochenmark. HSZ´s findet man jedoch auch reichlich im Nabelschnurblut und in geringer Menge im peripheren Blut von Menschen.

Die in der Transplantationsmedizin verwendeten HSZ's werden nach genetischer und Zelloberflächenidentität eingeteilt. Autologe Stammzellen sind eines Patienten eigene, zu einem früheren Zeitpunkt entnommene Stammzellen. Syngene Stammzellen sind ebenso HLA- und genetisch identische Zellen, jedoch von einem verwandten Spender, einem eineiigen Zwilling. Allogene Stammzellen sind genetisch unterschiedliche und im HLA-Crossmatch identisch oder unterschiedlich und können von Verwandten oder nicht verwandten Spendern stammen. Hier steigt mit sinkender Übereinstimmung das Risiko für GvHD, Transplantatabstoßung und Mortalität.

Zur Identifizierung werden Zelloberflächenantigene angewendet. Die HSZ ist CD34-positiv und CD38-, CD33-, CD71- sowie B-Zell- und T-Zell-Antigen negativ. Das Zelloberflächenantigen CD34 stellt ein stark O-glykosyliertes Transmembranprotein dar, welches auf hämatopoetischen Vorläuferzellen und vaskulärem Endothel vieler Gewebe exprimiert wird. Die Expression von CD34 nimmt auf der Zelloberfläche von hämatopoetischen Vorläuferzellen während der Reifung ab und ist ein eher stadien- als linienspezifischer Differenzierungsantigen. 1 – 5% aller Knochenmarkszellen und ca. 1% aller peripher zirkulierenden Blutzellen Erwachsener sind CD34-positiv. Fetale Leber und Knochenmarkszellen sind zu 2 bis 10% CD34-positiv. (66, 73, 76)

### **3.5.2 Gewinnung der hämatopoetischen Stammzellen**

Die Gewinnung der HSZ kann über eine Aspirationspunktion der posterioren und anterioren Crista iliaca oder des Sternums erfolgen. Als Aspirationsvolumen werden gewöhnlich 10 bis 15 ml pro Kilogramm Körpergewicht entnommen. Ist der Spender leichter, wird dessen Körpergewicht (KG) als Berechnungsgrundlage herangezogen, ist der Empfänger leichter, dessen Körpergewicht. Vor der Transplantation muss das gesammelte Knochenmark filtriert werden, um eine Übertragung von Gerinnseln zu verhindern. Des Weiteren kann bei ABO-Inkompatibilität und hohen anti-A- oder anti-B-Titern eine Depletion der Erythrozyten oder des Plasmas bzw. eine Plasmapherese des Empfängers indiziert sein um das Anwachsen zu effektivieren. Lebensbedrohliche Komplikationen bei der Knochenmarksgewinnung sind gewöhnlich anästhesiologisch bedingt und treten in unter 1% aller Fälle auf. Durchschnittlich werden bei einer Knochenmarkstransplantation  $2,5 \times 10^8$  kernhaltige Zellen pro kg KG des Empfängers transfundiert.

Die zweite Möglichkeit der Stammzellgewinnung besteht in der Leukapherese nach Mobilisierung dieser ins periphere Blut des Spenders mittels subkutaner Injektion von

G-CSF. Hierbei wird mit Dosen zwischen 5 bis 16 µg /kg Spenderkörpergewicht und teilweiser Kombination mit Kortikosteroiden gearbeitet. Mit diesem Verfahren können bis zu  $5 \times 10^6$  CD34-positive Zellen pro kg Empfängerkörpergewicht transfundiert werden, ohne den Spender den Risiken des anästhesiologischen Regimes der Knochenmarksbiopsie aussetzen zu müssen.

Als dritte Möglichkeit kann nach einer Geburt das Blut der ausgeschiedenen Plazenta und Nabelschnur in einer sterilen, mit Antikoagulantien versehenen, Blutkonserve kryokonserviert werden. Dabei werden etwa 100 ml Nabelschnurblut gewonnen, mit welchen durchschnittlich  $5,2 \times 10^7$  kernhaltige Zellen pro kg Empfängerkörpergewicht transfundiert werden können. Dieses Verfahren ist noch sehr jung und bezüglich seiner Etablierung in der Entwicklung. (66, 73, 76)

### **3.5.3 Konditionierung und Anwachsen des Stammzelltransplantates**

Vor der Stammzelltransplantation (SZTX) muss der Empfänger für eine erfolgreiche Behandlung konditioniert werden. Die Ziele dabei sind, alle malignen Zellen des Patienten vor Transplantation zu eliminieren, optimale Anwachsbedingungen für die transplantierten Stammzellen zu schaffen, das Immunsystem zum Schutze vor Transplantatrejektionen zu supprimieren und bei alledem die Toxizität der Konditionierung so niedrig wie möglich zu halten. Zur Durchführung dieser Prozedur werden Bestrahlung, verschiedenste Chemotherapeutika (z. B. Cyclophosphamide, Etoposide, Melphalan) und radiomarkierte monoklonale Antikörper in Kombination oder isoliert verwendet. Nach erfolgter myeloablativer Behandlung und SZTX ist das Immunsystem des Empfängers für 4 bis 5 Monate beeinträchtigt. Wenn keine GvHD auftritt, ist mit der vollständigen Erholung des Immunsystems in 1 bis 2 Jahren zu rechnen.

Das Anwachsen eines Stammzelltransplantates ist in den meisten Untersuchungen als das Erreichen einer Anzahl von  $0,5 \times 10^9/l$  neutrophiler Granulozyten im peripheren Blut definiert. Die Erfolgsrate hängt vor allem von der Anzahl übertragener CD34-positiver Zellen, den angewandten Aspirationsstrategien bei der Entnahme, der supportiven Anwendung von Wachstumsfaktoren, der GvHD-Prophylaxe und der Verhinderung bzw. der suffizienten Behandlung von Infekten ab. (66, 73, 76)

### 3.5.4 Komplikationen der Stammzelltransplantation

Ein Absinken der Blutzellanzahl und eine bei Chimärismusuntersuchungen festgestellte Abnahme des Anteils von Spenderzellen im peripheren Blut wie im Knochenmark sind Anzeichen für eine Rejektion des Transplantates. Sie ist bei HLA-kompatiblen Stammzelltransplantationen von verwandten Spendern mit ca. 2% ungewöhnlich. Bei Transplantationen von Zellen unverwandter Spender mit phänotypischer HLA-Kompatibilität, HLA-Inkompatibilität in einem Locus oder in mehr als einem Locus, ist die Rejektionsrate mit 5%, 7-10% und 15-25% ungleich größer. Trotz neuer Behandlungsstrategien ist eine Transplantatrejektion immer ein potentiell lebensbedrohliches Ereignis.

Eine GvHD kann eine weitere Folge der Knochenmarks- bzw. Stammzelltransplantation sein. Sie entwickelt sich, wenn genetisch ungleiche T-Lymphozyten in einen immunkomprimierten Organismus transferiert werden und dort mit major und minor Histokompatibilitätsantigenen reagieren. Die primären Angriffsorte sind die Haut, die Gallengänge und der Gastrointestinaltrakt, in welchen ein lymphozytäres Infiltrat und apoptotische Zelluntergänge zu finden sind. Des Weiteren ist in Lymphknoten ein lange persistierender Verlust der Keimzentren zu beobachten. Zur Prophylaxe werden Immunsuppressiva wie Cyclosporine, Metotrexat und Kortikosteroide benutzt, welche neben lokal wirkenden Substanzen auch in der Therapie Verwendung finden.

Die größte Gefahr unmittelbar nach einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation besteht für den Patienten im Erleiden einer Infektion. Risikofaktoren hierfür sind Neutropenie, Schädigungen der gastrointestinalen Schleimhaut infolge der myeloablativen Konditionierung und Defizite in der B- und T-Zellfunktion nach Anwachsen des Transplantates. Einfluss haben auch die Art der immunsuppressiven Therapie und die Art der Transplantation. Die Erholungsdauer des Immunsystems ist nach autologer Transplantation kürzer als nach allogener Transplantation. Dabei sind die Patienten sowohl von bakteriellen (gram positiv und negativ), viralen (vor allem CMV, VZV, HSV, EBV) als auch Pilzinfektionen (im Besonderen Candida- und Aspergillusinfektionen) bedroht. Selbst optimalste prophylaktische Medikation mit Antibiotika, Antimykotika und Virustatika schützen bis dato nicht absolut sicher vor einer Infektion, welche dann bei Nichtansprechen der gezielten antibiotischen Therapie die wichtigste Indikation für den Einsatz von Granulozytenkonzentraten. (66, 76)

## 3.6 Grundlagen der Hämapherese

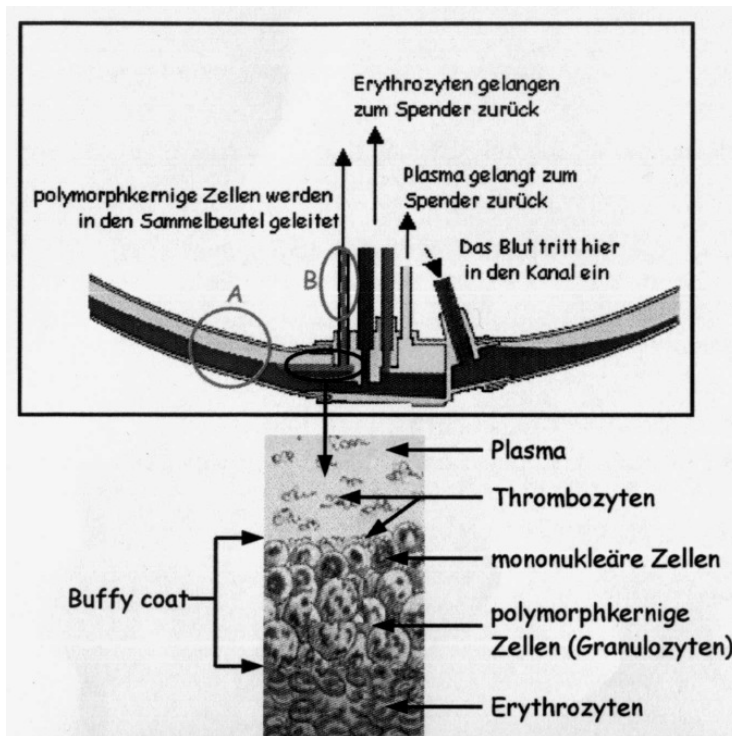
Die Apherese ist eine Methode zur selektiven extrakorporalen Elimination von Blutbestandteilen. Sie kann einerseits als therapeutisches Verfahren, beispielsweise bei Fettstoffwechselkrankheiten, Autoimmunprozessen, Mikrozirkulations-Störungen oder zur Toxinelimination sowie zur Spende von ausgewählten Blutbestandteilen wie Thrombozyten, Blutplasma oder Leukozyten eingesetzt werden.

Die für die Durchführung der präparativen Apherese benötigten Zellseparatoren werden nach ihrem Separationsverfahren eingeteilt. Bei Aphereseverfahren mit kontinuierlicher Durchflusszentrifugation ist sowohl die Zentrifugationsgeschwindigkeit als auch die Zentrifugationskraft konstant, wohingegen bei diskontinuierlichem Verfahren nur die Zentrifugationsgeschwindigkeit fixiert ist. Im Durchfluss-Separationsverfahren wird die unterschiedliche Masse der Blutzellen und die damit unterschiedlich starke Auslenkung unter Zentrifugation zur Trennung genutzt.

### 3.6.1 Granulozytapherese

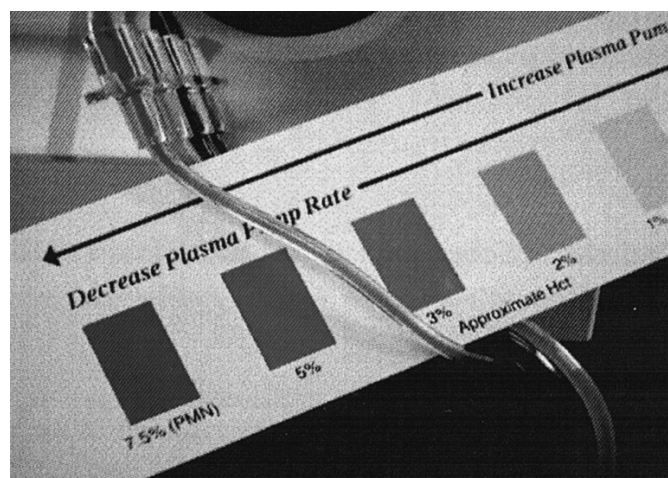
Nach den Richtlinien der Bundesärztekammer (12), soll ein Granulozytenkonzentrat weniger als 500 ml Volumen besitzen und mehr als  $1 \times 10^{10}$  Granulozyten pro Einheit enthalten, da sonst keine therapeutischen Effekte zu erzielen sind. Granulozytenkonzentrate können durch sogenanntes pooling von buffy coats von Vollblutspenden, mittels Calcium-abhängiger Adsorption an Nylonfilter und via Apherese, gewöhnlich per Durchflusszentrifugation, gewonnen werden.

Bei der Durchflusszentrifugation wird das Vollblut eines Spenders über ein Schlauchsystem in eine Zentrifuge geleitet, in welcher die einzelnen Blutbestandteile in einem künstlichen Schwerfeld entsprechend ihrer Masse entsprechend in Schichten aufgetrennt werden. Hierbei werden die Erythrozyten in der Rotationstrommel in die Peripherie geschleudert, während das Plasma an der Innenseite verbleibt. Dazwischen lagert sich der so genannte buffy coat ab, der die Leukozyten enthält. Diese Schicht an der Schnittstelle zwischen Erythrozyten und Plasma wird wie in Abbildung 4 verdeutlicht, über die Sammelleitung in einen Sammelbeutel abgeleitet.

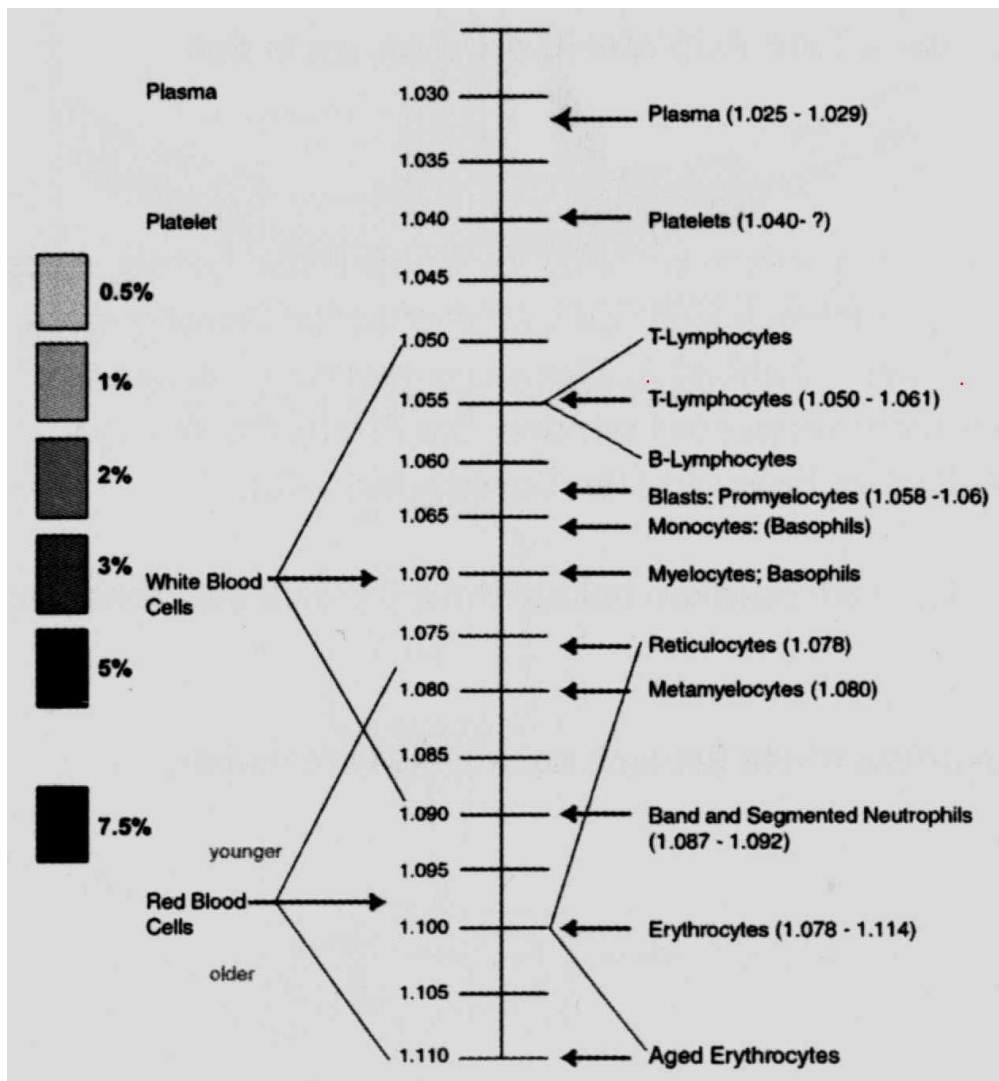


**Abb. 4:** Separation der Blutbestandteile in einem Zellseparator mit Durchflusszentrifugation

Um zu bestimmen, ob diese Schnittstelle korrekt eingestellt ist, wird die Sammelleitung über ein spezielles Cologramm gehalten um den Hämatokrit der enthaltenen Flüssigkeit zu bestimmen (Abb. 5). Zur Sammlung von polymorphkernigen Zellen sollte die Sammlung bei einem Hämatokrit von ca. 7,5% vorgenommen werden. Abbildung 6 zeigt das spezifische Gewicht der einzelnen Blutbestandteile.



**Abb. 5:** Überwachung der Schnittstelle mittels Cologramm



**Abb.6:** spezifisches Gewicht der einzelnen Blutbestandteile

Um eine genauere und schnellere Auftrennung zu erzielen, werden Sedimentationsbeschleuniger (Dextra, Hydroxyethylstärke oder Gelatinederivate), welche die Erythrozyten agglutinieren, während der Apherese dem Blut beigemischt. Weiterhin benutzt man Citrat, um eine Koagulation innerhalb des Apheresesystemes zu verhindern. Hieraus resultieren auch die immer zu beachtende Risiken allergischer Reaktionen, neben den bei Venenpunktionen üblichen Risiken während der Apherese. Nach der Separation der Leukozyten werden dem Spender die anderen Blutbestandteile wieder zugeführt.

Um ausreichende Mengen neutrophiler Granulozyten zu separieren, soll die Granulozytenanzahl im Blut des Spenders vor Apherese angehoben werden. Dies erreicht man durch eine Vorbehandlung der Spender mit G-CSF und Kortikosteroiden, separat oder in Kombination. Gebräuchliche Stimulationsregime



sind subkutane Injektionen von 5 bis 10 µg/kg KG bzw. 300 bis 600 µg G-CSF mindestens 12 Stunden vor Apherese, alleine oder in Kombination mit Dexamethason oder Prednisolon. Dabei werden üblicher Weise Dosen von 8 mg Dexamethason oral oder 50 bis 100 mg Prednisolon intravenös oder oral verabreicht. Beim buffy coat pooling werden ebenfalls mittels Zentrifugation die einzelnen Zellgruppen von Vollblutkonserven schichtweise ausgetrennt und die Leukozyten aus dem buffy coat abgesammelt. Da dieses Verfahren neben größeren logistischen Problemen auch mindestens 12 Spender für ein Granulozytenkonzentrat benötigt, wird es routinemäßig nicht mehr angewendet. Gleiches gilt für die Granulozytensammlung mit Nylonfiltern, da bei diesem Verfahren die Funktion und Überlebenszeit der Granulozyten erheblich beeinträchtigt wird. (80, 12, 102)

### **3.7 Granulozyten-Colonie stimulierender Faktor (G-CSF)**

#### **3.7.1 Morphologie, Funktion und Wirkungsweise von G-CSF unter physiologischen Bedingungen**

Der 1980 erstmals von Burgess und Metcalf (13) beschriebene humane G-CSF ist ein aus 204 Aminosäuren bestehendes Glykoprotein, welches Proliferation, Differenzierung, Lebensdauer und Funktion von neutrophilen Granulozyten und deren Vorläuferzellen beeinflusst. Es hat ein Molekulargewicht von 19600 Dalton und ist O-glykosyliert, wobei keine Unterschiede der klinische Wirksamkeit zwischen glykosyliertem und unglykosyliertem Protein bestehen.

Produziert wird G-CSF von aktivierten Makrophagen, Endothelzellen, Fibroblasten und Stromazellen des Knochenmarkes. Eine durch Zytokine eng vernetzte Interaktion zwischen den Produktionszellen gewährleistet eine adäquate Freisetzung des G-CSF und somit eine wirksame Hämatopoese, auch während inflammatorischer Prozesse. Das Gen für G-CSF ist auf dem Chromosomen 17q21-22 lokalisiert.

Seine Wirkung entfaltet G-CSF durch die Bindung an spezifische Rezeptoren, welche auf reifen neutrophilen Granulozyten, deren Vorläuferzellen und Monozyten sowie deren Vorläuferzellen vorkommen. Der G-CSF-Rezeptor ist ein aus 812 Aminosäuren bestehendes Transmembranmolekül mit einer transmembranösen sowie einer größeren extrazellulären und einer kleineren zytoplasmatischen

Domäne. Das zugehörige Gen ist auf dem Chromosomen 1p35-34.3 lokalisiert. Ein G-CSF-Molekül bindet an die extrazelluläre Domäne zweier Rezeptoren, das kann es sowohl mit dem N-terminalen als auch mit dem C-terminalen Ende tun. In der dimerisierten Form des Rezeptors werden die Signale über Phosphorylierung mittels aktivierter zellulärer Tyrosinkinase transduziert. (92)

Die Bindung an den Rezeptor führt zur Proliferation und Differenzierung der Vorläuferzellen sowie zur Funktionssteigerung der reifen Zellen. Lieschke et al. (58) zeigten, dass G-CSF  $-/-$  Mäuse eine chronische selektive und persistierende Neutropenie mit Neutrophilenzahlen von 30% der Wild-Mäuse haben. Im Knochenmark fanden sich keine Vorläuferzellen für neutrophile Granulozyten. G-CSF scheint somit ein entscheidender Teil eines die neutrophilen Granulozyten regulierenden Systems zu sein.

