

Hochdosistherapie und Blutstammzelltransplantation bei malignen Erkrankungen: Empfehlungen zur Qualitätssicherung¹

High-dose Therapy and Blood Stem Cell Transplantation in Malignancies: Recommendations for Quality Assurance¹

R. Haas^{2,3}

Zusammenfassung: In Heidelberg hat sich seit 1983 an der Abteilung V der Medizinischen Klinik und Poliklinik (Schwerpunkt: Hämatologie, Onkologie und Rheumatologie) ein Transplantationszentrum für Knochenmark und Blutstammzellen entwickelt, das auf der interdisziplinären Zusammenarbeit mit den anderen Abteilungen der Inneren Medizin, der Strahlenklinik, der Thoraxklinik in Heidelberg-Rohrbach, den diagnostischen Laborinstituten und dem Deutschen Krebsforschungszentrum basiert. Die Krankenversorgung ist dabei in wissenschaftliche Projekte eingebunden, um dem experimentellen Therapieverfahren gerecht zu werden und für die einzelnen Indikationen eine rationale Grundlage zu schaffen. Anders als bei der allogenen Transplantation sind bei der autologen Transplantation die Patienten gleichzeitig Spender und Empfänger. Um so mehr hängt der Therapieerfolg von der Kontinuität der Betreuung ab, die sich von der Indikationsstellung über die Gewinnung der Blutstammzellen, die Hochdosis-Therapie mit Transplantation bis hin zur Nachsorge erstreckt.

Schlüsselwörter: Hämatopoetische Stammzelltransplantation/Standards; Interdisziplinäres Behandlungsteam; Knochenmarktransplantation/Standards; Leukapherese; Neoplasien/Arzneimitteltherapie.

Summary: Since 1983, a transplantation unit for bone marrow and blood stem cells has been evolved at the Department of Internal Medicine V (Center of Hematology, Oncology and Rheumatology, University of

Heidelberg). It is based on cooperation with the other departments of Internal Medicine as well as with the departments of Radiology, Thoracic Medicine and the involved diagnostic and theoretical institutions including the "Deutsches Krebsforschungszentrum". Patient care is integrated into scientific projects in order to consider the experimental design and to develop a rational base for the application of the therapy. In contrast to allogeneic transplantation, patients are at the same time donors and recipients. Therefore, the outcome depends on the continuity of patient care that comprises defining the indication for therapy, collection of blood stem cells, high-dose therapy with blood stem cell transplantation and continuous care after therapy.

Keywords: Bone Marrow Transplantation/standards; Hematopoietic Stem Cell Transplantation/standards; Leukapheresis; Neoplasms/drug therapy; Patient Care Team.

Die Einführung hämatopoetischer Wachstumsfaktoren Mitte der achtziger Jahre hat die Behandlung von Patienten mit Hämoblastosen und soliden Tumoren nachhaltig verändert [1,2]. Die Gabe dieser gentechnologisch hergestellten Hormone verkürzt nicht nur die Dauer der schweren Neutropenie nach konventionell dosierter Chemotherapie, sondern führt auch zu einem Anstieg der hämatopoetischen Vorläufer- und Stammzellen im Blut, die für eine Transplantation nach Hochdosistherapie genutzt werden können [3-5]. Eine weitere Dosisintensivierung war möglich geworden, weil die Myelotoxizität durch die Stammzelltransplantation keine wesentliche Rolle mehr spielte [6].

Vielversprechende Behandlungsergebnisse wurden zunächst bei Patienten mit Non-Hodgkin Lymphom oder Morbus Hodgkin erzielt [7-10]. Die Blutstammzelltransplantation hat Hoffnungen geweckt, die heute bei vielen Erkrankungen noch nicht gerechtfertigt sind, wie zum Beispiel beim Bronchialkarzinom und bei Tumoren des Knochens, des Gelenkknorpels und des Gehirns. Eine derartige Auswei-

¹ Vorgetragen auf dem 4. Symposium der Reihe „Standardmethoden in der Hämatologie und Onkologie“ des Arbeitskreises Hämatologische Laborarbeit, Qualitätssicherung und Normung, DGHO-Jahrestagung Oktober 1995 in Hamburg

² Medizinische Klinik und Poliklinik, Abteilung V mit Schwerpunkten Hämatologie, Onkologie und Rheumatologie (Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. W. Hunstein)

³ Korrespondenzadresse: PD Dr. med. Rainer Haas, Medizinische Klinik und Poliklinik, Abt. V, Universität Heidelberg, Hospitalstr. 3, D-69115 Heidelberg. Fax +49-6221-563813

Eingegangen am 13. Feb. 1996

lung ist medizinisch schwer begründbar und ökonomisch nicht tragbar. Neben einer rational begründbaren Indikationsstellung bedarf es vor allem verbindlicher Standards zur Qualitätssicherung. Diese betreffen in erster Linie auch Gewinnung, Aufarbeitung und Lagerung der Blutstammzelltransplantate sowie die strukturellen und personellen Anforderungen an das hämatologisch-onkologische Behandlungszentrum.

