

**Die Wachstumsfaktoren (IGF-I,-II und IGFBP-2,-3) im Serum
von Kindern mit malignen Erkrankungen unter longitudinaler
Beobachtung vor und nach KMT sowie im Rezidiv**

DISSERTATION

Zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von

KRISTIN DAWCZYNSKI,

geb. DANEYKO

geboren am 14.01.1976 in Meiningen

Zusammenfassung

In dieser Arbeit konnte nachgewiesen werden, dass das IGF-System in Kindesalter bei malignen Erkrankungen eine bedeutende Rolle spielt. Dabei scheint vor allem dem IGFBP-2 eine Schlüsselrolle zu zukommen. Mit der Bestimmung des IGFBP-2-im Serum ist es möglich bei Kindern mit AML nach KMT eine Aussage bezüglich der Rezidiventstehung zu geben.

Gutachter:

- 1. Prof. Dr. E. Kauf**
- 2. Prof. Dr. U. Till**
- 3. PD Dr. K. Mohnike**

Tag der öffentlichen Verteidigung:03.12.2002

Für meine Eltern

Gliederung

Abkürzungsverzeichnis

| | | |
|-----------|---|----|
| 1. | Einleitung | 1 |
| 1.1 | Maligne Erkrankungen im Kindesalter..... | 1 |
| 1.2 | Leukämien..... | 1 |
| 1.3 | Die Knochenmarktransplantation..... | 2 |
| 1.3.1 | Therapie nach KMT..... | 3 |
| 1.3.2 | Die Infektion als Komplikation nach KMT..... | 4 |
| 1.4 | IGFs und IGFBPs gestern und heute..... | 5 |
| 1.4.1 | Die biochemischen Grundlagen von IGF-I und IGF-II..... | 6 |
| 1.4.2 | Die IGFBPs..... | 7 |
| 1.4.3 | Der Einfluss von IGF und IGFBPs auf das maligne Wachstum..... | 9 |
| 2. | Klinische Fragestellung | 11 |
| 3. | Material und Methoden | 13 |
| 3.1 | Patienten..... | 13 |
| 3.1.1 | Beschreibung der Gesamtgruppe | 13 |
| 3.1.2 | Patientencharakteristik | 15 |
| 3.1.2.1 | Manifestations-Gruppe (Gruppe1)..... | 15 |
| 3.1.2.2 | KMT-Gruppe (Gruppe 2)..... | 15 |
| 3.1.2.3 | Patienten mit akuten Infektionen..... | 15 |
| 3.1.3 | Auswahlkriterien der Patienten..... | 16 |
| 3.1.4 | Zusammenstellung des Datenmaterials..... | 16 |
| 3.1.5 | Zeitpunkte der Untersuchung..... | 16 |
| 3.1.6 | Remissionsstatus der KMT-Gruppe bei Transplantation..... | 18 |
| 3.1.7 | Konditionierungsübersicht der KMT-Patienten..... | 18 |
| 3.1.8 | Darstellung der Daten..... | 18 |
| 3.2 | Untersuchungsmethoden..... | 19 |
| 3.2.1 | Bestimmung Insulin-like-growth-factor-I im Serum..... | 19 |
| 3.2.2 | Bestimmung Insulin-like-growth-factor-II im Serum..... | 20 |
| 3.2.3 | Bestimmung Insulin-like-growth-factor-Bindungsprotein-3 im Serum..... | 21 |
| 3.2.4 | Bestimmung Insulin-like-growth-factor-Bindungsprotein-2 im Serum..... | 22 |
| 3.3 | Statistische Auswertung..... | 23 |