### **3.7.2 Spezielle Wirkung von G-CSF auf die Bildung und Funktion neutrophiler Granulozyten**

Etwa 5 bis 15 Minuten nach der intravenösen und 30 bis 60 Minuten nach der subkutanen Injektion von G-CSF kommt es zu einem transitorischen Abfall der neutrophilen Granulozyten im peripheren Blut, gefolgt von einem Anstieg auf das bis zu 15-fache des Ausgangswertes. Der Gipfel des Anstieges wird etwa 12 Stunden nach der Injektion von G-CSF erreicht und persistiert für etwa 24 bis 48 Stunden auf diesem Level, bevor er wieder abfällt. Bei wiederholten Dosen erreicht die Granulozytenzahl in der zweiten Behandlungswoche ein gewisses Plateau oder beginnt langsam wieder zu sinken. Charakteristisch für den G-CSF-abhängigen Anstieg ist eine Linksverschiebung der neutrophilen Granulozyten hin zu mehr stabkernigen Neutrophilen, sowie das Auftreten von Myelozyten, Promyelozyten und gelegentlich Myeloblasten im peripheren Blut. Nach dem Absetzen von G-CSF sinkt die Granulozytenzahl nach 4 bis 7 Tagen wieder auf den Ausgangswert ab. (57, 78)

Unter G-CSF-Behandlung lassen sich morphologische Veränderungen der neutrophilen Granulozyten beobachten. Es wurden Dohle-Körperchen im Zytoplasma, das Vorkommen toxischer Granula, Hypersegmentation sowie Hypogranularisation beschrieben. Die Expression der Oberflächenmarker CD11b, CD14 und Fc $\gamma$ RI ist gesteigert, die von Fc $\gamma$ RIII gesenkt. Weiterhin ist die Affinität von LAM-1 zu seinem Liganden signifikant gesteigert.

Die Funktionstüchtigkeit mit G-CSF behandelter Granulozyten ist nach diversen Studienergebnissen gleichwertig derer unbehandelter. Sowohl in vitro als auch in vivo sind Sauerstoffradikalbildung, Chemotaxis, Adhärenz und Phagozytose nach G-CSF gesteigert. Ebenso wurde die gesteigerte direkte Zelltötung von Staphylokokkus aureus und die neutrophile antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) nachgewiesen. Die Halbwertszeit der Zirkulation neutrophiler Granulozyten im peripheren Blut liegt nach G-CSF Gabe unverändert bei 8 Stunden. (22, 85)

### **3.7.3 Nebenwirkungen beim Einsatz von G-CSF**

Bei bis zu 75% aller mit G-CSF behandelten Granulozytenspendern können unerwünschte Nebenwirkungen auftreten, die jedoch in den aller meisten Fällen nur sehr mild ausfallen. Dosisabhängig mit zunehmender Inzidenz bei steigender Dosis sind in absteigender Häufigkeit Knochenschmerzen, Myalgien, Arthralgien, Kopfschmerzen, Übelkeit, Müdigkeit, Fieber und Schüttelfrost, Hautrötungen sowie Splenomegalie bis hin zur Milzruptur beobachtet worden. Alle Schmerzen sind mit einfachen Analgetika gut zu therapieren. (64)

Es gibt einige wenige Fälle, in denen von neutrophilen Dermatosen wie dem Sweet's Syndrom und der bullösen Pyoderma gangraenosa, sowie von leukozytoklastischen Vaskulitiden, interstitiellen Pneumonien und ARDS unter der Behandlung von G-CSF beobachtet wurden. Es wird diskutiert, dass diese Nebenwirkungen durch die per G-CSF hervorgerufene Neutrophilie und die Neutrophilenaktivierung ausgelöst werden. Durch die Senkung der Schwellenkonzentration für bestimmte Stimuli zur oxidativ burst Aktivierung und Enzymfreisetzung könnten so Gewebsschädigungen hervorgerufen sein. (85)

Des Weiteren werden die typischer Weise mit einer gesteigerten Granulozytenaktivität assoziierten reversiblen Erhöhungen einiger Blutparameter wie Harnsäure, alkalische Phosphatase und  $\gamma$ -Glutamyltransferase und eine Erhöhung der Laktatdehydrogenase registriert. (6)

## 3.8 Granulozytentransfusion

### 3.8.1 Therapeutische Anwendung von Granulozytentransfusionen bei Erwachsenen

Seit 1953, als Brecher et al. (10) die erste erfolgreiche Granulozytentransfusion (GTX) an letal bestrahlten Hunden mit totaler Knochenmarksaplasie durchführten, ist die intravenöse Gabe von Granulozyten als therapeutische Option der Neutropenie bzw. Aplasie bekannt. Diverse Studien sind seitdem über die Nutzung der Granulozytentransfusion mit zum Teil kontroversen Ergebnissen durchgeführt wurden.

Selbst bei den wenigen kontrolliert durchgeführten Studien sind auf Grund der Verwendung unterschiedlicher Separationsverfahren zur Konzentratgewinnung, Unterschiede in der Überprüfung der Antikörperkompatibilität sowie der HLA-Verträglichkeit und Einflüsse anderer Therapieformen, die in jede Studie einfließen, die direkten Vergleiche schwierig. Von sieben kontrollierten Studien (Tab. 2), welche die alleinige Behandlung von Infektionen bei neutropenen Patienten mit Antibiotika gegenüber einer Behandlung mit Granulozytentransfusion plus Antibiotika verglichen, zeigten drei einen allgemein signifikanten Benefiz der GTX (34, 37, 94), zwei einen partiellen (4, 32) und zwei überhaupt keinen Vorteil (28, 101) der Therapie mit GTX.

**Tab. 2:** Übersicht der kontrollierten Studien über GTX bei Erwachsenen  
*Abkürzungen:* FL = Membranfiltrationsseparation, CL = Durchflusssparation

Erstautor	Patienten-Anzahl	Überlebende Transfusions-Gruppe	Überlebende Kontrollgruppe	Separations-Typ	tägliche Dosis nG ( x 10 <sup>10</sup> )
Graw (1972)	76	46 %	30 %	FL / CL	2,04 / 0,56
Fortuny (1975)	39	78 %	80 %	CL	0,41
Higby (1975)	36	76 %	26 %	FL	2,2
Alavi (1977)	31	82 %	62 %	FL	5,9
Herzig (1977)	27	75 %	36 %	FL / CL	1,7 / 0,4
Vogler (1977)	30	59 %	15 %	CL	2,68
Winston (1982)	95	63 %	72 %	CL	0,5

Dabei fällt auf, dass bei den Untersuchungen mit Vorteilen für die Therapie mit GTX täglich hohe Dosen von Granulozyten verabreicht wurden und die Auswahl der Spender nach Erythrozyten- und Leukozytenkompatibilität vorgenommen wurden. Diejenigen Studien, die keine Vorteile für die GTX-Therapie zeigten, wurden mit inadäquat niedrige Dosen von Granulozyten, heterogenem Patientenpool und zum Teil nicht überprüfter Leukozytenkompatibilität durchgeführt.

Auch wenn sich auf Grund der noch unzureichend publizierten Daten keine definitive Empfehlung für ein Regime der therapeutischen GTX festlegen lässt, legen diese folgende Schlüsse nahe: Patienten in einer Neutropenie mit bakteriellen Infektionen und einer guten Regeneration des Knochenmarkes in der frühen Phase der Infektion werden prinzipiell gut auf eine alleinige Antibiotikatherapie ansprechen. Dazu zählt auch die Mehrheit aller Patienten mit einer erstmals diagnostizierten akuten Leukämie und mit erfolgreicher initialer Chemotherapie. Für septische Patienten mit schweren persistierenden Neutropenien in Folge eines Knochenmarkversagens oder mit rezidivierenden Infekten und Nichtansprechen auf antibiotische Therapie sollte die GTX kombiniert mit anderen Modifikationen der bestehenden Therapie (z. B. Kombinationen verschiedener Antibiotika, intravenöse Gabe von  $\gamma$ -Globulinen oder Interferonen) in Betracht gezogen werden. (80)

### **3.8.2 Therapeutische Anwendung von Granulozytentransfusionen bei Neugeborenen und Kindern**

Die normale Anzahl von Granulozyten im peripheren Blut eines gesunden Neugeborenen beträgt zwischen  $10$  und  $20 \times 10^9/l$  Blut, ein Abfall unter  $3 \times 10^9/l$  Blut ist sehr ungewöhnlich. Des Weiteren macht der Knochenmarkspool der neutrophilen Granulozyten 26-60% aller kernhaltigen Zellen des Knochenmarkes aus. Nach Christensen et al. (19) können diese beiden Parameter wichtige Indikatoren darstellen, da ein Abfall der peripher zirkulierenden Granulozyten auf Werte unter  $3 \times 10^9/l$  Blut und ein Absinken des Granulozytenanteils der kernhaltigen Zellen des Knochenmarkes auf unter 10% ein großes Risiko darstellen, zu versterben, wenn die Behandlung nur aus antibiotischen Medikamenten besteht.

Auf Grund ihrer erhöhten Anfälligkeit erleiden 1 - 10 von 1000 Neugeborenen eine bakterielle Sepsis, wobei Frühgeborene die höchste Anfälligkeit zeigen. Spezielle quantitative und qualitative von Strauss (86) beschriebene Besonderheiten der

Granulozytenpopulation Neugeborener wie eine erniedrigte Granulozytenzahl im Vergleich zu Erwachsenen, eine verminderte Chemotaxis, veränderte Adhäsion und Aggregation, erhöhte Deformierung, eine unausgereifte zelluläre Organisation, die Unfähigkeit Membranpotentiale während der Stimulation zu verändern, Inbalance des oxidativen Metabolismus und eine verminderte Widerstandsfähigkeit gegenüber oxidativem Stress, tragen zu einer Mortalitätsrate von 20% bei.

Auch über die Wirksamkeit der therapeutischen GTX bei Neugeborenen sind nur wenige kontrollierte Studien mit gegensätzlichen Ergebnissen publiziert worden, wobei diejenigen mit positiver Einschätzung für die GTX überwiegen.

### **3.8.3 Prophylaktische Anwendung von Granulozytentransfusionen**

Die geringe Menge an kontrollierten Studien und Evidenzen lässt derzeit keine feste Empfehlung für die Anwendung von GTX zu prophylaktischen Zwecken zu. Es existieren zwar einige wenige Studien, zum Beispiel die Veröffentlichungen von Mannoni et al. (63) und Gomez-Villagran et al. (31), welche einen eindeutigen Vorteil belegen, die Mehrheit der Untersuchungen weisen jedoch entweder nur einen partiellen oder gar keinen Vorteil auf. Auffällig ist, dass nur in den Studien mit Vorteilen für diese Therapie tägliche Dosen von über  $1 \times 10^{10}$  Granulozyten gegeben und auf eine komplette Leukozyten- bzw. HLA-Kompatibilität geachtet wurden. (80)

### **3.8.4 Risiken der Granulozytentransfusion**

Prinzipiell bestehen bei der Transfusion von Granulozyten die selben Risiken wie bei der Transfusion anderer zellulärer Blutprodukte. Diese können durch korrekte Vorgehensweise und laborchemische Testung auf ein Minimum herabgesetzt werden.

Möglich ist dennoch die Übertragung transfusionsassoziiertes Infektionen, in Deutschland derzeit mit einer Rate von 0,6 bei Hepatitis B, 1,3 bei Hepatitis C, 0,9 bei HIV und 2,0 von jeweils 100 000 Spenden bei Syphilis. (67)

Eine durch die Übertragung der immunkompetenten Zellen mögliche GvHD kann mit einer generellen Bestrahlung der Konzentrate mit 30 Gy vermieden werden.

Weiterhin besteht die Gefahr, dass gegen das dem Spender eigene HLA-Muster der transfundierten Granulozyten Antikörper entwickelt werden. Obwohl hier die Literatur

zum Teil widersprüchliche Ergebnisse zeigt, besteht die Gefahr, dass durch Leukozyten-Antikörper die Zirkulationskinetik, die Migration und somit der antimikrobiotische Effekt der GTX negativ beeinflusst und Transfusionsreaktionen vermittelt werden. (87)

Eine separat zu erwähnende Transfusionsreaktion ist das transfusions-related acute lung injury (TRALI), im Deutschen nichtkardiogenes Lungenödem genannt. Dieses klinisch durch Schüttelfrost, Fieber, unproduktiven Husten, Dyspnoe und Tachypnoe innerhalb von 6 Stunden nach der Transfusion gekennzeichnete Ereignis wird durch die Agglutination von Granulozyten in den Lungenkapillaren hervorgerufen. Röntgenologisch lässt sich ein bilaterales Lungenödem bei einem normal großen Herzen mit normaler kardialer Funktion darstellen. Es ist generell reversibel, besitzt jedoch eine Mortalität von 10 – 50%. Die Ätiologie ist bis dato nicht vollständig geklärt. Die meisten Autoren machen dafür vor allem HLA-Klasse-II-Antikörper, seltener granulozytenspezifische oder gegen HLA-I-Antigene gerichtete Antikörper verantwortlich. Andere Hypothesen gehen von Lipiden und Zytokinen (z. B. TNF- $\alpha$ , Interferon- $\gamma$  oder IL-18) mit der Fähigkeit zum Priming von polymorphonucleären Lymphozyten aus. Eine weitere Theorie diskutiert per transfusionem erworbene Faktoren. (84)

## 4 Ziele der Arbeit

Die Transfusion von Granulozytenkonzentraten ist eine therapeutische Option bei der Behandlung von potentiell vital bedrohlichen und unter Antibiotika- und Antimykotika-Therapie unbeherrschbaren Infektionen in persistenten neutropenischen Situationen. Dies gilt speziell in der onkologischen Medizin, bei der durch Chemo- und Strahlentherapie willkürlich Neutropenien hervorgerufen werden. Weder die Verabreichung von G-CSF und GM-CSF noch die Gabe von Granulozytenkonzentraten ist bisher als Standardtherapie empfohlen oder etabliert.

Da die Neutropenie ein potentiell letales Krankheitsbild darstellt, sind gezielte Behandlungsmaßnahmen wie das kausale Absetzen neutropenieinduzierender Medikamente, Infektionsschutz mittels Antibiotika, Antimykotika oder bei Autoimmunneutropenien die Gabe von Kortikosteroide und die hochdosierte intravenöse Immunglobulintherapie besonders wichtig. Die Wirksamkeit von Granulozytentransfusionen wurde bisher fast ausschließlich an erwachsenen Patienten untersucht und wird kontrovers diskutiert. Es wurden dabei erhebliche Nebenwirkungen und Risiken festgestellt, welche die sorgfältige Abwägung von Vor- und Nachteile und strenge Indikationskriterien dieser Transfusionstherapie unabdingbar machen.

Das Ziel dieser retrospektiven Arbeit ist es, die klinische Effektivität der Transfusion von Granulozytenkonzentraten speziell bei Kindern nachzuweisen, um somit den Einsatz dieser Therapie speziell bei Kindern zu belegen. Die positive Beeinflussung der Infektion soll an Hand von Blutbildveränderungen und laborchemischen Parametern gezeigt werden. Dabei soll überprüft werden, ob dem CrP die Bedeutung eines Faktors mit prognostischem Wert für das Ansprechen der GTX zugesprochen werden kann. Außerdem soll untersucht werden, ob die Effektivität durch andere verschiedene Faktoren der individuellen multimodale Behandlungsstrategie der Kinder, wie die Transplantationsart und das verwendete Transplantationsmaterial, sowie durch die Diagnose und das klinische Outcome beeinflusst wird.



## 5 Material und Methodik

Ausgewertet wurden retrospektiv GTX, die zwischen Januar 2003 und Februar 2005 an der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Friedrich-Schiller-Universität Jena durchgeführt wurden. Die Daten wurden anhand der vorhandenen Krankenakten erfasst.

Alle Granulozytenkonzentrate (GK) wurden im Institut für Transfusionsmedizin der Universitätsklinik Jena gewonnen. Die Daten der Granulozytenspender und der GK's wurden anhand der Spenderakten und Granulozytenaphereseprotokolle erfasst.

### 5.1 Spender

Die GK's wurden von 58 ausschließlich männlichen Spendern im Alter zwischen 19 und 48 Jahren gewonnen. Das Durchschnittsalter lag mit einer Standardabweichung von 7,82 Jahren bei 29,02 Jahren. Entsprechend den Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten der Bundesärztekammer (12) wurde jeder Spender durch Anwendung eines Fragebogens, einer persönlichen ärztlichen Befragung und Untersuchung vor jeder Spende für gesund und spendetauglich befundet. Vor der Granulozytenseparation erfolgte eine ausführliche Aufklärung über Wesen, Bedeutung, Durchführung, Nebenwirkung und Risiken des Verfahrens, sowie 4 Wochen, 1 Jahr und 2 Jahre nach der letzten Granulozytenspende (GS) eine Spendernachsorgeuntersuchung. Es waren maximal 4 Separationen pro Jahr zulässig, welche auch an aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt werden konnten. Die Eignungsuntersuchung lag nicht länger als 1 Woche vor der Apherese zurück.

Eingeschlossen wurden nur Spender mit einer Leukozytenzahl zwischen  $3 \times 10^9$  und  $13 \times 10^9/l$  vor medikamentöser Mobilisierung. Weitere Spenderbedingungen vor Apherese waren ein Hämoglobinwert  $> 7,1 \text{ mmol/l}$ , eine Thrombozytenzahl  $> 100 \times 10^9/l$ , ein Blutdruck systolisch zwischen 100 und 180 sowie diastolisch  $< 100 \text{ mmHg}$ , ein Puls 50 – 110/min und eine Körpertemperatur  $< 37,5^\circ\text{C}$ . Der Spender musste weiterhin AB0- und Rhesus-kompatibel sein, sowie einen negatives Leukozyten cross match mit dem Empfänger haben.

6 bis 12 Stunden vor Apheresebeginn erhielt jeder geeignete Spender unabhängig von seinem Körpergewicht  $263 \mu\text{g G-CSF s.c. injiziert}$ . Als Präparat wurde das

Medikament Lenograstim (Granucyte34<sup>®</sup>) der Firma CHUGAI PHARMA verwendet, welches in immortalisierten Ovarialzellen des Chinesischen Hamsters erzeugt wird und identisch zu endogenem G-CSF ist. (50)

## 5.2 Granulozytenpräparate

Es wurden 134 GK hergestellt. Zur Gewinnung wurde das Apheresesystem CobeSpectra der Firma GAMBRO BCT mit dem Programm PMN Version 7.0 im manuellen Betrieb mit einem Blutfluss von maximal 65 ml/min und einem Trisodiumcitrat-Hydroxyethylstärke-Gemisch von 1:13 zu Vollblut verwendet. Die Sammelrate betrug 3ml/min; es wurden ein HES-Verbrauch von 500 ml und ein Trisodium-Citrat-Verbrauch von 50 ml angestrebt. Vor der ersten Anwendung von Hydroxyethylstärke (HES) wurde eine biologische Vorprobe von 10 ml, 1:10 verdünnt in NaCl i. v. durchgeführt, um eine etwaige HES-Allergie auszuschließen. Um die Granulozytensammel-Effektivität zu bestimmen, wurde folgende Formel verwendet:

$$\frac{\text{neutrophile Granulozyten (nG) im Präparat}}{(\text{nG vor Apherese} + \text{nG nach Apherese}) \times \text{prozessiertes Blutvolumen}} \times 100$$

Um die Präparateigenschaften zu vergleichen, wurden bei jeder Separation und aus jedem GK folgende Parameter bestimmt: Dauer der Apherese, prozessiertes Volumen, HES-Verbrauch, Präparatevolumen, Leukozytenzahl (WBC), Anteil der neutrophilen Granulozyten (nG), der Anteil von Lymphozyten (LC), Thrombozytenzahl (PLT), Erythrozytenzahl (RBC) und Hämatokrit (Hk). Gemäß der Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten der Bundesärztekammer (12) enthielt jedes Präparat mindestens  $1 \times 10^{10}$  Leukozyten und fasste ein Volumen von weniger als 500 ml. Das angestrebte Präparatevolumen lag bei 300 ml.

Alle GK's wurden unmittelbar vor Ausgabe mit 30 Gy bestrahlt, wobei an keiner Stelle des Präparates die Dosis von 25 Gy unterschritten wurde. Die GK's wurden sofort nach der Herstellung zur Transfusion herausgegeben und maximal 12 Stunden bei  $22^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  gelagert.

### 5.3 Empfänger

Die 134 GK wurden 26 Patienten im Alter zwischen 1 und 24 Jahren transfundiert. Das arithmetische Mittel des Alters lag bei 11,19 und der Median bei 11,0. Es handelte sich um 10 weibliche und 16 männliche Patienten.