Gewinnung des Blutstammzelltransplantates

Autologe Blutstammzelltransplantate

Bei Patienten mit Hämoblastosen oder soliden Tumoren haben sich zwei Verfahren zur Stammzellgewinnung durchgesetzt: Der hämatopoetische Wachstumsfaktor, z.B. Granulozyten Kolonie-stimulierender Faktor (G-CSF) oder Granulozyten-Makrophagen Kolonie-stimulierender Faktor (GM-CSF), wird entweder während der 'steady-state-Hämatopoese' oder nach einer vorangegangenen Chemotherapie verabreicht [11-15]. Die Stammzellmobilisierung ist heute noch Gegenstand klinischer Studien, wobei insbesondere die Möglichkeit einer Tumorzellmobilisierung durch immunzytologische und molekularbiologische Methoden untersucht werden muß [16-17].

Der Zeitpunkt, wann eine Leukapherese durchgeführt bzw. die Blutstammzellsammlung beendet wird, hängt von der Konzentration der im Blut zirkulierenden CD34⁺ Vorläuferzellen ab. Eine Standardisierung der Meßmethode für CD34⁺ Zellen ist daher eine entscheidende Grundlage für die Vergleichbarkeit von Resultaten aus Mobilisierungs- und Transplantationsstudien und sollte durch Ringversuche erreicht werden.

Allogene Blutstammzellgewinnung

Im März 1995 erschienen erste Ergebnisse aus drei Studien zur allogenen Blutstammzelltransplantation bei Patienten mit hämatologischen Erkrankungen und soliden Tumoren [18-20]. Die HLA (human-leucocyte antigen)-kompatiblen Geschwisterspender erhielten für 5 bis 8 Tage G-CSF. Die Behandlung verlief ohne Komplikationen und erlaubte die Sammlung einer ausreichenden Menge an Blutstammzellen mit ein bis zwei Leukapherese. Empfehlungen und Richtlinien für die Aufklärung und Durchführung einer Blutstammzellsammlung bei normalen Spendern für eine allogene Geschwisterspende oder HLA-identische Fremdspende sollten federführend von Blutbanken in Zusammenarbeit mit der Ethikkommission des Transplantationszentrums erarbeitet werden.

Nicht standardisierte Abkürzungen: ACD, acid citrate dextrose; AML, akute myeloische Leukämie; DMSO, Dimethylsulfoxyd; FACS, fluorescent activated cell sorter; G-CSF, granulocyte colony-stimulating factor; GM-CSF, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; HLA, human leukocyte antigen; PCR, polymerase chain reaction.

Leukapherese

Zur Gewinnung von Blutstammzellen werden Zellseparatoren verwendet, die auch zur Gewinnung von Thrombozytenhochkonzentraten von Einzelspendern benützt werden. Die Wartung der Geräte unterliegt naturgemäß den Bestimmungen des TÜV.

Bei der Leukapherese wird ein extrakorporaler Kreislauf geschaffen, bei dem zwischen 80 und 150 ml Blut pro Minute durch den Separator fließen. Um diese Flußraten zu erzielen, werden großlumige Sammelkatheter verwendet [21], die über die Vena jugularis interna oder Vena subclavia in die obere Hohlvene gelegt werden. Das Einbringen des Katheters sollte wegen des Blutungs- und Infektionsrisikos geschulten Ärzten vorbehalten bleiben. Aufgrund des großen Lumens der Katheter besteht außerdem eine erhöhte Thrombose- und Blutungsgefahr, weshalb die Patienten während der Blutstammzellgewinnung zur Gabe von Antikoagulantien und Thrombozyten in stationärer Überwachung bleiben.