| | | |
|-----------|--|----|
| 4. | Ergebnisse | 24 |
| 4.1 | Die Manifestationsgruppe..... | 24 |
| 4.1.1 | Altersgrafik – Darstellung der Einzelwerte..... | 24 |
| 4.1.2 | SDS-Darstellung der Manifestationsgruppe..... | 29 |
| 4.2 | Die KMT-Gruppe..... | 35 |
| 4.2.1 | Altersgrafik der KMT-Patienten..... | 35 |
| 4.2.1.1 | Verteilung der Einzelwerte..... | 35 |
| 4.2.2 | Verlauf der insulinähnlichen Wachstumsfaktoren nach KMT..... | 40 |
| 4.2.2.1 | Serumkonzentrationen von IGF-I, -II sowie IGFBP-2, -3 bei AML-/ALL-Patienten.... | 40 |
| 4.2.2.2 | Vergleich Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten..... | 44 |
| 4.2.2.3 | Vergleich Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten mit AML..... | 45 |
| 4.2.2.4 | Vergleich Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten mit ALL..... | 51 |
| 4.2.3 | Korrelation der IGF-Faktoren und deren Bindungsproteine..... | 54 |
| 4.2.3.1 | Untersuchung zum Zeitpunkt vor der KMT (Ausgangswert)..... | 54 |
| 4.3 | Patienten mit akuten Infektionserkrankungen..... | 57 |
| 4.3.1 | Altersgrafik-Darstellung der Einzelwerte..... | 57 |
| 4.3.2 | SDS-Darstellungen der Infektionspatienten..... | 61 |
| 5. | Diskussion | 65 |
| 5.1 | Das Verhalten der IGFs zum Zeitpunkt der Diagnosestellung..... | 66 |
| 5.1.1 | Die IGF-I Serumkonzentrationen bei Diagnosestellung..... | 66 |
| 5.1.2 | Die IGFBP-3 Serumkonzentration bei Diagnosestellung..... | 68 |
| 5.1.3 | Die IGFBP-2 Serumkonzentration bei Diagnosestellung..... | 70 |
| 5.1.4 | Die IGF-II Serumkonzentration bei Diagnosestellung..... | 72 |
| 5.2 | Die IGFs und IGFBPs nach KMT..... | 73 |
| 5.2.1 | Modell für die Veränderungen der IGFs und IGFBPs nach KMT..... | 78 |
| 5.2.2 | Die IGFs und IGFBPs und das Rezidivrisiko nach KMT..... | 79 |
| 5.3 | Einflussfaktoren auf das IGF-System nach der KMT..... | 83 |
| 5.3.1 | Lebererkrankung und Leberschädigung..... | 83 |
| 5.3.2 | Einfluss der Nierenerkrankung auf die IGF-Faktoren..... | 84 |
| 5.3.3 | Einfluss der Glukokortikoidtherapie auf die IGFs und IGFBPs..... | 85 |
| 5.3.4 | Einfluss der Infektionserkrankung auf die IGFs und die IGFBPs..... | 86 |
| 6. | Zusammenfassung | 90 |
| | Abbildungsverzeichnis | |

Literaturverzeichnis

Anhang

Selbständigkeitserklärung

Danksagung

Lebenslauf

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------|---|
| Abb. | Abbildung |
| AK | Antikörper |
| ALL | Akute Lymphatische Leukämie |
| ALS | acid-labile subunit, säurelabile Untereinheit |
| AML | Akute Myeloische Leukämie |
| ATG | Antithrombozytenglobulin |
| B-ALL | ALL mit B-Immunophänotyp |
| BU | Busulfan |
| bzw. | beziehungsweise |
| ca. | zirka |
| CY | Cyclophosphamid |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure |
| E.coli | Escherichia coli |
| fIGF | freies IGF |
| GHD | Growth hormone deficiency (Wachstumshormonmangel) |
| GKB | Ganzkörperbestrahlung |
| GnRH | Gonatotropin releasing hormone |
| GvHD | Graft-versus-host disease |
| Gy | Gray, Strahlendosis |
| HOD | Hodgkinlymphom |
| IGF-I | Insulin-like growth factor-I |
| IGF-II | Insulin-like growth factor-II |
| IGFBP-2 | Insulin-like growth factor binding protein-2 |
| IGFBP-3 | Insulin-like growth factor binding protein-3 |
| IGF-IR | Typ-1-IGF-Rezeptor, IGF-I-Rezeptor |
| kD | Kilodalton |
| KMT | Knochenmarktransplantation |
| LDH | Laktat-Dehydrogenase |
| m | männlich |

| | |
|---------------|---|
| MEL | Melphalan |
| MSA | multiplication-stimulating activity, IGF-II |
| MW | Mittelwert |
| n | Anzahl |
| NBL | Neuroblastom |
| NGF | nerval-growth factor |
| NHL | Non-Hodgkin-Lymphom |
| NSILA | non-suppressible-insulin-like activity |
| OS | Osteosarkom |
| PCR | protein chain reaction |
| PSA | Prostata-spezifisches Antigen |
| p53 | Tumorsuppressorgen |
| RMS | Rhabdomyosarkom |
| RNA | Ribonukleinsäure |
| SDS | Standard-Deviation-Score |
| SD | Standard-Deviation (Standardabweichung) |
| STH | Somatotropin, somatotropes Hormon |
| Strep. A | Streptokokken A |
| TEPA | Thiotepa |
| TNF- α | Tumornekrosefaktor- α |
| TNF- β | Tumornekrosefaktor- β |
| v.KMT | vor der Knochenmarktransplantation |
| VP 16 | Etoposid |
| VZV | Varicella-zoster Virus |
| w | weiblich |
| WH | Wachstumshormon |
| WH-BP | Wachstumshormon-Bindungsprotein |