Patientencharakteristik:

**Tab. 3:** Diagnosen der in die Studie einbezogenen Patienten und deren Aufgliederung in die verschiedenen Formen der erhaltenen Transplantation

*Abkürzungen:* TX = Transplantation, SZTX = Stammzell-Transplantation, KMTX = Knochenmarkstransplantation, ALL = akute lymphatische Leukämie, AML = akute myeloische Leukämie, SLE = systemischer Lupus erythematodes

Diagnosen	keine TX	allogen		autolog		haploident		
		SZTX	KMTX	SZTX	KMTX	SZTX	KMTX	
ALL	4	1	3	0	0	0	0	8
AML	2	4	0	0	0	0	0	6
Ewing Sarkom	2	0	0	0	0	0	0	2
myelodysplastisches Syndrom	0	1	0	0	0	0	0	1
Wolman disease	0	0	0	0	0	0	1	1
SLE	0	0	0	1	0	0	0	1
juvenile monozytäre Leukämie	0	0	1	0	0	0	0	1
Mukopolipidose Typ 2	0	0	1	0	0	0	0	1
B-lymphoblastischer Lymphom	1	0	0	0	0	0	0	1
Nephroblastom	1	0	0	0	0	0	0	1
Neuroblastom	0	0	0	1	0	0	0	1
Hepatoblastom	1	0	0	0	0	0	0	1
aplastische Anämie	0	0	0	0	0	1	0	1
	11	6	5	2	0	1	0	gesamt

Aus den Krankenakten der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Friedrich-Schiller-Universität Jena wurden folgende Daten jeder Transfusion tabellarisch aufgelistet und der jeweiligen Fallnummer der Präparation des GK zugeordnet: Name als Initialen verschlüsselt, Geschlecht, Alter, Größe, Gewicht, Körperoberfläche (KOF), Diagnose, ärztliche Indikation zur Granulozytentransfusion und Zeitpunkt der Transfusion. Vor und nach jeder Transfusion wurden Leukozytenzahl, Erythrozyten, Thrombozyten, Hämoglobinwert, Hämatokrit, CrP-Wert und Sauerstoffsubstitution erfasst.

Ebenso wurden die Ergebnisse des weißen und roten cross match, das Auftreten von transfusionsassoziierten Lungeninsuffizienzen (TRALI) und der Tod des Patienten während der Behandlung in die Tabelle aufgenommen.

An Hand diesen Daten wurden die prozentualen und reellen Abfälle und Anstiege der gesammelten Parameter berechnet, sowie die Zahl der transfundierten nG/m<sup>2</sup> KOF des Patienten berechnet.

## **5.4 Statistische Auswertung**

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Computerprogramm „Statistical Package for Social Sciences“ (SPSS Inc., Chicago, USA) Version 13.0.1 mit freundlicher Unterstützung des Institutes für Medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation der FSU Jena.

Sie erfolgte durch die Berechnung der entsprechenden arithmetischen Mittelwerte, des Median und der Standardabweichung der einzelnen Werte. Die Korrelationsanalyse erfolgte mittels Stichproben-Maßkorrelationskoeffizient bivariat nach Pearson. Zur Beurteilung der Effektivitätsunterschiede innerhalb der einzelnen Gruppen hinsichtlich Signifikanzen wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Die Signifikanz der allgemeinen Anstiege von WBC, CrP und Sauerstoffsubstitution wurde durch den Vorzeichentest bestimmt. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  wurde als statistisch signifikant festgelegt.

## 6 Ergebnisse

### 6.1 G-CSF assoziierte Veränderungen des Blutbildes der Spender

#### 6.1.1 Gruppeneinteilung der Spender

Zur Auswertung wurden die Spender nach der Anzahl der schon geleisteten Spenden in Gruppen eingeteilt, um statistisch unabhängige Ergebnisse vergleichen zu können. Gruppe 1 beinhaltet alle Spender nach der ersten GS, Gruppe 2 beinhaltet alle Spender nach ihrer zweiten GS, Gruppe 3 nach ihrer dritten GS und Gruppe 4 nach ihrer vierten GS. Von 58 Granulozytenspendern spendeten 48 noch ein zweites Mal, 18 spendeten ein drittes und 10 ein viertes Mal.

#### 6.1.2 Blutbildparameter der Spender

In Tabelle 4 sind jeweils die Mittelwerte der entsprechenden Blutparameter der Spender vor und nach Stimulation mit G-CSF zusammengefasst.

**Tab. 4:** Mittelwerte der Blutparameter der Spender vor und nach Stimulation mit G-CSF  
*Abkürzungen:* WBC = Leukozyten, LC = Lymphozyten, nG = neutrophile Granulozyten, RBC = Erythrozyten, PLT = Thrombozyten, Hb = Hämoglobin, Hk = Hämatokrit

		Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4
WBC (x 10 <sup>9</sup> /l)	vor Stimulation	5,43	5,50	5,63	5,55
	nach Stimulation	21,98	23,74	25,25	26,70
LC (%)	vor Stimulation	29,87	30,03	30,23	29,03
	nach Stimulation	7,61	7,43	7,36	7,65
nG (%)	vor Stimulation	59,30	59,21	58,53	56,51
	nach Stimulation	86,32	86,64	86,28	86,47
RBC (x 10 <sup>12</sup> /l)	vor Stimulation	4,87	4,88	4,98	4,98
	nach Stimulation	4,89	4,73	4,79	4,75
PLT (x 10 <sup>9</sup> /l)	vor Stimulation	241	241	237	259
	nach Stimulation	211	210	206	231
Hb (mmol/l)	vor Stimulation	9,26	9,26	9,49	9,44
	nach Stimulation	9,31	9,00	9,09	8,95
Hk (%)	vor Stimulation	43	43	445	44
	nach Stimulation	43	42	43	38

### **6.1.3 Abhängigkeit verschiedener Blutparameter zur G-CSF-Dosis**

In Gruppe 1 wurden den Spendern durchschnittlich 3,22 µg/kg KG G-CSF (1,92 – 4,17) verabreicht. In Gruppe 2 waren es 3,19 µg/kg KG (1,92 – 3,93), in Gruppe 3 bekamen die Spender 3,16 µg/kg KG (2,58 – 3,93) und in Gruppe 4 waren es 3,19 µg/kg KG (2,77 – 3,61). Es ließ sich kein signifikanter Einfluss der G-CSF-Dosis auf die Blutbildveränderungen des Spenders feststellen, der in allen Gruppen einheitlich gewesen wäre.

In Gruppe 1 ließ sich eine positive Korrelation von 0,293 zwischen G-CSF-Dosis pro kg Körpergewicht und des relativen Leukozytenanstieges zeigen. Ebenso bestand eine positive Korrelation von 0,385 zwischen der G-CSF-Dosis pro kg Körpergewicht und dem Anstieg des Neutrophilenanteils des Spenderblutes der Gruppe 2. Beide Korrelationen waren signifikant, bestanden jedoch nicht in den anderen Gruppen.

Die G-CSF-Dosis korrelierte in Gruppe 2 positiv mit dem absoluten (0,312) und relativen (0,297) Erythrozytenanstieg sowie mit dem absoluten (0,349) und relativen (0,345) Hämatokritanstieg signifikant.

In Gruppe 4 bestand außerdem eine signifikante positive Korrelation zwischen G-CSF-Dosis und Thrombozytenabfall von 0,635.

## **6.2 Charakterisierung der gewonnenen Granulozytenpräparate**

### **6.2.1 Gruppeneinteilung der Granulozytenpräparate**

Die Gruppierung der Granulozytenpräparate erfolgte zur Erreichung der Ergebnisunabhängigkeit analog der Einteilung der Granulozytenspender. In Gruppe 1 beinhaltet alle GK's von Spendern nach ihrer ersten GS, Gruppe 2 beinhaltet alle GK's von Spendern nach ihrer zweiten GS, Gruppe 3 alle GK's von Spendern nach ihrer dritten Spende und Gruppe 4 alle GK's von Spendern nach ihrer vierten Spende. Von insgesamt 134 Präparaten wurden 58 in Gruppe 1, 48 in Gruppe 2, 18 in Gruppe 3 und 10 in Gruppe 4 zusammengefasst.

## 6.2.2 Parameter der Granulozytenpräparate

Tabelle 5 fasst die jeweiligen Mittelwerte der Konzentrat-Blutparameter nach der Präparation mittels Zellseparator zusammen.

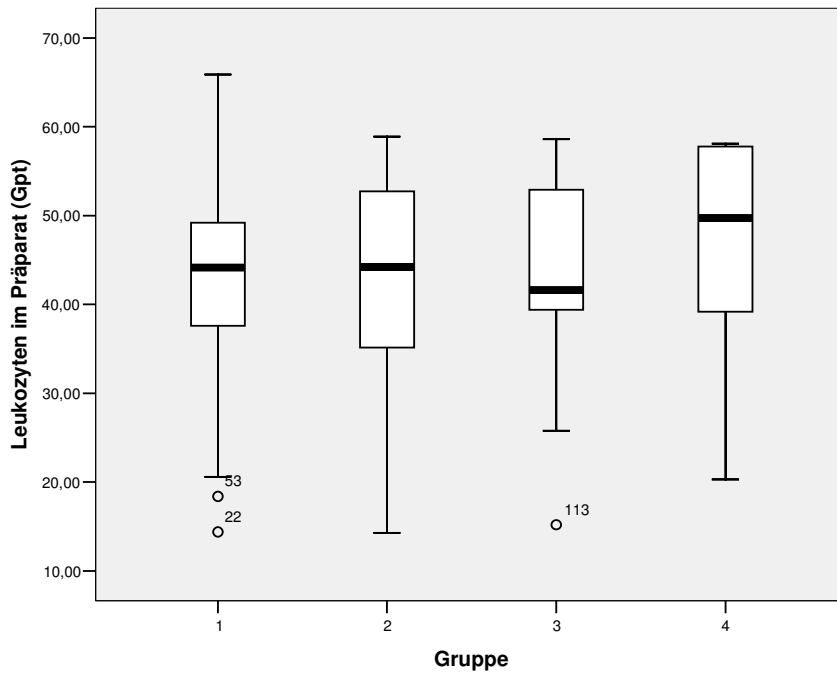
**Tab. 5:** Mittelwerte der Charakteristika der gewonnenen Granulozytenpräparate

*Abkürzungen:* WBC = Leukozyten, LC = Lymphozyten, nG = neutrophile Granulozyten, RBC = Erythrozyten, PLT = Thrombozyten, Hb = Hämoglobin, Hk = Hämatokrit

	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4
Dauer der Apherese (min)	126	120	115	119
Prozessvolumen (ml)	6863	6844	6517	6770
Verbrauch HES-Gemisch (ml)	532	537	505	523
Präparatevolumen (ml)	286	282	290	292
WBC ( $\times 10^{10}$ /Konzentrat)	4,29	4,22	4,41	4,62
nG (%)	83,48	81,72	82,67	82,31
LC (%)	9,17	10,0	9,69	11,44
PLT ( $\times 10^{10}$ /Konzentrat)	14,49	13,27	14,06	15,54
RBC ( $\times 10^{10}$ /Konzentrat)	19,9	18,87	23,38	23,44
Hk (%)	6,43	6,18	7,57	7,36
Granulozytensammlung-Effektivität (%)	17,71	15,84	16,5	15,6

## 6.2.3 Leukozytengehalt im Granulozytenpräparat

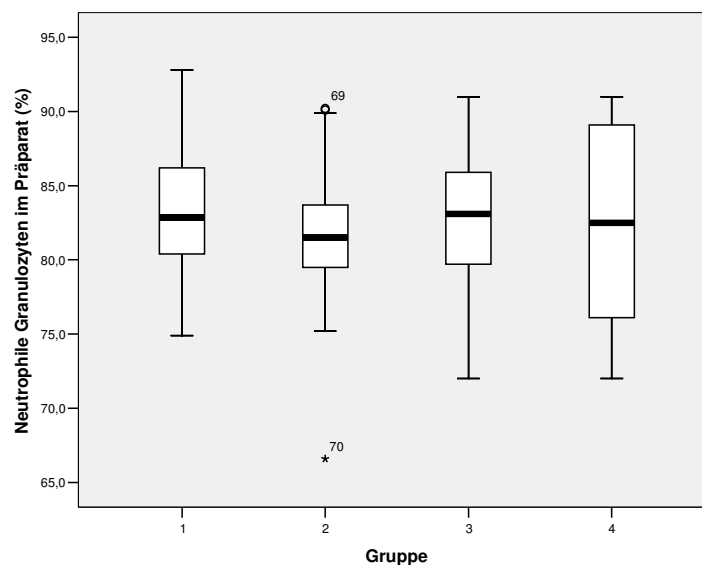
Die WBC in den Granulozytenpräparaten lag in Gruppe 1 bei einer Standardabweichung von  $1,05 \times 10^{10}$  zwischen  $1,44 \times 10^{10}$  und  $6,59 \times 10^{10}$  Zellen. In Gruppe 2 betrug die Standardabweichung  $1,26 \times 10^{10}$ . Hier lagen die WBC der Präparate zwischen  $1,43 \times 10^{10}$  und  $5,89 \times 10^{10}$ . Die Standardabweichung der Gruppe 3 betrug  $1,15 \times 10^{10}$ , bei einem Minimum von  $1,52 \times 10^{10}$  und einem Maximum von  $5,86 \times 10^{10}$  Zellen. Minimal waren in Gruppe 4  $2,03 \times 10^{10}$  und maximal  $5,81 \times 10^{10}$  WBC in den Präparaten enthalten, bei einer Standardabweichung von  $1,31 \times 10^{10}$ . (vgl. Abb. 7)



**Abb. 7:** WBC-Verteilung in den GK's der einzelnen Gruppen

### 6.2.4 Granulozytengehalt im Granulozytenpräparat

Der minimale und maximale Anteil der nG an den WBC in den Granulozytenpräparaten lag in Gruppe 1 bei 74,9 und 92,8% in Gruppe 2 bei 66,6 und 90,2% und in Gruppe 3 und 4 jeweils bei 72,0 und 91,0%. (vgl. Abb. 8)

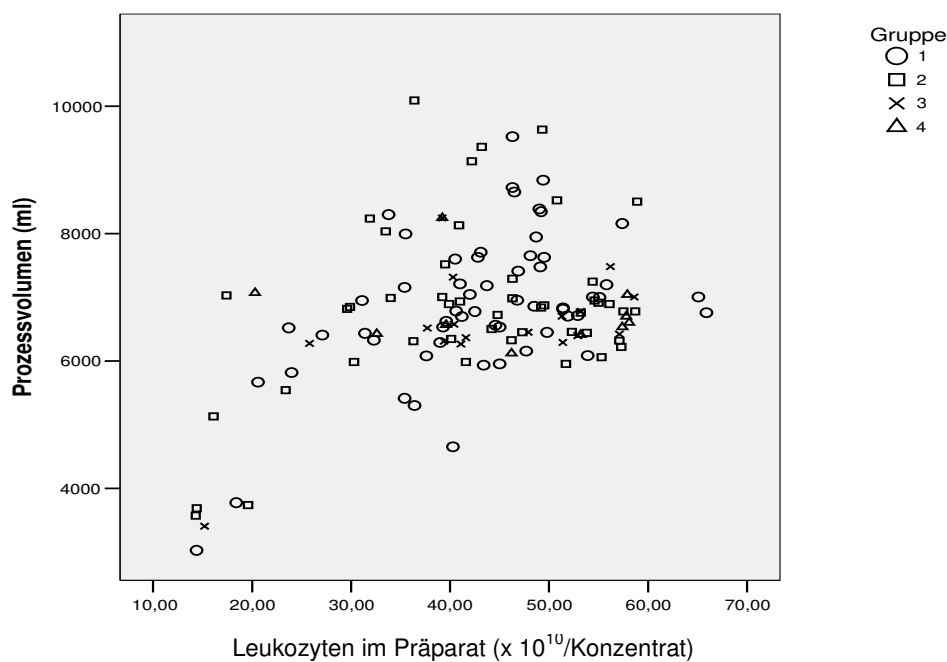


**Abb. 8:** Verteilung der nG in den GK's der einzelnen Gruppen



## 6.2.5 Leukozytengehalt im Präparat in Abhängigkeit vom prozessierten Volumen

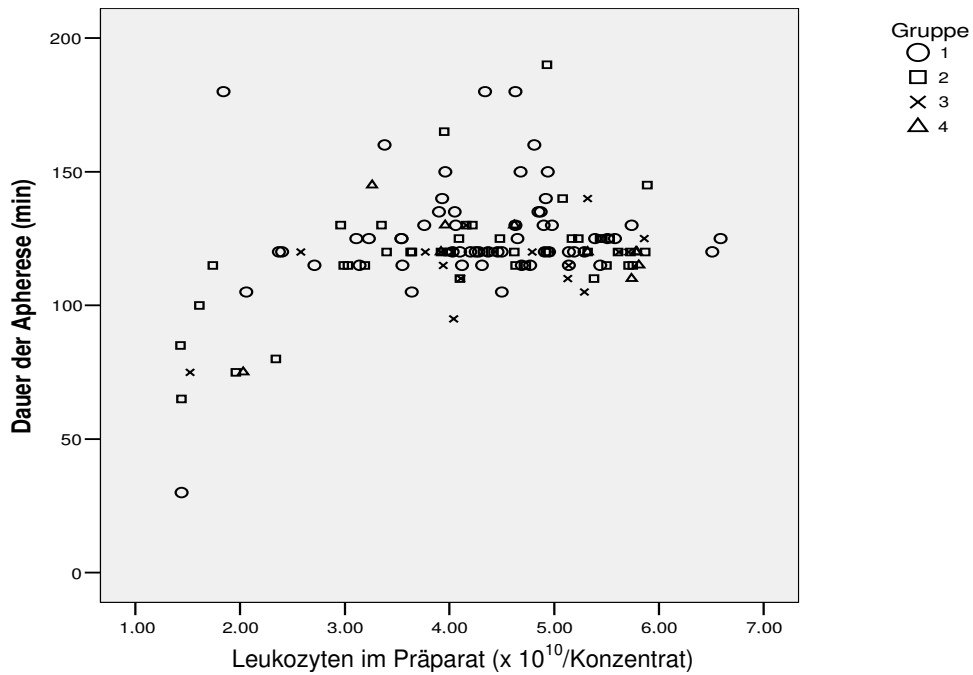
Die Anzahl der WBC im Präparat korreliert signifikant positiv in Gruppe 1 bis 3 mit der Größe des prozessierten Volumens während der Apherese. In Gruppe 1 ließ sich ein Stichproben-Maßkorrelationskoeffizient von 0,508 berechnen, in Gruppe 2 von 0,391 und in Gruppe 3 von 0,582. (vgl. Abb. 9)



**Abb. 9:** WBC im GK in Abhängigkeit vom prozessierten Volumen

## 6.2.6 Leukozytengehalt im Präparat in Abhängigkeit von der Apheresedauer

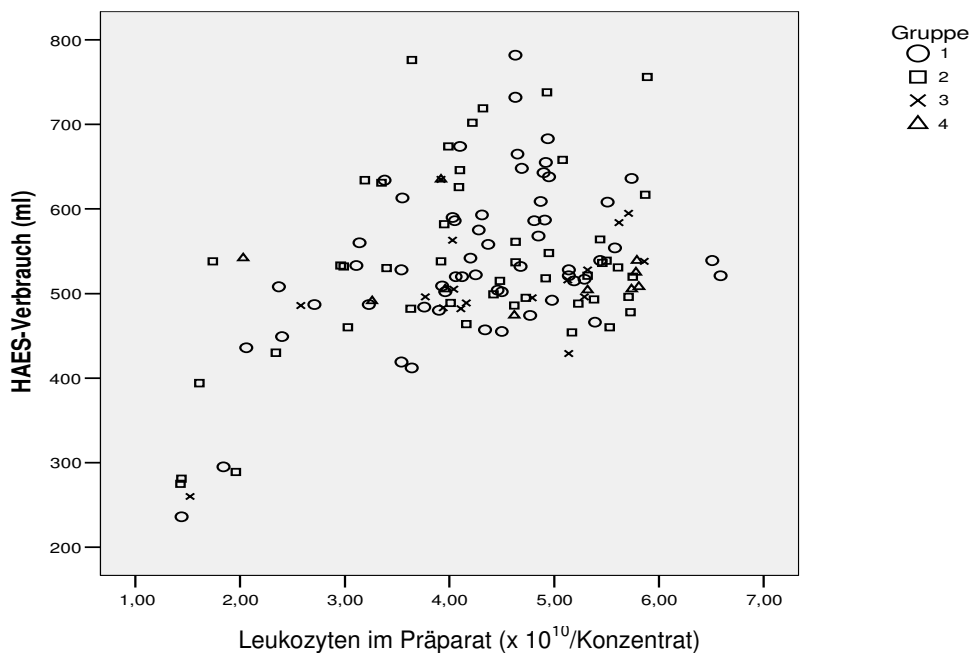
In Gruppe 2 und 3 zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Dauer der Apherese und den WBC im Präparat. In Gruppe 2 korrelierten die beiden Werte mit einem Koeffizienten von 0,515 und in Gruppe 3 mit 0,546. (vgl. Abb. 10)



**Abb. 10:** WBC im GK in Abhängigkeit von der Apheresedauer

### 6.2.7 Leukozytengehalt im Präparat in Abhängigkeit vom HES-Verbrauch

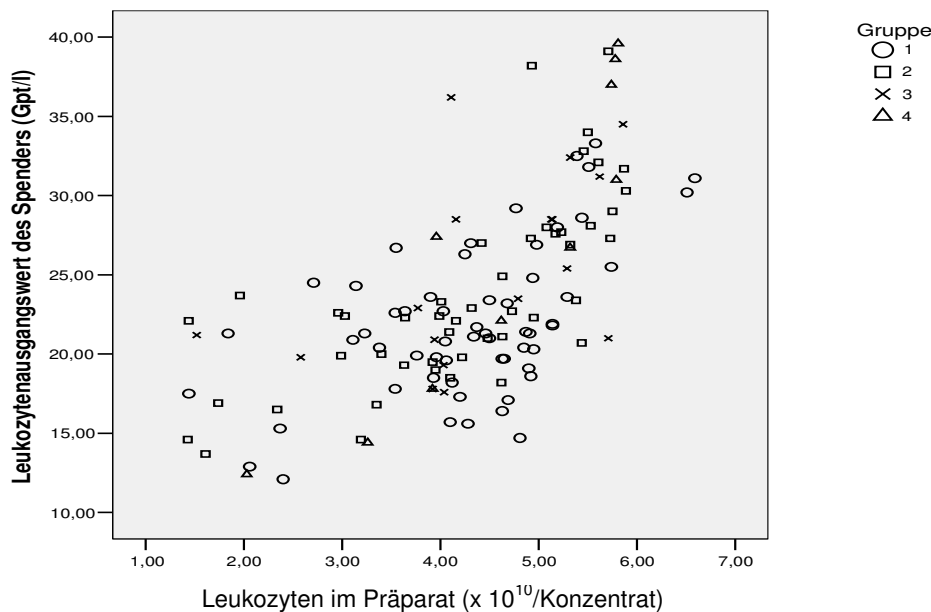
Je größer der HES-Verbrauch während der Sedimentation war, um so größer waren die WBC im gewonnenen Präparat. Dieser Zusammenhang bestand signifikant in Gruppe 1 mit einem Korrelationskoeffizient von 0,490, in Gruppe 2 mit 0,406 und in Gruppe 3 mit 0,612. (vgl. Abb. 11)