Die Indikation zur Durchführung für eine Leukapherese wird vom Stationsarzt gestellt, und während der Leukapherese wird der Patient durch eine Pflegeperson kontinuierlich überwacht. Die meisten Patienten sind zum Zeitpunkt der Leukapherese noch durch die Erkrankung und vorangegangene Chemotherapie immunsupprimiert, weshalb die Zellseparatoren abseits von Publikumsverkehr aufgestellt werden sollten.

Der Leukapheresevorgang, die Blutbildwerte (Leukozyten- und Thrombozytenzahl, Hämoglobinkonzentration) vor und nach Separation, die Zellausbeute sowie die begleitenden mikrobiellen Untersuchungsergebnisse werden für jedes Leukaphereseprodukt protokolliert. Außerdem werden die Lot- und Chargennummer des LeukaphereseSETS, die infundierte Menge an ACD sowie Vitalparameter des Patienten dokumentiert.

Aufarbeitung des Leukaphereseprodukts

Nach Entnahme des Leukapheresebeutel aus der Sammelkammer werden die in der mononukleären Zellfraktion enthaltenen Stammzellen durch Zentrifugation und Abtrennung des Plasmas konzentriert. Die Zellen werden in sterilem Medium nach Zugabe von autologem Plasma resuspendiert und in einen Einfrierbeutel mit Dimethylsulfoxyd (DMSO) als Gefrierlösung gefüllt. Die Zellen werden danach mit Hilfe eines computergesteuerten Programms auf minus 100 °C eingefroren, und die Lagerung erfolgt bei -196 °C in flüssigem Stickstoff. Die ordnungsgemäße Funktion der Einfriergeräte sowie die Wartung der Lagerungstanks unterliegen ebenfalls der kontinuierlichen Qualitätssicherung.

Qualitätssicherung des Leukaphereseprodukts

Hämatopoetische Vorläufer- und Stammzellen lassen sich durch Kulturverfahren oder direkte Immunfluoreszenzanalyse nachweisen [22, 23]. Die Kulturassays erlauben nicht nur eine Quantifizierung der

Stammzellen, sondern spiegeln auch deren Proliferationsvermögen und Wachstum wider. Deshalb dienen sie vor allem der Qualitätskontrolle des Einfrier- und Auftauvorgangs. Mittels Fluorescence-Activated Cell Sorter (FACS) läßt sich immunologisch die Zahl der CD34⁺ Stammzellen sehr genau bestimmen. Durch monoklonale Antikörper, die gegen linien- und differenzierungsspezifische Antigene gerichtet sind, lassen sich darüber hinaus unterschiedliche CD34⁺ Subpopulationen charakterisieren, um die Komposition eines Transplantates und dessen Abhängigkeit vom Mobilisierungsverfahren genauer zu untersuchen [13,24,25]. Diese wissenschaftlich orientierten Untersuchungen gehen über eine Qualitätssicherung hinaus, sind jedoch für die Weiterentwicklung der Blutstammzell-Transplantation eine entscheidende Voraussetzung. So zeichnen sich auch heute schon weitere Methoden zur Bewertung der hämatopoetischen Qualität eines Stammzelltransplantates ab, indem molekularbiologisch durch „southern blots“ die mittlere Telomerlänge von CD34⁺ Stammzellen ermittelt wird, woraus Rückschlüsse über die „Alterung“ von Stammzellen gezogen werden können [26].

Neben dem Gehalt an normalen hämatopoetischen Vorläuferzellen müssen die Leukaphereseprodukte auch auf Tumorzellen hin untersucht werden. Der Nachweis maligner Zellen ist von klinischer Bedeutung, da die Ergebnisse aus Transplantationsstudien bei Patienten mit AML, Neuroblastom sowie niedrig-malignem Non-Hodgkin Lymphom für eine Beteiligung reinfundierter Tumorzellen bei der Reziwentstehung sprechen [27-29].

Die Methoden zum Nachweis residualer Tumorzellen sind vielfältig. Sie erstrecken sich von immunzytologischen Methoden bis hin zu molekularbiologischen Verfahren, die auf der Polymeraseketten-Reaktion (PCR) basieren [16,17]. Für die meisten hämatologischen Erkrankungen sind Nachweismethoden für residuale Tumorzellen entweder bereits etabliert oder in klinisch-wissenschaftlicher Erprobung.

Unverzichtbarer Bestandteil einer Qualitätssicherung ist selbstverständlich die mikrobiologische Untersuchung jedes Leukaphereseproduktes.

Ex vivo-Methoden zur Reinigung von peripheren Blutstammzelltransplantaten

Zur Verringerung der im Transplantat enthaltenen Tumorzellen stehen Reinigungs- („Purging“-) bzw. Anreicherungsverfahren für normale Stammzellen zur Verfügung. Beim Purging benutzt man monoklonale Antikörper, die gegen Tumorzell-assoziierte Antigene gerichtet sind, während für die Anreicherung von hämatopoetischen Stammzellen ein gegen CD34 gerichteter Antikörper verwendet wird, der an Beadpartikel oder eine Affinitätsäule gebunden ist. Diese Methoden sind noch in klinisch-wissenschaftlicher Erprobung und sind nur nach gründlicher Schulung und Einarbeitung des medizinisch-technischen Personals

anwendbar. Als Grundlage dienen die von Labors und Herstellern erarbeiteten Richtlinien [30].

Vergleichbar ist die Situation bei der ex-vivo Expansion von Blutstammzellen[31,32]. Darunter versteht man die Kultivierung von Stammzellen mit hämatopoetischen Wachstumsfaktoren bzw. Zytokinen, um die Zahl reifer Vorläuferzellen im Transplantat zu erhöhen. Zum anderen versucht man, frühe Stammzellen mit hoher Selbsterneuerungskapazität zu vermehren, um auch bei Patienten mit geringer Ausbeute eine ausreichende Menge für eine Transplantation zu erhalten. Wie Purging und positive Selektion von CD34⁺ Zellen sind diese Verfahren derzeit nur unter klinisch-wissenschaftlichen Studienbedingungen durchführbar.

Transplantation peripherer Blutstammzellen

Nach Abschluß der Hochdosistherapie werden die peripheren Blutstammzellen zurückinfundiert.

Bei autologen Transplantaten werden die Leukapheresbeutel im Wasserbad bei 37 °C aufgetaut, die Zellsuspension in einer 50-ml-Spritze aufgezogen und schließlich über einen zentralvenösen Cuff-Cat-Katheter langsam infundiert. Aliquots der Zellsuspension werden im klonogenen Kulturassay und durch DNA-Färbung auf Viabilität hin untersucht sowie mikrobiologisch in einem Hygiene-Institut untersucht. Wie bei der Leukapheresese wird jeder Einzelschritt der Transplantation dokumentiert. Eine Zusammenfassung der Empfehlungen für ein Transplantationslabor ist in Tabelle 1 gegeben.

Tabelle 1 Empfehlungen zur Qualitätssicherung: Transplantationslabor

Zellkulturen

- Klonogener Kulturassay;
- Viabilitätsnachweis zur Kontrolle der Kryopräservierung
- Cobble stone forming cell assay;
- Nachweis früher hämatopoetischer Stammzellen für Langzeithämatopoese nach Transplantation

Immunfluoreszenzanalyse der CD34⁺ Zellen

- Monitoring der Blutstammzellgewinnung
- Bestimmung der Stammzellzahl im Transplantat
- Subtypisierung zur Beschreibung der Transplantatzusammensetzung

Ex-vivo Verfahren für Knochenmark- und Blutstammzelltransplantate

- Purging-Methoden mit monoklonalen Antikörpern und magnetischen Beadpartikeln
- CD-34⁺ Zellanreicherung
- Ex-vivo Kultivierung von CD34⁺ Zellen
- Transfektion von Stammzellen für somatische Gentherapie

Nachweis residualer Tumorzellen

- Immunfluoreszenzanalyse für aberrante Ko-Expression
- Molekularbiologische Methoden
 - Southern Blot
 - Polymerase-Kettenreaktion (PCR)
- Immunzytologische Methoden
- Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung (FISH)

Tabelle 2 Empfehlungen zur Qualitätssicherung:
Hämatologisch-onkologisches Behandlungszentrum

- Krankenhaus der Maximalversorgung mit hämatologisch-onkologischem Schwerpunkt
- Enge Kooperation mit anderen Kliniken, Fachabteilungen und theoretischen Instituten, wie Strahlenklinik, Gynäkologie, Urologie, Institut für Immunologie und Serologie, Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Virologie
- Ärzte mit hämatologisch-onkologischer Fachausbildung sowie Pflegepersonal mit intensivmedizinischer Schulung
- Mindestzahl von 20 Transplantationen pro Jahr