**Abb. 11:** WBC im GK in Abhängigkeit vom HES-Verbrauch

### 6.2.8 Leukozytengehalt im Präparat in Abhängigkeit vom Leukozyten-Ausgangswert des Spenders nach G-CSF-Gabe und vor Apherese

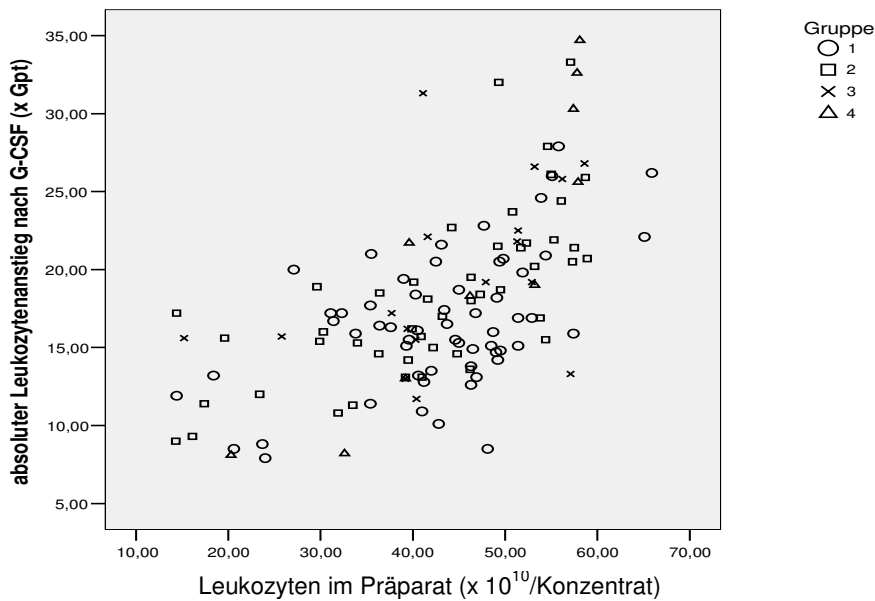
In allen 4 Gruppe bestand eine signifikante Korrelation zwischen der WBC des mit G-CSF behandelten Spenders vor der Apherese und der WBC im anschließend gewonnenen Präparat. Je mehr WBC der Spender vor Apherese hatte, desto mehr WBC befanden sich im separierten Granulozytenpräparat. In Gruppe 1 lag der Korrelationskoeffizient bei 0,551, in Gruppe 2 bei 0,771, in Gruppe 3 bei 0,510 und in Gruppe 4 bei 0,901. (vgl. Abb. 12)



**Abb. 12:** WBC im GK in Abhängigkeit vom Leukozytenausgangswert des Spenders

### 6.2.9 Leukozytengehalt im Präparat in Abhängigkeit vom Mobilisierungseffektes des Spenders nach G-CSF-Gabe

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Höhe des absoluten Anstieges der WBC im peripheren Blut des Spenders nach G-CSF-Gabe und der WBC im Präparat ließ sich in Gruppe 1 mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,530, in Gruppe 2 mit 0,693 und in Gruppe 4 mit 0,884 feststellen. (vgl. Abb.13)



**Abb. 13:** WBC im GK in Abhängigkeit vom Leukozytenanstieg des Spenders nach G-CSF-Gabe

### 6.2.10 Granulozytenanteil im Präparat in Abhängigkeit vom Spender und Apherese

Es ließen sich keine einheitlichen Abhängigkeiten der nG im Präparat vom Prozessvolumen, HAES-Verbrauch, Dauer der Apherese, Ausgangsgranulozytenanteil des Spenders und Anstieg der nG des Spenders nach G-CSF-Gabe oder vom Hämatokritwert des Präparates, noch ein Hämatokritbereich in welchem die nG am besten zu Sammeln gewesen wäre, feststellen. Nur in Gruppe 4 bestand eine signifikante Korrelationen zwischen der Höhe der nG im GK und des Ausgangswertes sowie zum Anstieg der nG des Spenders nach G-CSF-Gabe. Der Korrelatinskoeffizient lag bei 0,820 bzw. 0,777.

## 6.3 Empfängereffekte

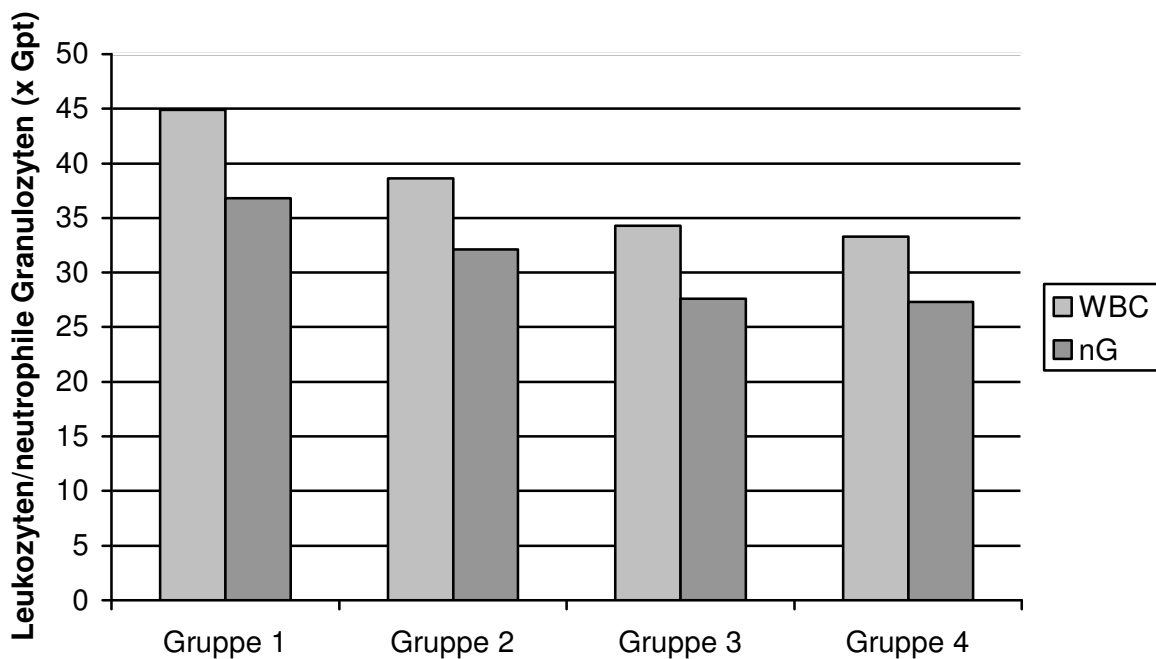
### 6.3.1 Gruppeneinteilung der Empfänger

Zur Auswertung wurden die Empfänger der Granulozyten in 4 Gruppen eingeteilt. Gruppe 1 enthält alle Patienten nach der ersten GTX und umfasst 26 Personen. Gruppe 2 enthält die Patienten nach der zweiten GTX und beinhaltet 22 Personen. Die Gruppe 3 beinhaltet mit einer Anzahl von 13 das Patientengut nach der dritten

GTX, Gruppe 4 fasst mit einem Umfang von 10 Personen alle Patienten nach der vierten GTX zusammen. Patienten, die mehr als 4 GTX erhielten, wurden nicht in die Auswertung einbezogen, weil eine weiterführende Gruppeneinteilung der Empfänger wegen der zu geringen Patientenanzahl nicht statistisch verwertbar gewesen wäre.

### 6.3.2 Transfundierte Leukozyten und neutrophile Granulozyten pro m<sup>2</sup> KOF

Durchschnittlich wurden bei jeder durchgeführten GTX in Gruppe 1  $4,49 \times 10^{10}$  WBC/Konzentrat, in Gruppe 2  $3,86 \times 10^{10}$  WBC/Konzentrat, in Gruppe 3  $3,43 \times 10^{10}$  WBC/Konzentrat und in Gruppe 4  $3,33 \times 10^{10}$  WBC/Konzentrat übertragen. Das bedeutete in Gruppe 1  $3,68 \times 10^{10}$ , in Gruppe 2  $3,21 \times 10^{10}$  in Gruppe 3  $2,76 \times 10^{10}$  und in Gruppe 4  $2,73 \times 10^{10}$  nG/m<sup>2</sup> KOF des Empfängers und Transfusion. (vgl. Abb. 14)



**Abb. 14:** pro Transfusion durchschnittlich übertragene WBC bzw. nG/m<sup>2</sup> KOF des Empfängers

### 6.3.3 Verteilung der körperoberflächenbezogenen Leukozytentransfusion innerhalb der einzelnen Gruppen

In Gruppe 1 erhielten die Empfänger zwischen  $2,04 - 10,79 \times 10^{10}$  WBC/m<sup>2</sup> KOF mit jeder Transfusion verabreicht, bei einer Standardabweichung von  $2,21 \times 10^{10}$ .

Die minimale bzw. maximale Leukozytendosis/m<sup>2</sup> KOF in der Gruppe 2 lag bei  $1,16 \times 10^{10}$  bzw.  $8,54 \times 10^{10}$  je Transfusion, bei einer Standardabweichung von  $1,61 \times 10^{10}$ .

In Gruppe 3 betrug die Standardabweichung  $0,78 \times 10^{10}$ , bei minimal  $2,43 \times 10^{10}$  und maximal  $4,84 \times 10^{10}$  WBC/m<sup>2</sup> KOF und Transfusion.

In Gruppe 4 betrug die Maximaldosis  $4,28 \times 10^{10}$  und die Minimaldosis  $2,2 \times 10^{10}$  WBC/m<sup>2</sup> KOF und Transfusion. Die Standardabweichung lag hier bei  $0,65 \times 10^{10}$ . (vgl. Abb. 15)

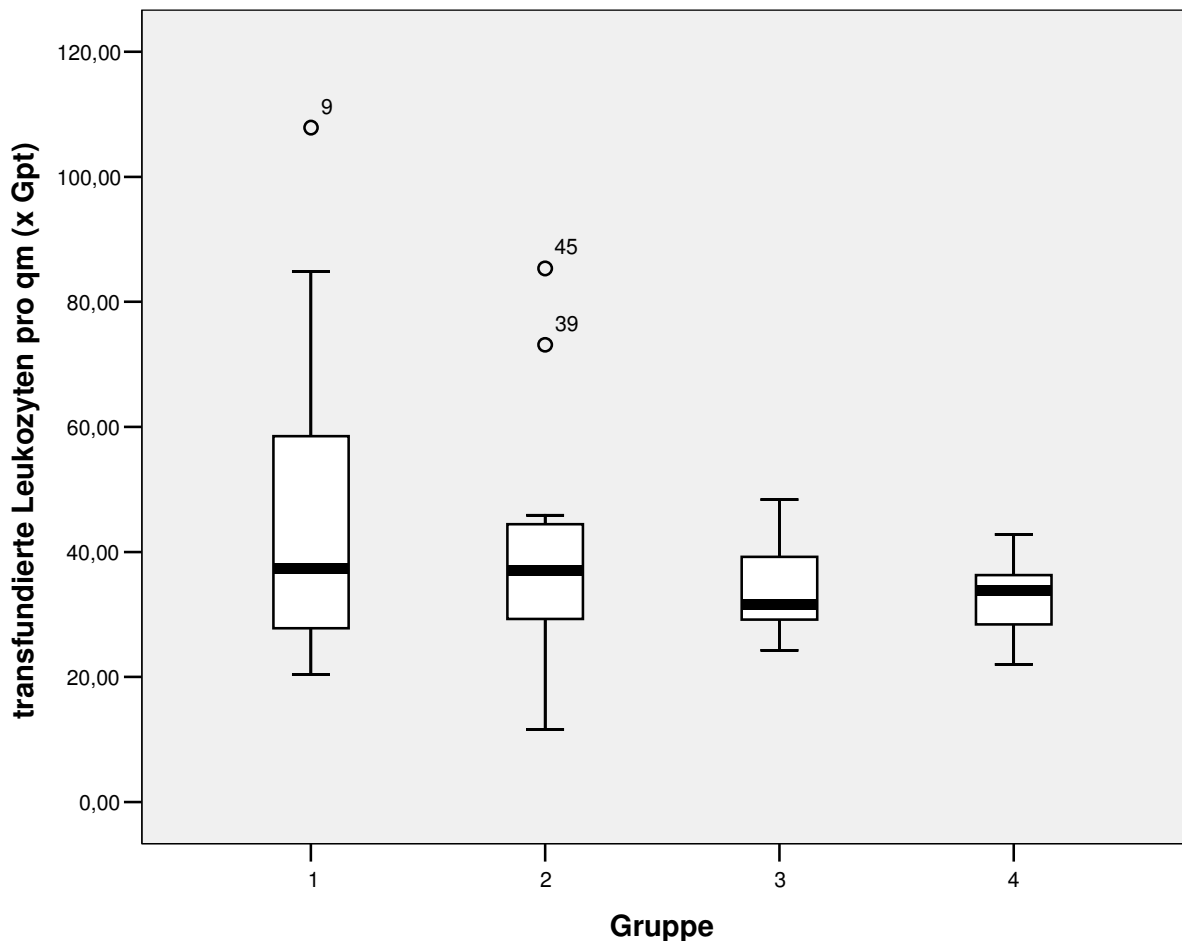


Abb. 15: Verteilung der transfundierten WBC/m<sup>2</sup> KOF des Empfängers

### 6.3.4 Verteilung der körperoberflächenbezogenen neutrophilen Granulozytentransfusion innerhalb der einzelnen Gruppen

Die minimale und maximale Dosis  $\text{nG/m}^2$  KOF des Empfängers lag in Gruppe 1 bei  $1,69 \times 10^{10}$  und  $9,07 \times 10^{10}$ , in Gruppe 2 bei  $0,85 \times 10^{10}$  und  $7,16 \times 10^{10}$ , in Gruppe 3 bei  $1,98 \times 10^{10}$  und  $3,99 \times 10^{10}$ , sowie in Gruppe 4 bei  $1,68 \times 10^{10}$  und  $3,58 \times 10^{10}$ . Die Standardabweichung lag dabei bei  $1,84 \times 10^{10}$ ,  $1,37 \times 10^{10}$ ,  $0,56 \times 10^{10}$  und  $0,56 \times 10^{10}$ . (vgl. Abb. 16)

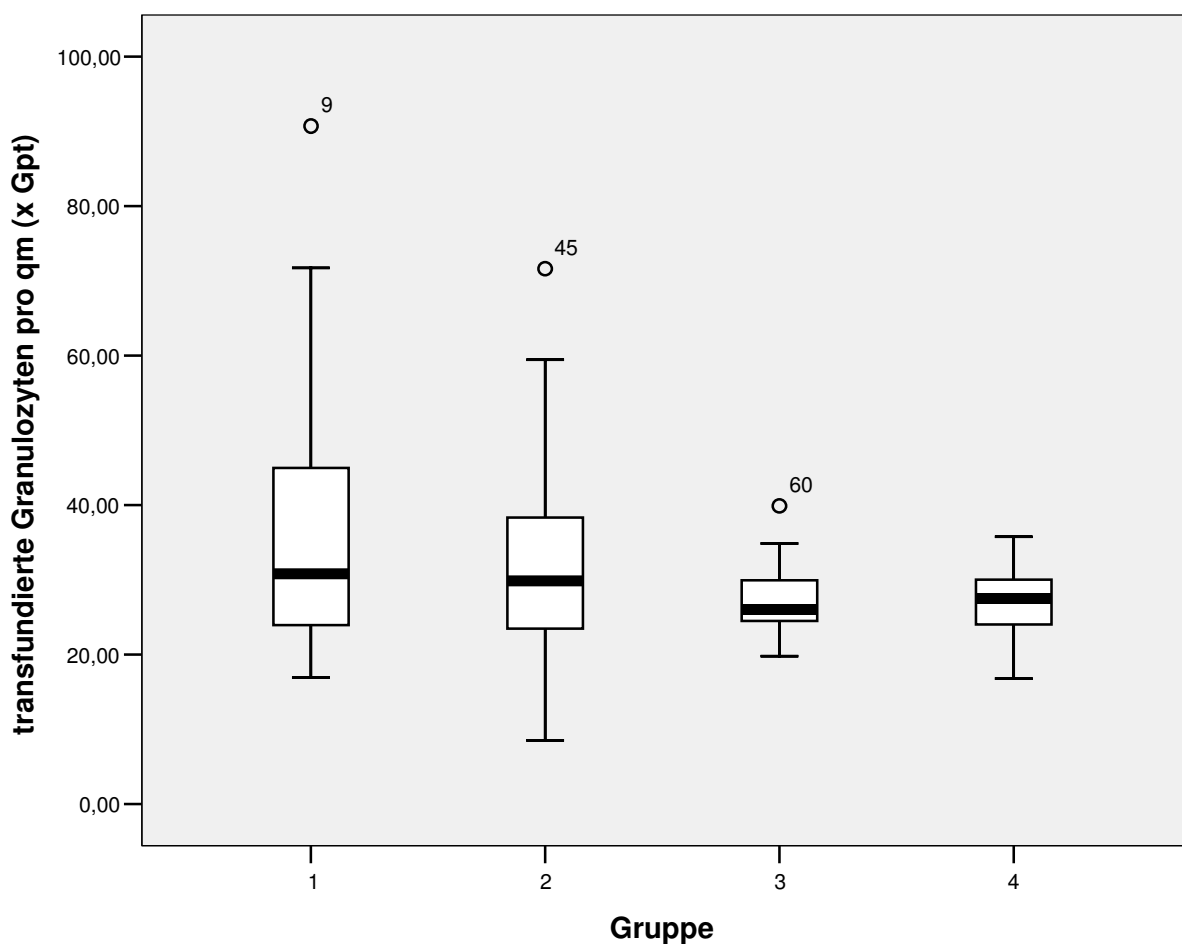


Abb. 16: Verteilung der transfundierten  $\text{nG/m}^2$  KOF des Empfängers

### 6.3.5 Veränderung der Blutparameter und Sauerstoffsubstitution nach Granulozytentransfusion allgemein

Die Mittelwerte der nach dem Erhalt der GTX stattgefundenen Veränderungen im Blutbild der Empfänger bzw. die Veränderung der therapeutischen Sauerstoffsubstitution sind in Tabelle 6 zusammengefasst. Als Ausgangswerte wurden Blutbilduntersuchungen herangezogen, die nicht länger als 12 Stunden vor der Granulozytentransfusion gemacht wurden. Die Blutbilduntersuchungen nach Beendigung der GTX erfolgte nicht später als 12 Stunden nach Transfusionsbeginn. Gleiches gilt für die Werte der Sauerstoffsubstitution. Per Vorzeichen-Test können die Anstiege der WBC in Gruppe 1 und 2, und der CrP-Abfall in Gruppe 1 als signifikant gewertet werden.

**Tab. 6:** Veränderungen der Blutparameter bzw. Sauerstoffsubstitution nach GTX  
*Abkürzungen:* WBC = Leukozyten, RBC = Erythrozyten, PLT = Thrombozyten, Hb = Hämoglobin, Hk = Hämatokrit, CrP = C-reaktives Protein, GTX = Granulozytentransfusion

		Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4
WBC (x 10 <sup>9</sup> /l)	vor GTX	0,29	2,31	1,25	1,17
	nach GTX	1,49	3,42	1,65	1,26
RBC (x 10 <sup>12</sup> /l)	vor GTX	2,69	2,79	2,72	2,85
	nach GTX	2,83	2,96	2,83	3,01
PLT (x 10 <sup>9</sup> /l)	vor GTX	32,31	44,55	42,77	48,00
	nach GTX	44,77	42,68	40,13	48,6
Hb (mmol/l)	vor GTX	5,09	5,37	5,51	5,35
	nach GTX	5,26	5,54	5,48	5,68
Hk (%)	vor GTX	22,92	24,23	23,85	24,3
	nach GTX	24,42	25,05	24,92	26,8
CrP (mg/l)	vor GTX	142,7	123,99	141,88	131,98
	nach GTX	119,92	115,21	115,15	130,36
O <sub>2</sub> -Substitution (l)	vor GTX	0,69	1,36	0,77	0,8
	nach GTX	0,81	1,18	0,77	0,5



### 6.3.6 Gruppenspezifische Empfängereffekte in Abhängigkeit von der Transplantationsart und dem Transplantationsmaterial

Die nachfolgenden Tabellen 7 bis 10 fassen jeweils die Mittelwerte der WBC und des CrP-Wertes im peripheren Blut der Empfänger, sowie die Höhe der Sauerstoffsubstitution vor und nach GTX zusammen.

**Tab. 7:** Empfängereffekte in Gruppe 1 nach Transplantationsart und –material unterschieden  
*Abkürzungen:* GTX = Granulozytentransfusion, n = Anzahl, KMTX = Knochenmarkstransplantation, SZTX = Stammzelltransplantation, TX = Transplantation

Transplan- tationsart	Trans- plantations- material		WBC (x 10 <sup>9</sup> /l)	CrP (mg/l)	Sauerstoff- substitution (l)
keine TX		vor GTX	0,38	145,56	1,09
		nach GTX	2,26	105,58	1,36
		n	11	11	11
allogene TX		vor GTX	0,23	131,2	0,36
		nach GTX	11	131,21	0,36
		n		11	11
autologe TX		vor GTX	0,1	211,05	0
		nach GTX	2,35	161,6	0
		n	2	2	2
haploidente TX		vor GTX	0,4	121,85	1,0
		nach GTX	0,35	95,05	1,0
		n	2	2	2
KMTX		vor GTX	0,2	118,91	0,43
		nach GTX	0,81	118,51	0,57
		n	7	7	7
SZTX		vor GTX	0,26	159,58	0,38
		nach GTX	1,05	140,88	0,25
		n	8	8	8
allogene	KMTX	vor GTX	0,2	109,88	0,5
		nach GTX	0,88	112,67	0,67
		n	6	6	6
	SZTX	vor GTX	0,26	156,78	0,2
		nach GTX	6,8	153,46	0
		n	5	5	5
autologe	SZTX	vor GTX	0,1	211,05	0
		nach GTX	2,35	161,6	0
		n	2	2	2
haploidente	KMTX	vor GTX	0,2	173,1	0
		nach GTX	0,4	153,6	0
		n	1	1	1
	SZTX	vor GTX	0,6	70,6	2,0
		nach GTX	0,3	36,5	2,0
		n	1	1	1

**Tab. 8:** Empfängereffekte in Gruppe 2 nach Transplantationsart und –material unterschieden  
*Abkürzungen:* GTX = Granulozytentransfusion, n = Anzahl, KMTX = Knochenmarkstransplantation, SZTX = Stammzelltransplantation, TX = Transplantation

Transplan- tationsart	Trans- plantations- material		WBC (x 10 <sup>9</sup> /l)	CrP (mg/l)	Sauerstoff- substitution (l)
keine TX	vor GTX		2,2	105,87	1,56
	nach GTX		2,72	98,13	1,78
	n		9	9	9
allogene TX	vor GTX		2,72	138,2	1,33
	nach GTX		4,4	142,51	0,67
	n		9	9	9
autologe TX	vor GTX		2,3	140,0	0
	nach GTX		3,75	113,95	0
	n		2	2	2
haploidente TX	vor GTX		0,9	125,6	2,0
	nach GTX		1,8	70,4	2,0
	n		2	2	2
KMTX	vor GTX		3,8	123,8	1,0
	nach GTX		6,33	104,53	0,83
	n		6	6	6
SZTX	vor GTX		1,16	147,46	1,43
	nach GTX		1,81	146,3	0,71
	n		7	7	7
allogene	KMTX	vor GTX	4,4	121,0	1,2
		nach GTX	7,1	105,24	1,0
		n	5	5	5
	SZTX	vor GTX	0,63	159,7	1,5
		nach GTX	1,03	189,1	0,25
		n	4	4	4
autologe	SZTX	vor GTX	2,3	140,0	0
		nach GTX	3,75	113,95	0
		n	2	2	2
haploidente	KMTX	vor GTX	0,8	137,8	0
		nach GTX	2,5	101,0	0
		n	1	1	1
	SZTX	vor GTX	1	113,4	4,0
		nach GTX	1,1	39,8	4,0
		n	1	1	1

**Tab. 9:** Empfängereffekte in Gruppe 3 nach Transplantationsart und –material unterschieden  
*Abkürzungen:* GTX = Granulozytentransfusion, n = Anzahl, KMTX = Knochenmarkstransplantation, SZTX = Stammzelltransplantation, TX = Transplantation

Transplan- tationsart	Trans- plantations- material		WBC (x 10 <sup>9</sup> /l)	CrP (mg/l)	Sauerstoff- substitution (l)
keine TX	vor GTX		2,23	111,23	0,67
	nach GTX		2,6	93,23	1,0
	n		3	3	3
allogene TX	vor GTX		0,97	178,48	0,83
	nach GTX		1,02	146,42	0,67
	n		6	6	6
autologe TX	vor GTX		0,25	110,75	0
	nach GTX		2,0	91,3	0
	n		2	2	2
haploidente TX	vor GTX		1,6	109,15	1,5
	nach GTX		1,75	78,05	1,5
	n		2	2	2
KMTX	vor GTX		1,43	145,17	1,33
	nach GTX		1,37	136,37	0,67
	n		3	3	3
SZTX	vor GTX		0,74	153,6	0,57
	nach GTX		1,36	115,44	0,71
	n		7	7	7
allogene	KMTX	vor GTX	0,9	167,25	2,0
		nach GTX	0,6	145,1	1,0
		n	2	2	2
	SZTX	vor GTX	1,0	184,1	0,25
		nach GTX	1,23	147,08	0,5
		n	4	4	4
autologe	SZTX	vor GTX	0,25	110,75	0
		nach GTX	2,0	91,3	0
		n	2	2	2
haploidente	KMTX	vor GTX	2,5	101,0	0
		nach GTX	2,9	118,9	0
		n	1	1	1
	SZTX	vor GTX	0,7	117,3	3,0
		nach GTX	0,6	37,2	3,0
		n	1	1	1

**Tab. 10:** Empfängereffekte in Gruppe 4 nach Transplantationsart und –material unterschieden  
*Abkürzungen:* GTX = Granulozytentransfusion, n = Anzahl, KMTX = Knochenmarkstransplantation, SZTX = Stammzelltransplantation, TX = Transplantation

Transplan- tationsart	Trans- plantations- material		WBC (x 10 <sup>9</sup> /l)	CrP (mg/l)	Sauerstoff- substitution (l)
keine TX	vor GTX		1,3	139,6	1,5
	nach GTX		2,1	207,75	1,5
	n		2	2	2
allogene TX	vor GTX		0,82	163,52	0,8
	nach GTX		0,82	112,6	0,2
	n		5	5	5
autologe TX	vor GTX		3,0	70,3	0
	nach GTX		3,3	151,7	0
	n		1	1	1
haploidente TX	vor GTX		1,0	76,35	0,5
	nach GTX		0,5	86,7	0,5
	n		2	2	2
KMTX	vor GTX		0,97	142,3	0,67
	nach GTX		0,63	105,4	0,33
	n		3	3	3
SZTX	vor GTX		1,24	122,74	0,6
	nach GTX		1,3	114,38	0,2
	n		5	5	5
allogene	KMTX	vor GTX	0,6	145,1	1,0
		nach GTX	0,55	75,5	0,5
		n	2	2	2
	SZTX	vor GTX	0,967	175,8	0,67
		nach GTX	1,0	137,33	0
		n	3	3	3
autologe	SZTX	vor GTX	3,0	70,3	0
		nach GTX	3,3	151,7	0
		n	1	1	1
haploidente	KMTX	vor GTX	1,7	136,7	0
		nach GTX	0,8	165,2	0
		n	1	1	1
	SZTX	vor GTX	0,3	16,0	1,0
		nach GTX	0,2	8,2	1,0
		n	1	1	1

Die per Mann-Whitney-U-Test durchgeführte Analyse der Ergebnisse erbrachte keine signifikanten Unterschiede in der Veränderung der Parameter WBC-Anstieg, CrP-Abfall und Sauerstoffsubstitutionsänderung bezüglich der Vergleiche Transplantation vs. keine Transplantation und KMTX vs. SZTX.

### 6.3.7 Gruppenspezifische Empfängereffekte in Abhängigkeit von der Diagnose des Empfängers

Die nachfolgenden Tabellen 11 bis 14 fassen jeweils die Mittelwerte der WBC und des CrP-Wertes im peripheren Blut der Empfänger, sowie die Höhe der Sauerstoffsubstitution vor und nach GTX zusammen. Dabei wird nach der Diagnose der Empfänger unterschieden.

**Tab. 11:** Empfängereffekte in Gruppe 1 nach Diagnosen der Empfänger unterschieden  
Abkürzungen: GTX = Granulozytentransfusion, n = Anzahl

Diagnose		WBC ( $\times 10^9/l$ )	CrP (mg/l)	Sauerstoff- substitution (l)
Neoplasie des Hämatopoetischen Systems	vor GTX	0,28	134,93	0,56
	nach GTX	1,45	116,63	0,67
	n	18	18	18
andere Erkrankung	vor GTX	0,33	160,19	1,0
	nach GTX	1,6	127,33	1,13
	n	8	8	8

**Tab. 12:** Empfängereffekte in Gruppe 2 nach Diagnosen der Empfänger unterschieden  
Abkürzungen: GTX = Granulozytentransfusion, n = Anzahl

Diagnose		WBC ( $\times 10^9/l$ )	CrP (mg/l)	Sauerstoff- substitution (l)
Neoplasie des Hämatopoetischen Systems	vor GTX	2,69	122,91	1,47
	nach GTX	3,89	119,99	1,13
	n	15	15	15
andere Erkrankung	vor GTX	1,47	126,3	1,14
	nach GTX	2,41	104,94	1,29
	n	7	7	7

**Tab. 13:** Empfängereffekte in Gruppe 3 nach Diagnosen der Empfänger unterschieden  
Abkürzungen: GTX = Granulozytentransfusion, n = Anzahl

Diagnose		WBC ( $\times 10^9/l$ )	CrP (mg/l)	Sauerstoff- substitution (l)
Neoplasie des Hämatopoetischen Systems	vor GTX	1,32	152,19	1,0
	nach GTX	1,45	119,54	1,0
	n	10	10	10
andere Erkrankung	vor GTX	1,0	107,5	0
	nach GTX	2,3	100,5	0
	n	3	3	3

**Tab. 14:** Empfängereffekte in Gruppe 4 nach Diagnosen der Empfänger unterschieden  
*Abkürzungen:* GTX = Granulozytentransfusion, n = Anzahl

Diagnose		WBC (x 10 <sup>9</sup> /l)	CrP (mg/l)	Sauerstoff- substitution (l)
Neoplasie des Hämatopoetischen Systems	vor GTX	0,88	139,1	1,0
	nach GTX	1,06	123,34	0,63
	n	8	8	8
andere Erkrankung	vor GTX	2,35	103,5	0
	nach GTX	2,05	158,45	0
	n	2	2	2

Es konnte nicht gezeigt werden, dass zwischen der Patientengruppe mit Neoplasien des hämatopoetischen Systems und der Patientengruppe mit anderen Erkrankungen ein signifikanter Unterschied im Ausmaß des WBC-Anstieges, des CrP-Abfalls und der Sauerstoffsubstitutionsveränderung bestand.

### 6.3.8 Gruppenspezifische Empfängereffekte in Abhängigkeit vom Überleben der Empfänger

Die nachfolgenden Tabellen 15 bis 18 fassen jeweils die Mittelwerte der WBC und des CrP-Wertes im peripheren Blut der Empfänger, sowie die Höhe der Sauerstoffsubstitution vor und nach GTX zusammen. Dabei wird nach dem Überleben der Empfänger unterschieden.

**Tab. 15:** Empfängereffekte in Gruppe 1 nach Überleben der Empfänger unterschieden  
*Abkürzungen:* GTX = Granulozytentransfusion, n = Anzahl,

Überleben		WBC (x 10 <sup>9</sup> /l)	CrP (mg/l)	Sauerstoff- substitution (l)
überlebt	vor GTX	0,35	136,87	0,4
	nach GTX	1,71	98,45	0,53
	n	15	15	15
verstorben	vor GTX	0,22	150,66	1,09
	nach GTX	1,21	149,21	1,18
	n	11	11	11

**Tab. 16:** Empfängereffekte in Gruppe 2 nach Überleben der Empfänger unterschieden  
*Abkürzungen:* GTX = Granulozytentransfusion, n = Anzahl

Überleben		WBC (x 10 <sup>9</sup> /l)	CrP (mg/l)	Sauerstoff- substitution (l)
überlebt	vor GTX	1,79	97,52	0,64
	nach GTX	1,94	93,19	0,91
	n	11	11	11
verstorben	vor GTX	2,82	150,46	2,09
	nach GTX	4,9	137,22	1,45
	n	11	11	11

**Tab. 17:** Empfängereffekte in Gruppe 3 nach Überleben der Empfänger unterschieden  
*Abkürzungen:* GTX = Granulozytentransfusion, n = Anzahl

Überleben		WBC (x 10 <sup>9</sup> /l)	CrP (mg/l)	Sauerstoff- substitution (l)
überlebt	vor GTX	1,18	132,12	1,2
	nach GTX	1,8	79,72	1,0
	n	5	5	5
verstorben	vor GTX	1,29	147,98	0,5
	nach GTX	1,55	137,29	0,63
	n	8	8	8

**Tab. 18:** Empfängereffekte in Gruppe 4 nach Überleben der Empfänger unterschieden  
*Abkürzungen:* GTX = Granulozytentransfusion, n = Anzahl

Überleben		WBC (x 10 <sup>9</sup> /l)	CrP (mg/l)	Sauerstoff- substitution (l)
überlebt	vor GTX	0,4	99,75	2,5
	nach GTX	1,15	153,3	2,0
	n	2	2	2
verstorben	vor GTX	1,36	140,04	0,38
	nach GTX	1,29	124,63	0,13
	n	8	8	8

Es konnte nicht gezeigt werden, dass zwischen der Gruppe überlebender Patienten und der später verstorbenen Patientengruppe ein signifikanter Unterschied im Ausmaß des WBC-Anstieges, des CrP-Abfalls und der Sauerstoffsubstitutionsveränderung bestand.

### **6.3.9 Abhängigkeiten der Empfängereffekte von der körperoberflächenbezogenen Dosis transfundierter Leukozyten bzw. neutrophile Granulozyten**

Es konnte in Gruppe 1 eine signifikante Korrelationen zwischen der Höhe des relativen CrP-Abfalls im Empfänger und der Menge an übertragenen WBC/m<sup>2</sup> KOF (Korrelationskoeffizienten von 0,420) ermittelt werden. Die Höhe des relativen CrP-Abfalls im Empfänger in Gruppe 1 korrelierte ebenfalls signifikant mit der Menge an transfundierten nG/m<sup>2</sup> KOF des Empfängers (Korrelationskoeffizienten von 0,425).

In keiner Gruppe konnte eine signifikante Korrelation zwischen absolutem und relativem Leukozytenanstieg im Empfänger und transfundierten WBC/m<sup>2</sup> KOF des Empfängers festgestellt werden. Ebenso bestand kein signifikanter Zusammenhang zwischen absolutem CrP-Abfall in allen Gruppen sowie relativem CrP-Abfall in Gruppe 2 – 4 und transfundierten WBC bzw. nG/m<sup>2</sup> KOF des Empfängers. Auch bezüglich der Sauerstoff-Substitutionsänderung und WBC bzw. nG/m<sup>2</sup> KOF wurden keine signifikanten Korrelationen nachgewiesen.



## 7 Diskussion

### 7.1 Spender

In der vorliegenden Untersuchung wurden zwischen Januar 2003 und Februar 2005 134 Leukapheresen an 58, ausschließlich männlichen, gesunden Spendern durchgeführt.

In dieser Arbeit wurde zur Mobilisierung der nG mittels G-CSF dem Präparat Lenograstim der Vorzug gegenüber dem Präparat Filgrastim gegeben. Lenograstim ist dem natürlichen G-CSF-Molekül vollständig identisch, wohingegen das ebenfalls häufig verwendete Filgrastim rekombinant hergestellt wird und an Stelle Thr-133 nicht O-glykosyliert ist (50). Vergleichende Untersuchungen über die Effektivität in vitro zeigten eine bis zu 25% höhere Potenz von Lenograstim im Gegensatz zu Filgrastim. Pedrazzoli et al. (71) zeigten 1996 eine größere Kapazität zur Wachstumsstimulation in Kolony-Assays sowie in ex-vivo-Experimenten und Querol et al. (75) konnten 1999 bei Mäusen eine höhere Generation von nukleären Zellen sowie CFU-GM und CD34+ Zellen unter Behandlung von O-glykosyliertem G-CSF im Vergleich zu nicht glykosyliertem G-CSF zeigen. Untersuchungen von Oh-Eda et al. (68) legen die Vermutung nahe, dass dieser Effekt durch eine größere Instabilität von nichtglykosyliertem G-CSF auf Grund einer höheren Anfälligkeit gegenüber Polymerisation und Denaturierung zustande kommt. Wang et al. (95) beschrieben eine generelle Stabilität von Glykoproteinen gegen Aggregation durch Glykosylierung mit Oligosacchariden. Querol et al. (75) unterstrichen diese Vermutung, indem sie zeigten, dass durch tägliche Sättigung des G-CSF-Spiegels die Unterschiede in der Potenz zwischen beiden G-CSF-Formen verschwinden.

Bei in-vivo-Untersuchungen wird der Vorteil von Lenograstim kontrovers diskutiert. Veröffentlichungen von Watts et al. (96) und Høglund et al. (38) beispielsweise beschreiben eine zum Teil erheblich größere Mobilisation von GFU-GM bzw. CD34+ und GFU-GM mit Lenograstim als mit Filgrastim. Andere Autoren wie Schiødt et al. (82), Saccardi et al. (81) und Lefrere et al. (55) konnten in ihren Studien keinen Unterschied hinsichtlich der Effektivität zwischen den beiden Formen von G-CSF belegen. Auch wenn bei Filgrastim als älteres Präparat eine wesentlich größere klinische Erfahrung besteht und noch nicht definitiv belegt ist, ob die biologische Aktivität von Lenograstim besser ist als von Filgrastim, so erscheint nach aktueller

Datenlage eine etwas besserer Effektivität von Lenograstim vorzuliegen. Mit der Verwendung von Lenograstim kann somit angenommen werden, den bestmöglichen pharmakologischen Effekt auf die Zellmobilisierung der Spender erreicht zu haben.

Die Granulozytenspende erfolgte freiwillig und schloss weibliche Spender nicht aus. Dennoch ist davon auszugehen, dass sich die Tatsache, die Granulozytensammlung an ausschließlich männlichen Spendern durchgeführt zu haben, positiv auf das Sammlungsergebnis der Granulozyten-Apherese auswirkte. Denn Fischer et al. (25) zeigten in ihrer Veröffentlichung von 2005, dass nach Lenograstim-Vorbehandlung bei männlichen Spender eine deutlich größere Ausbeute an CD34+ Zellen durch Apherese möglich war, als bei weiblichen Spendern. Das lässt vermuten, dass auch die Mobilisierung von neutrophilen Granulozyten bei männlichen Spendern unter Lenograstim-Vorbehandlung größer oder zumindest nicht geringer als bei weiblichen Spendern ausfallen dürfte.

Nach Injektion von G-CSF kam es zu einem Anstieg der Leukozyten in allen Gruppen. In Gruppe 1 um das 3,2-fach, in Gruppe 2 um das 3,5-fache, in Gruppe 3 um das 3,6-fache und in Gruppe 4 um das 3,8-fache. Dabei änderte sich die Zusammensetzung der weißen Blutkörperchen so, dass der Anteil der neutrophilen Granulozyten um etwa 27 bis 30 %-Punkte anstieg und der Anteil der Lymphozyten um 21 bis 23 %-Punkte abfiel. Diese Änderungen sind sowohl in der Höhe als auch in der Kumulation der Effekte vergleichbar mit den Veröffentlichungen anderer Autoren (7, 8, 26, 60, 64). Die kontinuierliche Gabe von G-CSF ist durch eine Kumulation der Effekte mit einem größeren Leukozytenanstieg der umtägigen Gabe von G-CSF oder einer Einzeldosierung überlegen.

Die Anzahl der Thrombozyten im peripheren Blut verringerte sich je nach Gruppe um ca. 10 bis 14%. Vergleichbare Thrombozytenabfälle werden von anderen Autoren auch beschrieben (7, 64, 99). Anderlini et al. (3) beschreiben unter anderem das Risiko von Thrombozytopenien bei Granulozytenspenden, deren Ursache neben der G-CSF-Wirkung auch im Apherese-prozedere zu sehen ist. Diese seien jedoch transistent, generell asymptomatisch und selbstlimitierend. Die Thrombozytenabfälle im peripheren Blut der Spender dieser Arbeit waren alle klinisch irrelevant und können demnach als moderate und nicht therapiebedürftige Nebenwirkung der G-CSF-Stimulation gewertet werden.

Der leichte Abfall des Hämoglobin- und Hämatokrit-Wertes sowie die Veränderung der Erythrozytenanzahl erreichten keine signifikanten Ausmaße und werden in

weiteren Veröffentlichungen in vergleichbarer Weise beschrieben (7, 64, 99). Insgesamt können sowohl die absoluten als auch relativen Änderungen des Blutbildes der Spender dieser Arbeit in ihrem Ausmaß nach dem derzeitigen Stand der wissenschaftlichen Erkenntnis als normgerecht eingestuft werden.

Der G-CSF wurde unabhängig vom Körpergewicht des Spenders in einer Dosis von jeweils 263 µg 6 bis 12 Stunden vor jedem Apheresebeginn subkutan injiziert. Daher waren die körperlgeichtsbezogenen Dosen jedes Spenders unterschiedlich und lagen zwischen 1,92 bis 4,17 µg/kg KG. In Korrelations-Analysen ließen sich keine generellen signifikanten Zusammenhänge zwischen der körperlgeichtsbezogenen G-CSF-Dosis und der erzielten Leukozytenanzahl im peripheren Blut oder eines anderen Blutparameters feststellen. Liles et al. (60) beschreiben nur einen geringen Unterschied zwischen der erzielten Anzahl von neutrophilen Granulozyten im peripheren Blut nach einem Mobilisationsregime von täglich 300 µg und 600 µg G-CSF. Andere Autoren belegen in ihren Veröffentlichungen deutlichere Mobilisationssteigerungen bei Steigerung der G-CSF-Dosis (7, 64). Jendiroba et al. (46) zeigten einen größeren Mobilisationseffekt für neutrophile Granulozyten nach täglicher Dosis von 5 µg/kg KG im Vergleich zu einer umtägigen Gabe der gleichen Dosis. Grigg et al. (33) führten Untersuchungen mit täglichen Gaben von 3, 5 und 10 µg/kg KG G-CSF durch. Diese belegten zwar eine Steigerung der WBC im peripheren Blut mit höheren G-CSF-Dosis, welche jedoch nicht von statistisch signifikantem Unterschied war. Mit der in dieser Untersuchung verwendeten festen Dosis von 263 µg G-CSF, welche durchschnittlich einer Dosis von ca. 3,2 µg/kg KG entsprach, wurden mit anderen Studien vergleichbare Mobilisierungseffekte erzielt. Dabei wurde die Behandlung von allen Spendern sehr gut toleriert und es war keine Therapie etwaiger Nebenwirkungen nötig. Unter dem vorherrschenden Konsens, dass ab einer bestimmten Grunddosis keine signifikanten Mobilisierungssteigerungen für WBC und neutrophile Granulozyten mit höheren G-CSF-Dosen zu erreichen sind, jedoch ein erhöhtes Risiko für das Auftreten unerwünschter Nebenwirkungen bei höheren G-CSF-Dosen zu erwarten ist, erscheint das verwendete Mobilisierungsschema unter alleiniger Betrachtung der Blutbildveränderungen der Spender gut praktikierbar zu sein.