Anforderung an das hämatologisch-onkologische Behandlungszentrum

Grundlage für eine erfolgreiche Blutstammzelltransplantation [33] sind neben den labortechnischen Voraussetzungen internistische Fachärzte mit hämatologisch-onkologischer Ausbildung sowie Pfleger und Schwestern mit intensivmedizinischer Erfahrung. Pro Jahr sollte ein Minimum von 20 Transplantationen durchgeführt werden, um die nötige Routine und Erfahrung zu entwickeln, die durch Teilnahme an Fort- und Weiterbildungsveranstaltungen vertieft werden müssen. Das Zentrum muß eine maximale Krankenversorgung gewährleisten können, d.h., es muß mindestens über ein Röntgeninstitut, ein Zentral-

Tabelle 3 Strukturmodell eines Blutstammzell- und Knochenmark-Zentrums

Medizinische Klinik

- Kardiologie/Pulmonologie
- Gastroenterologie
- Endokrinologie

Radiologische Universitätsklinik

- Ganzkörperbestrahlung
- "Involved-field" Radiotherapie nach Transplantationen

Universitäts-Frauenklinik

- Mamma-Ca/Ovarial-Ca
- Nabelschnurvenen-Stammzellen
- Minimal Diseases Nachweis

Universitäts-Kinderklinik

- Sarkome

Urologische Universitätsklinik

- Hodentumoren

Orthopädische Universitätsklinik

- Weichteilsarkome

Psychosozialer Dienst

Auswärtige Zentren im Rahmen klinischer Studien

Apotheke

- Zentrale Zytostatikazubereitung

Klinik

- Ambulanzen
 - Erstkonsultation
 - Nachsorge

Leukaphereseeinheit

- Stammzellgewinnung

Tagesstation

- Staginguntersuchungen
- ambulante Chemotherapie und Transfusionen von Blutprodukten

Allgemeinstation

- Konventionelle Chemotherapie mit Stammzellmobilisierung

Transplantationsstation mit Umkehrisolation

- Hochdosistherapie mit Transplantation

Transplantationslabor

- Normale Hämatopoese
 - Zellkulturen/Immunfluoreszenz
- Minimal Disease Nachweis
 - Molekularbiologie (PCR, Southern Blot)
 - In-situ-Fluoreszenz-Hybridisierung (FISH)
- Large-scale Zellpräparation mit Kryopräservierung und Lagerung der Transplantate
- Purgung und CD34⁺ Zellanreicherung
- Ex vivo Kultivierung von CD34⁺ Zellen

Klinische Kooperationseinheit am Deutschen Krebsforschungszentrum (DFKR)

- Somatische Gentherapie mit hämatopoetischen Stammzellen
- Antisense-Strategien
- AAV-Vektoren
- Retroviren
- Telomerlängen in CD34⁺ Stammzellen
- Hämatopoese bei Patienten mit HIV-Infektion

Institut für Immunologie/Serologie

- HLA-Typisierung
- HLA-Antikörper-Screening
- Bereitstellung von Blutprodukten
- Allogene Blutstammzellgewinnung

Hygiene/Mikrobiologie/Virologie

- Überwachung der Krankenstationen einschl. Personal, Lüftungstechnik
- Transplantationslabor
- Transplantate
- Prophylaktische Abstrichuntersuchungen
- Infektiologische Visiten

laboratorium mit Notfalldienst sowie über Beatmungsplätze verfügen. Ferner bedarf es einer engen Zusammenarbeit mit der Strahlenklinik, einem Institut für Hygiene und Virologie sowie einem Institut für Immunologie und Serologie einschließlich Blutbank (Tabelle 2 und 3).

Kernstück des Behandlungszentrums ist die Transplantationseinheit mit erfahrenen Ärzten und Pflegepersonal. Da die Patienten nach einer Hochdosistherapie mit Stammzelltransplantation stark immunsupprimiert und durch bakterielle Infektionen und Blutungen gefährdet sind, bedarf es auch spezieller Maßnahmen zur Qualitätskontrolle der hämatologisch-onkologischen Pflege.

Ein weiterer Aspekt der Qualitätssicherung betrifft die Nachsorge der Patienten, zumal die Patienten selbst bei normaler Blutbildung noch bis zu 6 Monaten immungeschwächt sind. Grundlage dafür ist eine enge Zusammenarbeit des Transplantationszentrums mit den einweisenden Hausärzten und Krankenhäusern, um Spätkomplikationen zu erkennen und rechtzeitig zu behandeln.

Literatur

1. Wong GG, Witek JS, Temple PA, Wilkens KM, Leary AC, Luxenberg DP, Jones SS, Brown EL, Kay RM, Orr EC, et al. Human GM-CSF: Molecular cloning of the complementary DNA and purification of the natural and recombinant proteins. *Science* 1985;228:810-5.
2. Souza LM, Boone TC, Gabrilove J, Lai PH, Zsebo KM, Murdoch DC, Chazin VR, Bruszewski J, Lu H, Chen KK, et al. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: Effects on normal and leukemic myeloid cells. *Science* 1986;232:61-5.
3. Gianni AM, Bregni M, Siena S, Orazi A, Stern AC, Gandola L, Bonadonna G. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor reduces hematologic toxicity and widens clinical applicability of high-dose cyclophosphamide treatment in breast cancer and non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1990;8:768-78.
4. Crawford J, Ozer H, Stoller R, Johnson D, Lyman G, Tabbara I, Kris M, Grous J, Picozzi V, Rausch G, et al. Reduction by granulocyte colony-stimulating factor of fever and neutropenia induced by chemotherapy in patients with small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 1991;325:164-70.
5. Socinski MA, Cannistra SA, Elias A, Antman KH, Schnipper L, Griffin JD. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor expands the circulating hematopoietic progenitor cell compartment in man. *Lancet* 1988;1:1194-8.
6. Kessinger A, Armitage JO. The evolving role of autologous peripheral stem cell transplantation following high-dose therapy for malignancies. *Blood* 1991;77:211-3.
7. Kessinger A, Armitage JO, Smith DM, Landmark JD, Bierman PJ, Weisenburger DD. High-dose therapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation for patients with lymphoma. *Blood* 1989;74:1260-5.
8. Brice P, Marolleau JP, Dombret H, Lepage E, Baruchel A, Adam M, Miclea JM, Sitty X, Gisselbrecht C. Autologous peripheral blood stem cell transplantation after high-dose therapy in patients with advanced lymphomas. *Bone Marrow Transplantation* 1992;9:337-42.
9. Haas R, Hohaus S, Egerer G, Ehrhardt R, Witt B, Hunstein W. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (rhGM-CSF) subsequent to chemotherapy improves collection of blood stem cells for autografting in patients not eligible for bone marrow harvest. *Bone Marrow Transplantation* 1992;9:459-65.
10. Haas R, Moos M, Karcher A, Mohle R, Witt B, Goldschmidt H, Fruhauf S, Flentje M, Wannenmacher M, Hunstein W. Sequential high-dose therapy with peripheral-blood progenitor-cell support in low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1994;12:1685-92.
11. Dührsen U, Villeval JL, Boyd J, Kannourakis G, Morstyn G, Metcalf D. Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. *Blood* 1988;72:2074-81.
12. Haas R, Ho AD, Bredthauer U, Cayeux S, Egerer G, Knauf W, Hunstein W. Successful autologous transplantation of blood stem cells mobilized with recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Exp Hematol* 1990;18:94-8.
13. Dreger P, Haferlach T, Eckstein V, Jacobs S, Suttrop M, Löffler H, Müller Ruchholtz W, Schmitz N. G-CSF-mobilized peripheral blood progenitor cells for allogeneic transplantation: safety, kinetics of mobilization, and composition of the graft. *Br J Haematol* 1994;87:609-13.
14. Hohaus S, Goldschmidt H, Ehrhardt R, Haas R. Successful autografting following myeloablative conditioning therapy with blood stem cells mobilized by chemotherapy plus rhG-CSF. *Exp Hematol* 1993;21:508-14.
15. Bensinger WI, Longin K, Appelbaum F, Rowley S, Weaver C, Lilleby K, Gooley T, Lynch M, Higano T, Klarnet J, et al. Peripheral blood stem cells (PBSCs) collected after recombinant granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF): An analysis of factors correlating with the tempo of engraftment after transplantation. *Br J Haematol* 1994;87:825-31.
16. Brugger W, Bross KJ, Glatt M, Weber F, Mertelsmann R, Kanz L. Mobilization of tumor cells and hematopoietic progenitor cells into peripheral blood of patients with solid tumors. *Blood* 1994;83:636-40.
17. Moos M, Schulz R, Cremer F, Sucker C, Schmohl D, Döhner H, Goldschmidt H, Haas R, Hunstein W. Detection of minimal residual disease by polymerase chain reaction in B cell malignancies. *Stem Cells* 1995;13(Suppl):42-51.
18. Bensinger WI, Weaver CH, Appelbaum FR, Rowley S, Demirer T, Sanders J, Storb R, Buckner CD. Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells mobilized by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1995;85:1655-8.
19. Koerbling M, Huh YO, Durett A, Mirza N, Miller P, Engel H, Anderlini P, van Besien K, Andreeff M, Przepiorka D, et al. Allogeneic blood stem cell transplantation for refractory leukemia and lymphoma: Potential advantage of blood over marrow allografts. *Blood* 1995;85:1659-65.
20. Schmitz N, Dreger P, Suttrop M, Rohwedder EB, Haferlach T, Löffler H, Hunter A, Russell NH. Primary transplantation of allogeneic peripheral blood progenitor cells mobilized by filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor). *Blood* 1995;85:1666-72.
21. Hahn U, Goldschmidt H, Salwender H, Haas R, Hunstein W. Large-bore central venous catheters for the collection of peripheral blood stem cells. *J Clin Apheresis* 1995;10:12-6.
22. Fauser AA, Messner HA. Identification of megakaryocytes, macrophages and eosinophils in colonies of human bone marrow, containing neutrophilic granulocytes and erythroblasts. *Blood* 1979;53:1023-27.
23. Fruhauf S, Haas R, Conrad C, Murea S, Witt B, Mohle R, Hunstein W. Peripheral blood progenitor cell (PBPC) counts during steady-state hematopoiesis allow to estimate the yield of mobilized PBPC after filgrastim (R-metHuG-CSF)-supported cytotoxic chemotherapy. *Blood* 1995;85:2619-26.
24. Haas R, Möhle R, Pförsich M, Fruhauf S, Witt B, Goldschmidt H, Hunstein W. Blood-derived autografts collected during granulocyte colony-stimulating factor - enhanced recovery are enriched with early Thy-1+ hematopoietic progenitor cells. *Blood* 1995;85:1936-43.
25. Haas R, Möhle R, Murea S, Goldschmidt H, Pförsich M, Witt B, Hunstein W. Characterization of peripheral blood progenitor cells mobilized by cytotoxic chemotherapy and recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *J Hematotherapy* 1994;3:323-30.
26. Vaziri H, Dragowska W, Allsopp RC, Thomas TE, Harley CB, Lansdorp PM. Evidence for a mitotic clock in human hematopoietic