## 7.2 Konzentrate

Es herrscht Übereinstimmung, dass die Höhe des Granulozytenanstieges im Patienten und somit auch die Rate des Therapieerfolges größtenteils von der Anzahl der funktionstüchtigen transfundierten Granulozyten abhängt (24, 49, 88), wobei eine größere Sammlungsausbeute bei einer größeren Anzahl von peripher zirkulierenden Granulozyten im Spender erzielt wird (42).

Bei einem durchschnittlichen Leukozytengehalt in der vorliegenden Untersuchung von 4,22 bis 4,62 x 10<sup>10</sup> pro Präparat, lag die Zahl der neutrophile Granulozyten pro Präparat je nach Gruppeneinteilung zwischen 3,45 bis 3,8 x 10<sup>10</sup>. Das ist deutlich geringer als in den Untersuchungen anderen Autoren. Caspar et al. (16) mobilisierten mit einer einmaligen subkutanen G-CSF-Dosis von 300 µg, was somit in etwa vergleichbar dem hier verwendeten Mobilisierungsregime ist, und erzielten durchschnittlich 5,4 x 10<sup>10</sup> Leukozyten mit 4,4 x 10<sup>10</sup> neutrophilen Granulozyten pro Granulozytenpräparat. Andere Autoren publizierten Untersuchungen mit Werten von 4,1 bis 6,8 x 10<sup>10</sup> neutrophile Granulozyten pro Leukapherese (8, 16, 35, 36, 46, 47, 54, 72, 99). Dabei erfolgte die Mobilisierung zwar auch ausschließlich mit G-CSF, es wurden aber mit 5 bis 10 µg/kg KG wesentlich höhere Dosen verwendet. Somit liegt die Überlegung nahe, ob mit höheren G-CSF-Dosen zwar nicht der Anstieg der nG im Spender signifikant gesteigert werden kann, aber die Sammlungsausbeute durch eine höhere Dosierung positiv beeinflusst werden kann. Dies wäre im Sinne einer Vergrößerung und/oder beschleunigter Ausschüttung des Knochenmarkpools von nG's möglich. Dieser Hypothese fehlt derzeit jedoch eine wissenschaftliche Bestätigung.

Veröffentlichungen, bei denen die Mobilisierung nur mit Glykosteroiden vorgenommen wurden, weisen eindeutig niedrigere Sammelraten für neutrophile Granulozyten im Vergleich zur Sammlung nach Mobilisation mit G-CSF auf. Es werden, unabhängig ob Prednisolon oder Dexamethason verwendet wurde, neutrophile Granulozytenzahlen von 0,7 bis maximal 2,9 x 10<sup>10</sup> pro Leukapherese angegeben (8, 46, 56, 72, 99). Erfolgte die Mobilisierung mit G-CSF und Glykosteroiden zusammen, wurde neben dem größten Anstieg von Leukozyten auch die größte Ausbeute an neutrophilen Granulozyten per Apherese erreicht. Die Spannweite veröffentlichter Ergebnisse liegt zwischen 6,7 bis 10,6 x 10<sup>10</sup> neutrophile Granulozyten pro Leukapherese. (21, 36, 40, 54, 56, 91) Demnach lässt sich

feststellen, dass eine weitere Optimierung der Spendermobilisierung und der Sammlungsausbeute in der Kombination von G-CSF und Glykokortikoiden gelegen hätte.

Ein weiterer Unterschied zu Publikationen von Separationen mit höheren Erträgen von nG liegt in der Höhe des prozessierten Volumen während der Apherese. In der hier vorliegenden Studien lag das prozessierte Volumen in Gruppe 1 bei durchschnittlich 6,9 l mit einer Standardabweichung von  $\pm 1,1$  l, in Gruppe 2 bei 6,8 l  $\pm 1,3$  l, in Gruppe 3 bei 6,5 l  $\pm 1$  l und in Gruppe 4 bei 6,8 l  $\pm 0,6$ l. Da die Granulozytenseparationen dieser Arbeit im Rahmen einer Studie durchgeführt wurden, war das prozessierte Volumen auf maximal 7 l limitiert. Stroncek et al. (91), Adkins et al. (2) und Heuft et al. (36) prozessierten in ihren Arbeiten durchschnittlich 7 l Blut pro Leukapherese. Price et al. (74) und Hübel et al. (40) prozessierten jeweils 10 l, Bensinger et al. (8) 7 bis 12 l Blut je Leukapherese. Es ist logisch, dass bei einem größeren prozessierten Blutvolumen und einem damit verbundenen größeren Zelldurchfluss durch den Separator die Chancen auf eine höhere Zellausbeute größer sind. Dies ist auch in diversen Publikationen belegt (1, 30, 44).

Je größer der HES-Verbrauch während der Apherese war, um so höher war die nG-Ausbeute in den GK's. Dieser Zusammenhang ließ sich in Gruppe 1 – 3 mit einer signifikanten, positiven Korrelation belegen. Der ausbleibende Zusammenhang in Gruppe 4 lässt sich am ehesten mit der geringen GK-Anzahl in dieser Gruppe und der daraus resultierenden statistischen Verzerrung durch Extremwerte erklären. Die verwendeten HES-Dosen waren auf maximal 550 ml des verwendeten Trisodium-Citrat-HES-Gemisches limitiert und lagen in Gruppe 1 im Mittel bei 541,5 ml, in Gruppe 2 bei 536,8 ml, in Gruppe 3 bei 504,7 ml und in Gruppe 4 bei 522,8. Strauss et al. veröffentlichten Untersuchungen, die von einer Verdopplung der Granulozytenausbeute durch Erhöhung der HES-Dosis von 250 ml auf 500 ml, jedoch keiner weiteren Ausbeutungeerhöhung bei Steigerung der HES-Dosis von 500 ml auf 1000 ml berichteten (90).

Die außerdem gezeigte positive, signifikante Korrelation zwischen der Dauer der Apherese und der nG-Ausbeute erklärt sich mit dem steigenden HES-Verbrauch während des Fortschreitens der Apherese. Es bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten, ob ein verzögerter Sammlungsbeginn - erst ca. 20 min nach Anschluss und Inbetriebnahme des Zellseparators - höhere Sammlungseffektivitäten erzielt, da erst dann eine genügend große Menge an HES verabreicht wurde und die

Sedimentation und Auftrennung der einzelnen Blutzellenfraktionen im Separator ein effektive Maß erreicht haben könnte.

Eine weitere Erkenntnis, die Anstoß zu weiteren Untersuchungen zur Optimierung der Apheresedauer geben sollte, stellten Joos et al. (47) vor. Demnach wird durch die G-CSF-Stimulation der Spender die Fähigkeit zur Phagozytose und die Aktivität von oxidativer burst erhöht und die Expression von Antigenen wie CD16, CD11a, CD62L und CD64 herabgesetzt. Durch die anschließende Apherese wurden die Phagozytosefähigkeit und die oxidative burst Aktivität wieder verringert und die Antigenexpression erhöht, jeweils wieder auf etwa das Ausgangsniveau. Möglicherweise lässt sich durch ein optimiertes Stimulations-Apherese-Regime die Funktionstüchtigkeit der transfundierten nG noch verbessern.

In allen vier Gruppen bestand zudem ein positiver, signifikanter Zusammenhang zwischen dem Mobilisierungseffekt im Spender nach G-CSF-Gabe und der Anzahl nG im GK, sowie zwischen der Anzahl WBC im Spender nach G-CSF-Gabe und der Anzahl nG im GK. Die Begründung dieses Zusammenhanges liegt am ehesten darin, dass bei größerem Mobilisierungseffekt bei ähnlichen Ausgangswerten größere Mengen an WBC im peripheren Blut der Spender vor Apherese zu finden sind. Je mehr WBC im Blut der Spenders vor Apherese vorhanden sind, umso mehr nG können bei ähnlichen Separationsbedingungen (prozessiertes Volumen, HES-Regime ect.) pro Apherese gesammelt werden.

Eine entscheidende Ursache der niedrigen Zellzahlen der GK's dieser Arbeit liegt in der Sammlungseffektivität. Diese liegt in der vorliegenden Untersuchung nur zwischen 15,6 und 17,7%. Die Untersuchungen mit höheren Granulozytenwerten im Präparat weisen Effektivitätsraten von 35 bis 48% auf (16, 36, 99). Eine Verbesserung der Sammlungseffektivität könnte besonders durch die Erhöhung des prozessierten Volumen erreicht werden. Außerdem könnte durch eine Verlängerung der Apheresedauer oder eine Veränderung des HES-Citrat-Gemisches eine Optimierung der Sammlungseffektivität bewirkt werden, was weiterer Studien bedarf. Die vorliegenden Separationsergebnisse nach Mobilisation mit G-CSF liegen über denen von Separationen nach Glykosteroid-Mobilisation und unter denen von Separationen nach Mobilisation mit G-CSF und Glykosteroiden zusammen. Aber sie sind im Vergleich zu anderen Publikationen von Separationen nach G-CSF-Mobilisierung sehr niedrig. Erklärungen dafür können die niedrigen Effektivitätsraten der Sammlungen, eine zu geringe Dauer der Apherese, das im Vergleich zu anderen

Sammlungen geringe prozessierte Volumen und die verwendete niedrige G-CSF-Dosis liefern. Zwar wird durch Steigerung der G-CSF-Dosis die Anzahl der im Spender mobilisierten Leukozyten nicht entscheidend erhöht, aber die Sammlungsraten scheinen besser zu sein.

Die Funktionalität der neutrophilen Granulozyten wird durch die Spenderbehandlung mit G-CSF und oder Glykosteroiden sowie der anschließenden Apherese über einen Zeitraum von 24 Stunden nicht negativ beeinflusst. Der entscheidende Faktor scheint die Lagerungstemperatur zu sein. Leavey et al. (52) beschreibt in einer Studie eine Erhaltung der Chemotaxis und des NADPH-Oxidase-Systems auf normalem Level nach 48 Stunden Lagerung unter Raumtemperatur. Joos et al. (47) beschreiben in einer größeren Studie ebenfalls keine negative Beeinflussung der Chemotaxis und Phagozytosefähigkeit, sowie keinen relevanten Anstieg von proinflammatorischen Zytokinen und Oberflächenantigenen. Dagegen beschrieb Lightfoot et al. (59) in einer kleinen Studie einen signifikanten Anstieg von IL-1 $\beta$  und IL-8 nach 48 Stunden Lagerung. Hübel et al. (43) veröffentlichten einen leichten Abfall der bakteriellen Aktivität nach einer Lagerung von 48 Stunden bei 22°C, welcher bei gleicher Dauer und 10°C Lagerungstemperatur nicht bestand. Des Weiteren waren in dieser Studie nach 24 Stunden die Ausschüttung der proinflammatorischen Zytokine IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 und TNF- $\alpha$ , vor allem bei Erschütterung, signifikant erhöht, was bei einer Lagerung bei 10°C nicht beobachtet wurde. Bezüglich der Chemotaxis, der Migrationskapazität und Antigenexpression waren zwischen den Lagerungsmethoden keine Unterschiede und Beeinträchtigung festgestellt worden.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Granulozytenpräparate bei 22°C gelagert, mit vergleichbaren Aphereseverfahren hergestellt und nach der Herstellung sofort zur GTX verwendet, wobei zwischen Herstellung und Transfusion nicht mehr als 24 Stunden vergingen. Auch wenn es Hinweise gibt, dass die Lagerung bei 10°C die Funktionalität der gesammelten Granulozyten besser konserviert hätte, ist in Anbetracht der Datenlage davon auszugehen, dass die in dieser Arbeit gewonnen und verwendeten neutrophilen Granulozyten in ihrer Funktionalität derer in vivo vergleichbar sind und durch die Separation und Lagerung nicht negativ beeinflusst wurden.

### 7.3 Empfänger

Die Granulozytentransfusion erfuhr mit dem Einsatz von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren und modernen Apheresetechniken eine Art Renaissance. Sie wird wieder vermehrt bei Patienten im neutropenischen Zustand mit weniger als 500 Granulozyten/ml Blut, bei Infektionen die auf eine adäquate antibiotischen bzw. antimykotische Therapie nicht ansprechen, während einer Sepsis und in Situationen, in denen eine Erholung des Knochenmarkes innerhalb von 10 Tagen nach Auftreten der Infektion nicht erwartet werden kann eingesetzt. (18, 29, 41, 89)

In der vorliegenden Arbeit erhielten die Patienten pro GTX je nach Gruppeneinteilung WBC-Dosen von  $3,3 - 4,5 \times 10^{10}/\text{GK}$ . Das entsprach zwischen  $2,7 - 3,7 \times 10^{10} \text{ nG}/\text{GK}$  und einer Dosis von  $2,7 - 3,7 \times 10^{10} \text{ nG}/\text{m}^2 \text{ KOF}$  der Patienten. Im Vergleich zu neueren Studien zur GTX ist dies eine durchschnittliche Dosierung. Price et al. (74) veröffentlichte eine mittlere Dosis je GTX von  $8,2 \times 10^{10} \text{ nG}$ , Lee et al. (54) verwendeten GK's mit durchschnittlich  $6,6 \times 10^{10} \text{ nG}$ , Hester et al. (35) transfundierten pro GTX im Mittel  $4,1 \times 10^{10} \text{ PMN}$ , Cesaro et al. (17) behandelten mit  $3,1 \times 10^{10} \text{ WBC}/\text{GK}$  bei einem nG-Gehalt von 90 bis 95% und Peters et al. (72) verwendeten durchschnittlich GK's mit  $0,5 \times 10^{10} \text{ nG}$ , was einer Dosis von  $1,5 \times 10^{10} \text{ PMN}/\text{m}^2 \text{ KOF}$  der Empfänger entsprach. Dabei muss als großer Kritikpunkt bei allen Veröffentlichungen außer der von Cesar et al. festgestellt werden, dass zur Auswertung der GTX-Effekte keine Gruppeneinteilung der Empfänger vorgenommen wurde. Dadurch sind die vorgestellten Ergebnisse statistisch gesehen nicht voneinander unabhängig und es kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, in welchem Ausmaß sich die einzelnen GTX beeinflussten und es zu Kumulationen der Effekte kam. Für die Bewertung der klinischen Outcomes ist das letztendlich unerheblich, für die Bewertung der laborchemischen GTX-Effekte jedoch verzerrend. Der Vergleich zwischen den einzelnen Veröffentlichungen wäre außerdem aussagekräftiger, wenn die transfundierten nG in Zellen/KOF des Empfängers angegeben wäre. Somit wäre die von den Patienten tatsächlich erhaltene nG-Dosis von den Einflussgrößen Gewicht und Körpergröße nicht so verzerrt wie bei der Angabe der absoluten Anzahl transfundierter nG und der Zusammenhang zwischen nG-Dosis und klinischem Erfolg besser zu analysieren.

Nach erfolgter GTX stiegen die WBC im peripheren Blut der Empfänger um durchschnittlich  $0,7 \times 10^9/\text{l}$  an, bei einer Spannweite von  $0,09 \times 10^9/\text{l}$  bis  $1,2 \times 10^9/\text{l}$ .



Peter et al. (72) erzielten in ihrer Veröffentlichung einen täglichen Anstieg von  $1,6 \times 10^9$  WBC/l bei Patienten welche vor der GTX mit G-CSF behandelt wurden und einen Anstieg von  $0,43 \times 10^9$  WBC/l bei mit Prednisolon vorbehandelten Patienten. Lee et al. (54) veröffentlichten Anstiege von durchschnittlich  $0,4 \times 10^9$  nG/l bei Patienten, die auf die GTX-Therapie angesprochen haben und  $0,09 \times 10^9$  nG/l bei Patienten, die nicht auf die GTX-Therapie ansprachen. In der Untersuchung von Price et al. (74) wurde ein Anstieg von  $2,7 \times 10^9$  nG/l ermittelt, Cesaro et al. (17) ermittelten nur einen Anstieg von  $0,3 \times 10^9$  nG/l nach GTX. Damit liegen der in dieser Arbeit erzielte Mittelwerte des WBC-Anstieges im guten Durchschnitt, verglichen mit anderen Veröffentlichungen. Es lässt sich jedoch nur in Gruppe 1 und 2 eine Signifikanz bezüglich des WBC-Anstieges ermitteln, was sich jedoch am ehesten mit der zu geringen Patientenanzahl in Gruppe 3 und 4 erklären lässt. Ebenso lässt sich keine signifikant positive Korrelation zwischen der Anzahl der transfundierten nG's und der Höhe des WBC-Anstieges zeigen, was bei der geringen Größe des Patientenkollektives jedoch auch schwierig ist.

Es gab jedoch starke Unterschiede im posttransfusionellen WBC-Anstieg zwischen den einzelnen Gruppen. Während in Gruppe 1 und 2 der WBC-Anstieg  $1,2 \times 10^9$  WBC/l bzw.  $1,11 \times 10^9$  WBC/l betrug, lag er in Gruppe 3 nur noch bei  $0,4 \times 10^9$  WBC/l und in Gruppe 4 bei gerade  $0,09 \times 10^9$  WBC/l. Das ist am ehesten mit den Unterschieden des Patientengutes der jeweiligen Gruppe zu erklären. In Gruppe 1 und 2 sind zu einem großen Teil Patienten enthalten, die aus einem relativ gesehen besseren Zustand heraus zur Stabilisierung nur ein oder zwei GTX erhalten haben. Außerdem ist der WBC-Anstieg zu Beginn einer GTX-Therapie am höchsten, da sich dort der Ausgangswert nahezu bei 0 befindet. In Gruppe 3 und 4 fallen die kurzfristig mit GTX therapierten Patienten weg und befinden sich nur die Patienten mit relativ gesehen schlechterem Zustand, die einer längeren GTX-Therapie bedürfen. Diesen Patienten darf man unterstellen, einen höheren nG-Verbrauch zu haben. Hier scheint der erhöhte Verbrauch an nG's einen weiteren Anstieg der WBC zu verhindern. Eine weitere Erklärung könnte in der von Adkins et al. diskutierte Hypothese der schnellen Entwicklung einer spenderleukozyten-spezifischen Alloimmunisierung des Empfängers liegen, welche die Effekte späterer GTX mindert (2). Dies erscheint in der immuninkompetenten Situation, in welcher sich die Empfänger befanden, nicht sehr wahrscheinlich.

Die begleitenden Transplantationen (SZTX, KMTX, keine TX), die Art der Transplantation (allogen, autolog, haploident), das Überleben der Patienten und die Art der zu behandelnden Erkrankung (Neoplasie des hämatopoetischen Systems oder andere Erkrankung) nahmen keinen signifikanten Einfluss auf den Anstieg der WBC. Die therapieresistenten Infektionen entstanden alle in immuninkompetenten Situationen auf Grundlage einer Neutropenie und stellten ein akutes, vital bedrohendes Problem mit Handlungsbedarf dar. Die tieferen Ursachen der Neutropenie scheinen bei der Therapie des Infektes durch GTX keinen Einfluss zu haben.

Mit dem GK wurden auch Thrombozyten transfundiert. Bei einem durchschnittlichen Gehalt von  $14,34 \times 10^{10}$  PLT/GK wurde nur in Gruppe 1 ein deutlicher Anstieg der Thrombozyten im peripheren Blut der Empfänger von  $12,46 \times 10^9$  PLT/l registriert. In Gruppe 2 und 3 kam es zu einem Abfall der Thrombozyten um  $1,87 \times 10^9$  bzw.  $2,64 \times 10^9$  PLT/l. In Gruppe 4 blieb die Thrombozytenanzahl nahezu konstant. Im Vergleich dazu erreichten Illerhaus et al. (45) einen Thrombozytenanstieg von  $16 \times 10^9$  PLT/l unmittelbar nach GTX, welcher 24 Stunden nach GTX noch bei  $8,5 \times 10^9$  PLT/l im Vergleich zum Ausgangswert lag. Adkins et al. (2) erzielten durch Transfusion von GK mit Thrombozytengehalten von 24 bis  $41 \times 10^{10}$  PLT/GK einen Anstieg der peripheren Thrombozyten der Empfänger von  $14 \times 10^9$  bis  $8 \times 10^9$  PLT/l. Damit ist der Thrombozytenanstieg dieser Arbeit deutlich geringer, als der anderer Veröffentlichungen. Die Ursache liegt hierbei am ehesten in der deutlich geringeren Anzahl von Thrombozyten in den verwendeten GK's. Das wird auch deutlich in Adkins Veröffentlichung, in welcher die GK-Empfänger auch in Gruppen eingeteilt werden. In Gruppen mit thrombozytenreichen GK's ist der Anstieg der Thrombozyten im Empfänger nach GTX deutlich höher als in Gruppen mit thrombozytenärmeren GK's. Laut den Leitlinien der Bundesärztekammer wird bei Kindern eine vorsichtiger Transfusion von Thrombozyten mit geringerer Dosierung als bei Erwachsenen empfohlen (11). In diesem Kontext ist die geringere Thrombozytenzahl im GK und der daraus resultierende geringere Thrombozytenanstieg nach GTX im Vergleich zu oben aufgeführten Publikationen, bei denen nur Erwachsene untersucht wurden, als adäquat zu betrachten.

Das Hauptaugenmerk dieser Arbeit lag auf der Beeinflussung der Infektion durch GTX, wobei der Veränderung des CrP-Wertes im peripheren Blut der Empfänger die meiste Aufmerksamkeit zukam. Dabei ergaben sich durchschnittliche CrP-Abfälle

von 22,78 mg/l in Gruppe 1, 8,78 mg/l in Gruppe 2, 26,73 mg/l in Gruppe 3 und ein Abfall von 1,62 mg/l in Gruppe 4. Diese CrP-Abfälle waren nur in Gruppe 1 als signifikant belegbar.

Sachs et al. publizierten einen CrP-Abfall nach GTX von durchschnittlich 23,58 mg/l bei einem Abfall von 130 mg/l auf insgesamt 54 mg/l nach 8 Tagen und 4 GTX. Grigull et al. veröffentlichten CrP-Abfälle nach GTX von durchschnittlich 31 mg/l und konnten einen signifikant größeren Abfall bei überlebenden Patienten im Vergleich zu während der Therapie verstorbenen Patienten zeigen. Diese Ergebnisse ließen die Autoren über den CrP-Verlauf nach GTX als prognostischen Faktor diskutieren.

Bezüglich dieser Hypothese lässt sich in der vorliegenden Arbeit nur in Gruppe 2 ein signifikant größerer WBC-Anstieg nach GTX bei überlebenden Patienten im Vergleich zu verstorbenen Patienten aufzeigen, jedoch keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des CrP-Abfalls. Auf Grund der geringen Probandenzahl konnte die statistische Auswertung per Mann-Whintey-U-Test jedoch in Gruppe 3 und 4 nicht durchgeführt werden. Es ließen sich keine statistisch signifikanten Ergebnisse ermitteln, jedoch ein gewisser Trend feststellen, dass bei verstorbenen Patienten der CrP-Abfall geringer ausfiel als bei überlebenden Patienten. Der CrP-Wert nach GTX fiel bei später verstorbenen Patienten durchschnittlich um 9,7 mg/l und durchschnittlich um 23,6 mg/l bei überlebenden Patienten. Die Hypothese, das CrP als prognostischen Faktor zu betrachten, konnte in dieser Arbeit nicht statistisch bestätigt werden. Das Ausbleiben von signifikanten Unterschieden im WBC-Anstieg und CrP-Abfall ist jedoch auch zu einem großen Teil der geringen Anzahl der Patienten geschuldet. Es bedarf einer ein größeres Patientenkollektiv umfassenden Untersuchung, diese Hypothese von Grigull et al. zu bestätigen.

In dieser Arbeit wurde weiterhin der Effekt von GTX auf die Sauerstoffsubstitution untersucht. Nach meinem Wissen wurden bisher keine Untersuchungen veröffentlicht, die sich mit dem Zusammenhang von GTX und Sauerstoffsubstitution befassen. In einer Gruppe stieg der Substitutionsbedarf leicht an, in einer Gruppe blieb er gleich und in zwei Gruppen fiel er leicht ab; alle Änderungen jedoch ohne statistische Signifikanz. Diese Daten sind in zwei Richtungen interpretierbar. Zum einen belegen sie, dass bei allen durchgeführten GTX keine TRALI aufgetreten ist, welche mit einem massiven Mehrbedarf an zu substituierendem Sauerstoff einhergegangen wäre. Zum anderen lassen sich durch diese Daten keine Aussagen zu einer positiven oder negativen Beeinflussung der GTX auf die

Sauerstoffsubstitution geben. Um fundierte Ergebnisse zu diesem Sachverhalt zu erhalten sind weitere Untersuchungen nötig.

Es ist allgemein anerkannt, dass der Anstieg der WBC bzw. nG im peripheren Blut der Empfänger direkt von der Dosis der übertragenen WBC bzw. nG abhängt und erst ab Transfusionen von mehr als  $10^{10}$  Zellen/m<sup>2</sup> KOF detektierbar ist (62, 65, 72, 88, 93). Bei den hier vorgenommenen Untersuchungen, in welchem Ausmaß der WBC-Anstieg im Empfänger, die Sauerstoffsubstitution des Empfängers und der CrP-Abfall im Empfänger nach GTX mit der Anzahl der transfundierten WBC bzw. nG/m<sup>2</sup> KOF des Empfängers zusammenhängen, konnte nur in Gruppe 1 eine signifikante Korrelation zwischen relativem CrP-Abfall und transfundierten WBC bzw. nG/m<sup>2</sup> KOF des Empfängers dargestellt werden. Obwohl die verwendete WBC bzw. nG-Dosierung im Vergleich zu anderen Publikationen nicht besonders niedrig war, scheinen dennoch zu wenig WBC bzw. nG/m<sup>2</sup> KOF übertragen worden zu sein, um direkte Effekte auf die WBC, das CrP und die Sauerstoffsubstitution der Empfänger in den anderen Gruppen nachweisen zu können. Price et al. (74) schreiben in ihren Untersuchungen zu GTX, dass erst eine Dosis von über  $2 \times 10^9$  PMN/kg KG sicher zu einem Anstieg von über  $2 \times 10^{10}$  PMN/l im peripheren Blut führt. Die Dosierung dieser Arbeit lag mit  $1,1 - 1,4 \times 10^9$  WBC/kg KG des Empfängers deutlich niedriger. Nach derzeitiger Meinung sollte bei persistierender Neutropenie unter  $500 \text{ nG}/\mu\text{l}$  über 48 Stunden und dem Versagen einer gezielten Kombinationstherapie mit Antitbiotika und Antimykotika, um die therapeutische GTX effektiv zu gestalten, die tägliche minimale Gesamtdosis bei  $2 - 3 \times 10^{10}$  Granulozyten liegen und bis zum Anstieg der Granulozytenanzahl im peripheren Blut auf über  $0,5 \times 10^9/l$  verabreicht werden. (11, 80) Diese Empfehlung ist anhand der gewonnenen Daten der Arbeit grundsätzlich zu unterstützen, wobei die Dosis aber sehr deutlich über dieser Minimalempfehlung liegen sollte. In dieser Untersuchung lagen die täglichen Gesamtdosen an nG's je nach Gruppeneinteilung mit  $4,22$  bis  $4,62 \times 10^{10}$  deutlich über der empfohlenen Minimaldosis, und erzielten dabei nur vergleichsweise geringe Effekte im Empfänger. Genauer und besser wäre eine körpergewichtsbezogene Empfehlung der täglichen nG-Dosis, welche nach den Ergebnissen von Price et al. (74) bei einem Wert von  $2 \times 10^9$  nG/kg KG liegen sollte. Die unter der Aufsicht des Jenaer Institutes für Transfusionsmedizin durchgeführten Therapien mit Granulozytenkonzentraten werden seit kurzer Zeit mit zwei GTX am Tag durchgeführt, wobei sich ein größerer WBC-Anstieg abzeichnet, als bei täglich einer GTX.

Die Wirksamkeit der therapeutischen GTX bei Neugeborenen und Kindern ist bisher in nur wenigen Studien untersucht worden, wobei die diejenigen mit positiver Einschätzung für die GTX überwiegen. Beispielhaft seien hier die Studien von Laurenti et al. (51) erwähnt, welche 38 zumeist Frühgeborene mit antibiotikaresistenten Klebsielleninfektionen untersuchten. In der nichttransfundierten Untersuchungsgruppe überlebten nur 28% der Neugeborenen. In der transfundierten Untersuchungsgruppe erhielten die Neugeborenen neben Antibiotika 2 - 15 Granulozytenkonzentrate mit einer Dosis von  $0,5 - 1,0 \times 10^9$  Granulozyten pro Kilogramm Körpergewicht und es überlebten 90%. Eine Studie von Christensen et al. (20) beinhaltete 16 Kinder mit schwerer Neutropenie von Granulozytenzahlen unter  $3 \times 10^9/l$  Blut und einem Knochenmarkspoolanteil von unter 7% an allen kernhaltigen Knochenmarkszellen, welche entweder nur Antibiotika oder GTX in Dosen von  $0,2 - 1,0 \times 10^9$  Granulozyten pro Kilogramm Körpergewicht erhielten. In der transfundierten Untersuchungsgruppe überlebten 100%, in der antibiotisch behandelten Kontrollgruppe überlebten nur 11%. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Cairo et al. in ihren Studien 1984 und 1987 (14, 15). Dagegen fanden Baley et al. (5) und Wheeler et al. (98) keinen Vorteil einer Kombinationstherapie von GTX und Antibiotika gegenüber der ausschließlichen Antibiotikatherapie. Bei ersterer Untersuchung lag die Überlebensrate der ausschließlich antibiotisch behandelten Kontrollgruppe sogar höher als die der transfundierten Untersuchungsgruppe.

Wie auch bei Erwachsenen lässt sich nach der aktuellen Datenlage für die therapeutischen Granulozytengabe bei Neugeborenen noch keine feste Empfehlung geben. Es scheint aber vorteilhaft, bei Neugeborenen mit bakterieller Sepsis, einer Granulozytenzahl von unter  $3 \times 10^9/l$  Blut und einem Granulozytenanteil unter 10% aller kernhaltigen Knochenmarkszellen, die Antibiotikatherapie mit GTX zu kombinieren. Nach aktueller Datenlage liegt die Idealdosis bei  $1 - 2 \times 10^9$  Granulozyten pro Kilogramm Körpergewicht und 10 - 15 ml/kg KG. Diese Dosierempfehlung wurde in dieser Arbeit mit durchschnittlich  $0,9 - 1,2 \times 10^9$  nG/kg KG sehr exakt umgesetzt. Der Spender sollte dabei seronegativ auf per Transfusion übertragbare Erkrankungen wie Cytomegalie, Hepatitis, HIV und Lues sein, sowie eine positive Erythrozyten- und Leukozytenkompatibilität aufweisen. Spezielle kontrollierte Studien, die sich mit der Effektivität und Dosisoptimierung von Granulozytentransfusionen bei Kindern und Jugendlichen beschäftigen, sind, so weit bekannt, nicht veröffentlicht. (80)

Die Effektivität der therapeutische GTX bei Patienten mit qualitativen Dysfunktionen ihrer neutrophilen Granulozyten konnte noch nicht belegt werden. Da diese Erkrankungen sehr selten auftreten, ist außer einigen Fallpublikationen über positive Behandlungserfolge keine größere Patientenkollektive umfassende Studie veröffentlicht worden. Eine Empfehlung für die Verwendung der therapeutischen GTX kann im Rahmen der Behandlung der Granulozytendysfunktion aus Gründen des bestehenden Risikos für Alloimmunisierung und transfusionsassoziiertes Infektionen nur für mit Antibiotika unbeherrschbare Infekte gegeben werden. (80)

In dieser Arbeit ließ sich feststellen, dass durch eine GTX bei Kindern ein deutlich aufzeigbarer Anstieg der WBC und Abfall des CrP, jedoch keine Änderung der Sauerstoffsubstitution zu erreichen ist. Unter dem Konsens, dass die transfundierten nG funktionstüchtig sind, lässt sich damit festhalten, dass laborchemisch ein deutlicher Effekt der GTX bei den untersuchten Kindern erzielt wurde, und damit die Grundlage für ein besseres klinisches Outcome erzielt werden konnten. Es überlebten 15 von 26 Patienten, welche nur 37 der insgesamt 134 GTX erhielten. Dies macht deutlich, dass eine erfolgreiche GTX nur mit einer gezielten Indikationsstellung zu erreichen ist.

## 8 Schlussfolgerung

Mit dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass Kinder und Jugendliche mit einem Anstieg der WBC und einem Anfall des CrP im peripheren Blut von der therapeutischen GTX, bei mit Antibiotika bzw. Antimykotika unbeherrschbaren Infektionen ähnlich wie Erwachsene profitieren. Diese Veränderungen konnten nicht in allen Empfängergruppen mit statistischer Signifikanz belegt werden. Auch bei derzeit kritischer Diskussion über die positive Beeinflussung des klinischen Outcomes, wird damit jedoch die Ausgangslage zur Infektionsbekämpfung verbessert und die Grundlage für eine Verringerung der infektionsbedingten Mortalität hergestellt.

Dabei haben im Rahmen eines multimodalen Therapieregimes die eventuell begleitende Transplantationsart und das verwendete Transplantationsmaterial keinen signifikant positiven oder negativen Einfluss auf den Effekt der GTX. Ebenso beeinflusst die Art der Erkrankung - ob Neoplasie des Hämatopoetischen Systems oder andersartige Erkrankung - die Effektivität der GTX nicht.

Die nachgegangene Hypothese, dass dem CrP die Bedeutung eines Faktors mit prognostischer Aussagefähigkeit mit größeren Abfällen nach GTX bei überlebenden Patienten zukommen sollte, konnte nicht statistisch signifikant verifiziert werden. Dennoch ist der CrP-Abfall bei überlebenden Patienten im Durchschnitt erkennbar größer, als bei später verstorbenen Patienten. Es bedarf einer weiterführenden Untersuchung mit einem erheblich größeren Patientenkollektiv, um diese Aussage zu bestätigen.

Außerdem ergeben sich mit dieser Untersuchung Hinweise zur Verbesserungswürdigkeit des Zellsammlungsprozedere, um somit eine bessere Sammlungseffektivität von nG's zu erzielen. In Anbetracht der besseren Sammlungsausbeute bei längerer Apheresedauer und HES-Verbrauch scheint ein späterer Sammlungsbeginn nach Inbetriebnahme des Zellseparators und ausreichender Einwirkzeit von HES zur Sedimentierungsbeschleunigung empfehlenswert. Es bedarf jedoch weiterer Untersuchungen, diese Hinweise zu belegen.

Mit dem verwendeten Mobilisierungsregime wurden zwar in den Spendern gute Mobilisierungseffekte erreicht, in Anbetracht der aktuellen Datenlage und auf Grund der relativ schlechten Sammlungsausbeute sollte jedoch überlegt werden, die

Vorbehandlung der Spender mit einer Kombination aus höher dosiertem G-CSF und Glykokortikoiden durchzuführen. Die in dieser Arbeit verwendeten G-CSF-Dosen zwischen 1,92 und 4,17 µg/kg KG bewirken eine ausreichende Mobilisierung im Spender, scheinen aber für eine hohe Sammlungsausbeute zu gering zu sein. Nach den vorliegenden Ergebnissen sind mindestens 5 µg/kg KG zu empfehlen.

Um die Erfolge besser vergleichen zu können, und somit das GTX-Regime effektiver gestalten zu können, ist die Angabe der transfundierten nG in absoluten Zellzahlen nicht günstig. Besser wäre es, die Angabe in nG/kg KG des Empfängers oder nG/m<sup>2</sup> KOF des Empfängers anzugeben.



## 9 Literatur- und Quellenverzeichnis

1. Abrahmsen JF, Stamnesfjet S, Liseth K et al. 2005. Lage-volume leukapheresis yields more viable CD34+ cells and colony-forming units than normal volume leukapheresis, especially in patients who mobilize low numbers of CD34+ cells. *Transfusion* 45: 248-253
2. Adkins DR, Goodnough LT, Shenoy S et al. 2000. Effect of leukocyte compatibility on neutrophil increment after transfusion of granulocyte colony-stimulating factor-mobilized prophylactic granulocyte transfusions and on clinical outcomes after stem cell transplantation. *Blood* 95: 3605-3612
3. Anderlini P, Körbling M, Dale DC et al. 1997. Allogeneic blood stem cell transplantation: consideration for donors. *Blood* 90: 903-908
4. Alavi JB, Root RK, Djerassi I et al. 1977. A randomized clinical trial of granulocyte transfusions for infection in acute leukemia. *N Engl J Med* 296: 706-711
5. Baley JE, Stork EK, Warkentin PI, Shurin SB. 1987. Buffy coat transfusions in neutropenic neonates with presumed sepsis: a prospective, randomized trial. *Pediatrics* 80: 712-720
6. Barth J.1993. Nadiradaptierter Therapiebeginn mit Filgrastim. Neue Möglichkeit zur Kostenbegrenzung. *Krankenhauspharmazie* 14: 489-492
7. Beelen DW, Ottinger H, Kolbe K et al. 2002. Filgrastim mobilization and collection of allogeneic blood progenitor cells from adult family donors: first interim report of a prospective German multicenter study. *Ann Hematol* 81: 701-709
8. Bensinger WI, Price TH, Dale DC et al. 1993. The effects of daily recombinant human granulocyte colony-stimulating factor administration on normal granulocyte donors undergoing leukapheresis. *Blood* 81: 1883-1888

9. Bodey GP, Buckley M, Sathe YS, Freireich EJ. 1966. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with leukemia. *Ann Intern Med* 64: 328-340
10. Brecher G, Wilbur KM, Cronkite EP. 1953. Transfusion of separated leukocytes into irradiated dogs with aplastic marrows. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med* 84: 54-6
11. Bundesärztekammer, Hrsg. 2003. Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. 3. Auflage. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag
12. Bundesärztekammer, Hrsg. 2005. Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie). Köln: Deutscher Ärzte Verlag
13. Burgess A, Metcalf D. 1980. Characterization of a serum factor stimulating the differentiation of myelomonocytic leukemia cells. *Int J Cancer* 26: 647
14. Cairo MS, Rucker R, Bennetts GA et al. 1984. Improved survival of newborn receiving leukocyte transfusions for sepsis. *Pediatrics* 74: 887-892
15. Cairo MS, Worcester C, Rucker R et al. 1987. Role of circulating complement and polymorphonuclear leukocyte transfusion in treatment and outcome in critically ill neonates with sepsis. *J Pediatr* 110: 935-941
16. Caspar CB, Seger, RA, Burger J, Gmür J. 1993. Effective stimulation of donors for granulocyte transfusions with recombinant methionyl granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 81: 2866-2871
17. Cesaro S, Chinello P, De Silvestr G et al. 2003. Granulocyte transfusions from G-CSF-stimulated donors for the treatment of severe infections in neutropenic pediatric patients with onco-hematological diseases. *Supportive Care in Cancer* 11: 101-106

18. Chanock SJ, Gorlin JB. 1996. Granulocyte transfusions: time for a second look. *Infect Dis Clin North Am* 10: 327-343
19. Christensen RD, Anstall HB, Rothstein G. 1982. Review: deficiencies in the neutrophil system of new born infants, and the use of leukocyte transfusions in the treatment of neonatal sepsis. *J Clin Apheresis* 1: 33-41
20. Christensen RD, Rothstein G, Anstall HB, Bybee B. 1982 Granulocyte transfusion in neonates with bacterial infection, neutropenia, and depletion of mature marrow neutrophils. *Pediatrics* 70:1-6
21. Dale DC, Liles WC, Llewellyn C et al. 1998. Neutrophile transfusions : kinetics and functions of neutrophils mobilized with granulocyte colony.stimulating factor and dexamethasone. *Transfusion* 38: 713-721
22. Demetri GD, Griffin JD. 1991. Granulocyte Colony-Stimulating Factor and Its Receptor. *Blood* 78: 2791-2808
23. Deutsche Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie. 1998. Empfehlung zur präparativen Leukozyten- und Thrombozytenapherese der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie. *Infusionsther Transfusionsmed* 25: 376-382
24. Fetscher S, Mertelsmann R. 1999. Supportive care in hematological malignancies: hematopoietic growth factors, infections, transfusion therapy. *Curr Opin Hematol* 6: 262-273
25. Fischer JC, Frick M, Wassmuth R et al. 2005. Superior mobilisation of haematopoietic progenitor cells with glycosylated G-CSF in male but not female unrelated stem cell donors. *Br. J Haematol* 130: 740-746
26. Fischmeister G, Kurz M, Haas OA et al. 1999. G-CSF versus GM-CSF for stimulation of peripheral blood progenitor cells (PBPC) and leukocytes in healthy volunteers: comparison of efficacy and tolerability. *Ann Hematol* 78: 117-123

27. Ford CD, Lehman C, Strupp A et al. 2002. Comparison of CD34+ cell Collection efficiency on the COBE Spectra and Fenwal CS 3000 Plus. *J Clin Apher* 17: 17-20
28. Fortuny IE, Bloomfield CD, Hadlock DC et al. 1975. Granulocyte transfusion: a controlled study in patients with acute nonlymphocytic leukemia. *Transfusion* 15: 548-558
29. Freireich EJ. 1994 White cell transfusions born-again. *Leuk Lymphoma* 11: 161-165
30. Gasova Z, Marinov I, Vodvarkova S et al. 2005. PBPC collection techniques: standart versus large volumen leukapheresis (LVL) in donors and in patients. *Transfus Apher Sci* 32: 167-176
31. Gomez-Villagran JL, Torres-Gomez A, Gomez-Garcia P et al. 1984. A controlled trial of prophylactic granulocyte trnafusions during induction chemotherapy for acute nonlymphoblastic leukemia. *Cancer* 54: 734-738
32. Graw RG Jr, Herzig G, Perry S, Henderson IS. 1972. Normal granulocyte transfusion therapy. *N Engl J Med* 287: 367-371
33. Grigg AP, Roberts AW, Raunow H et al. 1995. Optimizing dose and scheduling of filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor) for mobilisation collection of peripheral blood progenitor cells in normal volunteers. *Blood* 86: 4437-4445
34. Herzig RH, Herzig GP, Graw RG et al. 1977. Successful granulocyte transfusion therapy for Gram-negative septicemia. *N Engl J Med* 296: 702-705
35. Hester JP, Dignani MC, Anaissie EJ et al. 1995. Collection and transfusion of granulocyte concentrates from donors primed with granulocyte stimulating factor and response of myelosuppressed patients with established infection. *J Clin Apheresis* 10: 188 – 193