stem cells: Loss of telomeric DNA with age. Proc Natl Acad Sci USA 1994;91:9857-60.

27. Gribben JG, Freedman AS, Neuberg D, Roy DC, Blake KW, Woo SD, Grossbard ML, Rabinowe SN, Coral F, Freeman GJ, et al. Immunologic purging of marrow assessed by PCR before autologous bone marrow transplantation for B-cell lymphoma. N Engl J Med 1991;325:1525-33.

28. Gribben JG, Neuberg D, Freedman AS, Gimmi CD, Pesek KW, Barber M, Saporito L, Woo SD, Coral F, Spector N, et al. Detection by polymerase chain reaction of residual cells with the *bcl-2* translocation is associated with increased risk of relapse after autologous bone marrow transplantation for B-cell lymphoma. Blood 1993;81:3449-57.

29. Brenner MK, Rill DR, Holladay MS, Heslop HE, Moen RC, Buschle M, Krance RA, Santana VM, Anderson WF, Ihle JN. Ge-

ne-marking to trace origin of relapse after autologous bone-marrow transplantation. Lancet 1993;341:85-86.

30. Gee A. Purging of peripheral blood stem cell grafts. Stem Cells 1995;13 (Suppl. 3), 52-62.

31. Brugger W, Mocklin W, Heimfeld S, Berenson RJ, Mertelsmann R, Kanz L. Ex vivo expansion of enriched peripheral blood CD34+ progenitor cells by stem cell factor, interleukin-1 beta (IL-1), IL-6, IL3, interferon-gamma and erythropoietin. Blood 1993;81:2579-84.

32. Haylock DN, To LB, Dowse TL, Juttner CA, Simmons PJ. Ex vivo expansion and maturation of peripheral blood CD34+ cells into the myeloid lineage. Blood 1992;80:1405-12.

33. Haas R, Hunstein W. Stem cell grafting - From hematological rescue to somatic gene therapy. Dayton(USA): Alpha Med Press. 1995:1-119.

Veranstaltungshinweis

International Congress on Clinical Enzymology

IFCC Satellite Meeting

Co-sponsors:

Association of Clinical Biochemists
German Society of Clinical Chemistry
German Society of Laboratory Medicine

Organising Committee:

Dr. F. Dati, Marburg
Dr. J. P. Luzio, Cambridge
Dr. G. Maguire, Cambridge
Prof. D. Moss, London
Prof. C. P. Price, London

Robinson College Cambridge,
U. K.