36. Heuft HG, Goudeva L, Sel S, Blasczyk R. 2002. Equivalent mobilization and collection of granulocyte for transfusion after administration of glycosylated G-CSF (3 µg/kg) plus dexamethasone versus glycosylated G-CSF (12 µg/kg) alone. *Transfusion* 42: 928-934
37. Higby DJ, Yates JW, Henderson ES, Holland JF. 1975. Filtration leukapheresis for granulocytic transfusion therapy. *N Engl J Med* 292: 761-766
38. Høglund M, Smedmyr B, Bengtsson M et al. 1997. Mobilization of CD34+ cells by glycosylated and nonglycosylated G-CSF in healthy volunteers – a comparative study. *Eur J Haematol* 59: 177-183
39. Holländer GA, Hrsg. 2006. *Immunologie, Grundlagen für Klinik und Praxis*. 1. Auflage. München: Urban und Fischer Verlag
40. Hübel K, Carter RA, Liles C et al. 2002. Granulocyte transfusion therapy for infections in candidates and recipients of HPC transplantation : a comparative analysis of feasibility and outcome for community vs related donors. *Transfusion* 42: 1414-1421
41. Hübel K, Dale DC, Engert A, Liles WC. 2001. Current status of granulocyte (neutrophil) transfusion therapy for infectious diseases. *J Infect Dis* 183: 321-328
42. Hübel K, Engert A. 2003. Granulocyte Transfusion Therapy for Treatment of Infections after Cytotoxic Chemotherapy. *Onkologie* 26: 73-76
43. Hübel K, Rodger E, Gaviria JM et al. 2005. Effective storage of granulocytes collected by centrifugation leukapheresis from donors stimulated with granulocyte-colony stimulating factor. *Transfusion* 45: 1876-1889
44. Humpe A, Riggert J, Munzel U et al. 1999. A prospective, randomized, sequential, crossover trial of large-volume versus normal-volume leukapheresis procedures: effect on progenitor cells and engraftment. *Transfusion* 39: 1120-1127

45. Illerhaus G, Wirth K, Dwenger A et al. 2002. Treatment and prophylaxis of severe infections in neutropenic patients by granulocyte transfusions. *Ann Hematol* 81: 273-281
46. Jendiroba DB, Lichtiger B, Anaissie E et al. 1998. Evaluation and comparison of three mobilisation methods for the collection of granulocytes. *Transfusion* 38: 722-728
47. Joos, K, Herzog R, Einsele H et al. 2002. Characterization and functional analysis of granulocyte concentrates collected from donors after repeated G-CSF stimulation. *Transfusion* 42: 603-611
48. Junqueira LCU, Carneiro J. 2005. *Histologie*. 6. Auflage. Heidelberg: Springer Medizin Verlag
49. Klein HG, Strauss RG, Schiffer CA. 1996. Granulocyte transfusion therapy. *Semin Hematol* 33: 359-368
50. Kubota N, Orita T, Hattori K et al. 1990. Structural characterization of natural and recombinant human granulocyte colony-stimulating factors. *Journal of Biochemistry* 107: 486-492
51. Laurenti F, Ferro R, Isacchi G et al. 1981. Polymorphonuclear leukocyte transfusion for the treatment for sepsis in the newborn infant. *J Pediatr* 98: 118-123
52. Leavey PJ, Thurman G, Ambruso DR. 2000. Functional characteristics of neutrophils collected and stored after administration of G-CSF. *Transfusion* 40: 414-419
53. Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM. 1999. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 10. Edition. Baltimore: Williams & Wilkins

54. Lee JJ, Cheung IJ, Park MR et al. 2001. Clinical efficacy of granulocyte transfusion therapy in patients with neutropenia-related infections. *Leukaemia* 15: 203-207
55. Lefrere F, Bernard M, Audat F et al. 1999. Comparison of lenograstim vs filgrastim administration following chemotherapy for peripheral blood stem cell (PBSC) collection: a retrospective study of 126 patients. *Leuk Lymphoma* 35: 501-505
56. Leitman SF, Yu M, Lekstrom J. 1995. Pair controlled study of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) for granulocytapheresis donors. *Transfusion* 35 (Suppl): 53S (abstract)
57. Lieschke GJ, Burgess A. 1992. Granulocyte colony-stimulating factor and Granulocyte-Macrophage colony-stimulating factor. *N Engl J Med* 327: 28-35
58. Lieschke GJ, Grail D, Hodgson G et al. 1994. Mice lacking granulocyte colony-stimulating factor have chronic neutropenia, granulocyte and macrophage progenitor cell deficiency, and impaired neutrophil mobilisation. *Blood* 84: 1737-1746
59. Lightfoot T, Leitman SF, Stroncek DF. 2000. Storage of G-CSF-mobilized granulocyte concentrates. *Transfusion* 40: 1104-1110
60. Liles WC, Huang JE, Llewellyn D et al. 1997. A comparative trial of granulocyte-colony-stimulating factor, separately and in combination, for the mobilisation of neutrophils in the peripheral blood of normal volunteers. *Transfusion* 37:182-187
61. Linß W, Fanghänel J. 1998. *Histologie; Zytologie, Allgemeine Histologie, Mikroskopische Anatomie*. Berlin: de Gruyter
62. Lowenthal RM, Grossmann L, Goldman JM et al. 1975. Granulocyte transfusions intreatment of infections in patients with acute leukemia and aplastic anaemia. *Lancet* 1: 353-358

63. Mannoni P, Rodet M, Vernant PJ et al. 1979. Efficiency of prophylactic granulocyte transfusion in preventing infections in acute leukemia. *Blood Transfus Immunohaematol* 22: 503-518
64. McCullough J, Clay M, Herr G et al. 1999. Effects of granulocyte-colony-stimulating factor on potential normal granulocyte donors. *Transfusion* 39: 1136-1140
65. Morse EE, Freireich EJ, Carbone PP et al. 1966. The transfusion of leukocytes from donors with chronic myelocytic leukemia to patients with leukopenia. *Transfusion* 6: 183-192
66. Nash RA. Hematopoietic stem cell transplantation. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM. 1999. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 10. Edition. Baltimore: Williams & Wilkins
67. Offergeld R, Ritter S, Faensen D, Hamouda O. 2005. Infection epidemiological data among blood donors in Germany 2003-2004. Report of the Robert Koch Institute in accordance with Article 22 of the Transfusion Act. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 48(11): 1273-87
68. Oh-Eda M, Hasegawa M, Hattori K et al. 1990. O-linked sugar chain of human granulocyte colony-stimulating factor protects it against polymerization and denaturation allowing it to retain its biological activity. *J Biol Chem* 265: 11432-11435
69. Paul WE. Ed. 1993. *Fundamental Immunology*. 3. Edition. New York: Raven Press
70. Pedrazzoli P, Gibelli N, Pavesi L et al. 1996. Effects of glycosylated and non-glycosylated G-CSFs, alone and in combination with other cytokines, on the growth of human progenitor cells. *Anticancer Res* 16: 1781-1785



71. Penack O, Beinert T, Buchheidt D et al. 2006. Management of sepsis in neutropenia: guidelines of the infectious diseases working party (AGIHO of the German Society of Hematology and Onkology (DGHO). *Ann Hematol* 85: 424-433
72. Peters C, Minkov M, Matthes-Martin S et al. 1999. Leukocyte transfusions from rhG-CSF or prednisolone stimulated donors for treatment of severe infections in immunocompromized neutropenic patients. *Br J Haematol* 106: 689-696
73. Possinger K, Regierer AN, Hrsg. 2007. *Facharzt Hämatologie Onkologie*. 1. Auflage. München: Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag
74. Price TH, Bowden RA, Boeckh M et al. 2000. Phase I/II trial of neutrophil transfusion from donors stimulated with G-CSF and dexamethasone for treatment of patients with infections in hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 95: 3302-3309
75. Querol S, Cancelas JA, Amat L et al. 1999. Effect of glycosylation of recombinant human granulocytic colony-stimulating factor on expansion cultures of umbilical cord blood Cd34+ cells. *Haematologica* 84: 493-498
76. Reiffers J, Goldman JM, Armitage JO, Editors. 1998. *Blood stem cell transplantation*. London: Martin Dunitz Ltd
77. Rich RR, Fleisher TA, Schwartz BD et al. 1996. *Clinical Immunology, Principles and Practice*. St. Louis: Mosby-Year Book Inc.
78. Robinson SP, Marks DI. 2004. Granulocyte transfusion in the G-CSF era. Where do we stand?. *Bone Marrow Transplant* 34: 839-846
79. Roitt IM, Brostoff J, Male DK. 1995. *Kurzes Lehrbuch der Immunologie*. 3. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag
80. Rossi EC, Simon TS, Moss GS, Gould SA. 1996. *Principles of Transfusion Medicine*. 2. Edition. Baltimore: Williams & Wilkins

81. Saccardi R, Avanzi G, Bezzini R. 1997. Mobilization of PBSC for hematological rescue: comparison between glycosylated and non-glycosylated G-CSF. *Bone Marrow* 19: (Suppl. 11): 511
82. Schiødt I, Knudsen LM, Jensen L et al. 1998. Flow cytometry comparison of CD34+ subsets in bone marrow and peripheral blood after priming with glycosylated or non-glycosylated rhG-CSF. *Bone Marrow Transplant* 21: 1167-1170
83. Schultz W. 1922. Über eigenartige Halserkrankungen. *Dtsch Med Wochenschr* 48:1495
84. Shander A, Popovsky MA. 2005. Understanding the Consequences of Transfusion-Related Acute Lung Injury. *Chest* 128: 598-604
85. Spiekermann K, Roesler J, Emmerdoerfer A, Elsner J, Welte K. 1997. Functional features of neutrophils induced by B-CSF and GM-CSF treatment: differential effects and clinical implications. *Leukemia* 11: 466-478
86. Strauss RG. 1988. Granulopoiesis and neutrophil function in the neonate. In: Stockman JA, Pochedly C, eds. *Developmental and neonatal hematology*. New York: Raven Press
87. Strauss RG. 19. Granulocyte Transfusions In: Rossi EC, Simon TS, Moss GS, Gould SA. Editors. 1996. *Principles of Transfusion Medicine*. 2. Edition. Baltimore: Williams & Wilkins
88. Strauss RG. 1993. Therapeutic granulocyte transfusions in 1993. *Blood* 81: 1675-1678
89. Strauss RG. 1998. Neutrophil (granulocyte) transfusions in the new millenium. *Transfusion* 38: 710-712

90. Strauss RG, Villhauer PJ, Iming KM et al. 1987. Selecting the optimal dose of low-molecular-weight hydroxyethyl starch (Pentastarch) for granulocyte collection. *Transfusion* 27: 350-352
91. Stroncek DF, Yau YY, Oblitas J, Leitman SF. 2001. Administration of G-CSF plus dexamethasone produces greater granulocyte concentrate yields while causing no more toxicity than G-CSF alone. *Transfusion* 41: 1037-1044
92. Thomson AW. 1998. *The Cytokine Handbook*. 3. Edition. San Diego/London: ACADEMIC PRESS
93. Vamvakas EC, Pineda AA. 1996. Meta-analysis of studies of the efficacy of granulocyte transfusions in treatment of bacterial sepsis. *J Clin Apher* 11: 1-9
94. Vogler WR, Winton EF. 1977. A controlled study of the efficacy of granulocyte transfusion in patients with neutropenia. *Am J Med* 63: 548-555
95. Wang C, Eufemi M, Turano C, Giartosio A. 1996. Influence of the carbohydrate moiety on the stability of glycoproteins. *Biochemistry* 35: 7299-7307
96. Watts MJ, Addison I, Long SG et al. 1997. Crossover study of the haematological effects and pharmacokinetics of glycosylated and non-glycosylated G-CSF in healthy volunteers. *Br J Haematol* 98: 474-479
97. Welsch U. 2006. *Lehrbuch Histologie*. 2. Auflage. München: Urban und Fischer Verlag
98. Wheeler JC, Chauvenet AR, Johnson CA et al. 1987. Buffy coat transfusions in neonates with sepsis and neutrophil storage pool depletion. *Pediatrics* 79: 422-425
99. Worel N, Kurz M, Peters C, Höcker P. 2001. Serial granulocytapheresis under daily administration of fHuG-CSF: effects on peripheral blood counts, collection efficiency and yield. *Transfusion* 41: 390-395

100. Williams DM. Pancytopenia, Aplastic anemia and pure red cell aplasia. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM. 1999. Wintrobe's Clinical Hematology. 10. Edition. Baltimore: Williams & Wilkins
101. Winston DJ, Ho WG, Gale RP. 1982. Therapeutic granulocyte transfusion for documented infections: a controlled trial in 95 infectious granulocytopenic episodes. *Ann Intern Med* 97: 509-515
102. Yeghen T, Devereux S. 2001. Granulocyte transfusion: a review. *Vox Sanguinis* 81 :87-92

# 10 Anhang

## 10.1 Abbildungsverzeichnis

<b>Abb. 1:</b> Schematische Darstellung der hämatopoetischen Differenzierung; aus Linß W, Fanghänel J. 1998. Histologie; Zytologie, Allgemeine Histologie, Mikroskopische Anatomie. Berlin: de Gruyter.....	8
<b>Abb. 2:</b> Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Neutrophilen Granulozyten; aus Welsch U. 2006. Lehrbuch Histologie. 2. Auflage. München: Urban und Fischer Verlag.....	10
<b>Abb. 3:</b> Phasen der Migration der neutrophilen Granulozyten; aus Holländer GA, Hrsg. 2006. Immunologie, Grundlagen für Klinik und Praxis. 1. Auflage. München: Urban und Fischer Verlag.....	11
<b>Abb. 4:</b> Separation der Blutbestandteile in einem Zellseparator mit Durchflusszentrifugation; aus GAMBRO BCT. 2004. COBE®Spectra™ Apheresesystem, Schulungsarbeitsbuch, Das PMN-Programm. GAMBRO BCT.....	21
<b>Abb. 5:</b> Überwachung der Schnittstelle mittels Cologram; aus GAMBRO BCT. 2004. COBE®Spectra™ Apheresesystem, Schulungsarbeitsbuch, Das PMN-Programm. GAMBRO BCT.....	21
<b>Abb. 6:</b> spezifisches Gewicht der einzelnen Blutbestandteile; aus GAMBRO BCT. 2004. COBE®Spectra™ Apheresesystem, Schulungsarbeitsbuch, Das PMN-Programm. GAMBRO BCT.....	22
<b>Abb. 7:</b> WBC-Verteilung in den GK's der einzelnen Gruppen .....	38
<b>Abb. 8:</b> Verteilung der nG in den GK's der einzelnen Gruppen.....	38
<b>Abb. 9:</b> WBC im GK in Abhängigkeit vom prozessierten Volumen.....	39
<b>Abb. 10:</b> WBC im GK in Abhängigkeit von der Apheresedauer.....	40

<b>Abb. 11:</b> WBC im GK in Abhängigkeit vom HES-Verbrauch.....	40
<b>Abb. 12:</b> WBC im GK in Abhängigkeit vom Leukozytenausgangswert des Spenders.....	41
<b>Abb. 13:</b> WBC im GK in Abhängigkeit vom Leukozytenanstieg des Spenders nach G-CSF-Gabe.....	42
<b>Abb. 14:</b> pro Transfusion durchschnittlich übertragene WBC bzw. nG/m <sup>2</sup> KOF des Empfängers.....	43
<b>Abb. 15:</b> Verteilung der transfundierten WBC/m <sup>2</sup> KOF des Empfängers.....	44
<b>Abb. 16:</b> Verteilung der transfundierten nG/m <sup>2</sup> KOF des Empfängers.....	45

## 10.2 Tabellenverzeichnis

<b>Tab. 1:</b> Integrine der neutrophilen Granulozyten und ihre Liganden; modifiziert nach Holländer GA, Hrsg. 2006. Immunologie, Grundlagen für Klinik und Praxis. 1. Auflage. München: Urban und Fischer Verlag.....	12
<b>Tab. 2:</b> Übersicht der kontrollierten Studien über Granulozytentransfusion bei Erwachsenen.....	26
<b>Tab. 3:</b> Diagnosen der in die Studie einbezogenen Patienten und deren Aufgliederung in die verschiedenen Formen der erhaltenen Transplantation.....	33
<b>Tab. 4:</b> Mittelwerte der Blutparameter der Spender vor und nach Stimulation mit G-CSF.....	35
<b>Tab. 5:</b> Mittelwerte der Charakteristika der gewonnenen Granulozytenpräparate.....	37
<b>Tab. 6:</b> Veränderungen der Blutparameter bzw. Sauerstoffsubstitution nach GTx....	46
<b>Tab. 7:</b> Empfängereffekte in Gruppe 1 nach Transplantationsart und –material unterschieden.....	47
<b>Tab. 8:</b> Empfängereffekte in Gruppe 2 nach Transplantationsart und –material unterschieden.....	48
<b>Tab. 9:</b> Empfängereffekte in Gruppe 3 nach Transplantationsart und –material unterschieden.....	49
<b>Tab. 10:</b> Empfängereffekte in Gruppe 4 nach Transplantationsart und –material unterschieden.....	50
<b>Tab. 11:</b> Empfängereffekte in Gruppe 1 nach Diagnose der Empfänger unterschieden.....	51

<b>Tab. 12:</b> Empfängereffekte in Gruppe 2 nach Diagnose der Empfänger unterschieden.....	51
<b>Tab. 13:</b> Empfängereffekte in Gruppe 3 nach Diagnose der Empfänger unterschieden.....	51
<b>Tab. 14:</b> Empfängereffekte in Gruppe 4 nach Diagnose der Empfänger unterschieden.....	52
<b>Tab. 15:</b> Empfängereffekte in Gruppe 1 nach Überleben der Empfänger unterschieden.....	52
<b>Tab. 16:</b> Empfängereffekte in Gruppe 2 nach Überleben der Empfänger unterschieden.....	53
<b>Tab. 17:</b> Empfängereffekte in Gruppe 3 nach Überleben der Empfänger unterschieden.....	53
<b>Tab. 18:</b> Empfängereffekte in Gruppe 4 nach Überleben der Empfänger unterschieden.....	53



### 10.3 Danksagung

Ich möchte mich an erster Stelle bei Frau Prof. Dr. med. D. Barz für die freundliche Überlassung des Themas bedanken. Ihre stete Ansprechbarkeit in wissenschaftlichen Fragen sowie die zahlreichen Anregungen und Ratschläge waren eine große Hilfe und Unterstützung. Für die Möglichkeit der öffentlichen Präsentation der Ergebnisse auf dem Jahreskongress der DGTI 2006 bedanke ich mich insbesondere.

In gleicher Weise bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. F. Zintl für die wissenschaftliche Beratung und wichtigen Hinweise bezüglich der klinischen Bereiche dieser Arbeit.

Besonderer Dank gilt Frau Dr. med. S. Rummler, die mit Ihrer freundschaftlichen und unermüdlichen Beratung und Unterstützung während des gesamten Verlaufes der Entstehung dieser Arbeit einen maßgeblichen Anteil am Gelingen der selbigen hat. An gleicher Stelle Frau danke ich Frau Dr. med. K. Althaus für die Hilfe bei den ersten Versuchen des wissenschaftlichen Arbeitens.

Ebenfalls danken möchte ich Herrn Dr. med. T. Lorenzen und den Schwestern der Abteilung Klinische Apherese und der Blutspendeabteilung für die freundliche Hilfe bei der Bearbeitung der Spenderakten und Aphereseprotokolle sowie Frau Kretschmar für die freundliche Hilfe bei der Beschaffung und Bearbeitung der Krankenakten im Klinikum für Kinder- und Jugendmedizin.

Für die Beratung und Unterstützung bei der statistischen Auswertung gilt ein spezieller Danke Frau Dr. med. H. Hoyer.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern für Ihre stetige Unterstützung und Ihren großen Rückhalt danken, ohne die mein Studium und demnach meine Dissertation nicht denkbar gewesen wären.

Meiner Lebensgefährtin und meiner Tochter gilt mein besonderer Danke. Ohne Ihren Rückhalt, Geduld und Unterstützung hätte ich nicht den Mut schöpfen können, die Zweifel an dem erfolgreichen Abschluss dieser Arbeit zu zerstreuen.

## 10.4 Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name: Heinemann, Frank  
Geboren am: 29. März 1982 in Halle / Saale

### Schulbildung

09/1988 – 08/1992 Albert-Schweitzer-Grundschule Weimar  
09/1992 – 06/2000 Hoffmann-von-Fallersleben Gymnasium Weimar  
Abschluss: Abitur – Allgemeine Hochschulreife

### Wehrdienst

07/2000 – 04/2001 3./Instandsetzungsbataillon 51 Homberg/Efze

### Studium

10/2001 – 09/2003 Vorklinisches Studium an der Friedrich-Schiller-Universität Jena  
09/2003 Ärztliche Vorprüfung an der Friedrich-Schiller-Universität Jena  
10/2003- 07/2006 Klinisches Studium an der Friedrich-Schiller-Universität Jena  
08/2006- 07/2007 Praktisches Jahr

1. Tertian in der Klinik für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie des Sophien- und Hufeland Klinikum Weimar  
Chefarzt: PD. Dr. med. F. Schulze
2. Tertian in Klinik für Innere Medizin der Friedrich-Schiller-Universität Jena  
Chefarzt: Prof. Dr. med. G. Wolf
3. Tertian in der Klinik für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde der Friedrich-Schiller-Universität Jena  
Chefarzt: Prof. Dr. med. O. Guntinas-Lichius

12/2007 Abschluss des Studiums  
seit 01/2008 Assistenzarzt in der Klinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde des Sophie- und Hufeland Klinikums Weimar  
Chefarzt: Prof. Dr. med. O. Arndt

Jena, 15.10.2008

## 10.5 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass

mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes unterstützt haben: Prof. Dr. med. D. Barz und Dr. med. S. Rummler,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, 15.10.2008