July 13th - 16th, 1996.

July 13th Designer Enzymes
July 14th The Clinical Enzymology of the Cell
July 15th Consensus Conference on the Use of Biochemical Markers
in the Investigation of Ischaemic Heart Disease

Contact address:

Dr. G. Maguire
Dept. of Clinical Biochemistry
Addenbrooke's Hospital
Cambridge, CB2 2QR, UK

Go ahead



Nutzen Sie den Vorsprung von UniCAP. Der erste Vollautomat für die Allergie-Diagnostik. Kompakte Technologie und zuverlässige, sichere CAP-Ergebnisse. Schnell, einfach, flexibel.


Piramada

Piramada GmbH
Helmholtzstraße 2
12205 Berlin
Tel. 030 639 2000
Fax 030 639 2001

UniCAP

UniPoint - Steuer- und Auswertesoftware für die HPLC

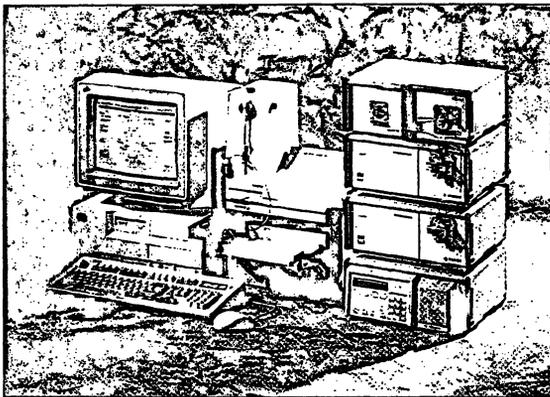
Mit UniPoint™ können Sie die Module Ihrer GILSON-HPLC-Anlage jetzt zentral von einem Rechner aus steuern und koordinieren.

Multitasking macht eine effektive Nutzung des Computers möglich: Sie können während eines Laufs nicht nur gleichzeitig mehrere Systeme koordinieren, sondern auch Methoden entwickeln und Daten nachbearbeiten. Oder - falls Sie es wünschen - in anderen Windows- oder Nicht-Windows-Programmen arbeiten.

Alte GILSON-Module können ebenso wie neue eingebunden und miteinander kombiniert werden.

So wird Ihre HPLC-Anlage mit UniPoint kostengünstig und einfach zu einem komplexen System.

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an: Lutz Stabenow, Tel.: 02173/89 05 70.



Neu - Fraktionssammler M206

Als Nachfolger des bewährten GILSON-Fraktionssammlers M201 können wir Ihnen jetzt den M206 vorstellen.

Mit ihm können Sie manuell oder automatisch jede Art von Proben im analytischen sowie im präparativen Maßstab fraktionieren. Zum Sammeln der Fraktionen können kleinvolumige Gefäße ebenso wie Gefäße mit mehreren Litern Fassungsvermögen eingesetzt werden.

Der M206 verfügt über alle Möglichkeiten des Vorgängers, wie freie Rackprogrammierung und fünf verschiedene Fraktionsmodi. Er ist ebenfalls mit einer separaten Tastatur zur Bedienung ausgestattet, so daß der Fraktionssammler getrennt von der Tastatur im Abzug oder in gekühlten Räumen betrieben werden kann.

Neu am M206 sind die verschiedenen Sicherheits-einrichtungen: Eine Kunststoffabdeckung über dem Fraktionerrack verhindert die Kontamination der Fraktionen durch Raumluft. Die am Fraktionierarm

Anzeige

Reagenzien für die Virusdiagnostik

LABOR Telefon (0 73 52) 34 00
und 30 44
Telefax (0 73 52) 48 34

DR. KOCH — DR. MERK
88416 OCHSENHAUSEN

mitgeführte Spülstation minimiert das Verdampfen des Lösungsmittels in die Raumluft.

Außerdem wurde die Software um die Möglichkeit der Mehrfach-Injektion erweitert. Mit dieser Funktion kann die nächste Probe schon injiziert werden, während die erste Probe noch fraktioniert wird.

Neu sind auch die spezielle Dosiernadel und das Zubehör, mit dem eine Fraktionierung bei Flußraten bis zu 800 ml/mion möglich ist.

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an: Lutz Stabenow, Tel.: 02173/89 05 70.