1. Einleitung

1.1 Maligne Erkrankungen im Kindesalter

Maligne Erkrankungen stellen nach Unfällen die zweithäufigste Todesursache im Kindesalter dar. Nach verschiedenen epidemiologischen Studien liegt die jährliche Inzidenz bei 14/100000 der Kinder unter 15 Jahren, wobei Säuglinge und Kleinkinder am häufigsten betroffen sind [89]. Die Ätiologie maligner Erkrankungen im Kindesalter ist gegenwärtig noch weitgehend unklar. Es werden sowohl exogene Einflüsse, wie radioaktive Bestrahlung, Chemikalien und Viren als auch eine genetische Disposition diskutiert [167, 170]. Noch in den siebziger Jahren war die Prognose dieser Kinder nahezu infaust. Mit der Einführung von Zytostatika mit unterschiedlichem Wirkprofil, der Optimierung erfolgreicher Behandlungskonzepte sowie der Verbesserung der chirurgischen Intervention konnte die 5-Jahres-Überlebensrate für die Gesamtgruppe aller onkologischen Erkrankungen im Kindesalter deutlich verbessert werden [149, 166]. Trotz der großen Fortschritte erleiden noch immer Kinder mit akuter myeloischer Leukämie und mit akuter lymphatischer Leukämie vom Hochrisiko-Typ leukämische Rezidive und versterben. Für diese Risikopatienten ist eine Knochenmarktransplantation (KMT) Grundvoraussetzung, um auch hier ein Langzeitüberleben oder Heilung zu erzielen. Um die Prognose für diese Kinder auch in Zukunft weiter zu verbessern, kommt der Erforschung objektiver Früherkennungs- und Verlaufsparemeter eine entscheidende wissenschaftliche und klinische Bedeutung zu.

1.2. Leukämien

Die Leukämie ist die häufigste maligne Erkrankung im Kindesalter. Diese Knochenmarkerkrankung ist durch eine klonale Proliferation und/oder abnorme Differenzierung von Blutzellen gekennzeichnet [159]. Mit dem Wachstum unreifer hämatopoetischer Zellen kommt es zu einer Verdrängung der normalen Hämatopoese im Knochenmark. Weiterhin können auch extramedulläre Organe infiltriert werden [75]. Die akute lymphatische Leukämie (ALL) bildet mit 80-85% den größten Anteil und stellt somit

die häufigste Form aller Leukämien im Kindesalter dar. Sie weist eine jährliche Inzidenz von 3,9/100 000 der Kinder unter 15 Jahre auf [89]. Insgesamt ist die Prognose dieser Erkrankung günstig. Es können über 70% aller Patienten mit einer konventionellen Chemotherapie geheilt werden [166]. Ziel der Behandlung ist es, die Patienten in Remission zu bringen - der Zustand, bei dem weitestgehend alle Leukämiezellen nachweislich eliminiert sind. Patienten mit einer Remission über 5 Jahren gelten als geheilt. Kommt es jedoch zu einem Rezidiv – d.h. zum erneuten Auftreten der Leukämiezellen im Knochenmark oder in peripheren Organen – ist eine KMT erforderlich. Je nach Risikogruppe werden die KMT zu unterschiedlichen Zeitpunkten durchgeführt. Beispielsweise erhalten Hochrisikopatienten die KMT nach Erreichen der ersten Remission [179].

Die akute myeloische Leukämie (AML) stellt mit 15-20% die zweithäufigste kindliche Leukämieform dar. Sie hat mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von ca. 50% eine besonders schlechte Prognose [42]. AML-Patienten erreichen nur in ca. 75-80% eine komplette Remission. Die Heilungsrate nach konventioneller Chemotherapie beträgt ca. 35-50%. Ursachen für die geringeren Heilungsraten sind häufige Frühkomplikationen, wie Blutungen und schlechteres Ansprechen auf die initiale Chemotherapie. Mit einer allogenen KMT von HLA-identischen Geschwistern können die Überlebensraten verbessert werden. Aus diesem Grund ist für diese Patienten die KMT in erster Remission eine anerkannte Methode [186].

Nur in 2% der Fälle kommen chronisch myeloische Leukämien (CML) vor. Die chronisch lymphatische Leukämie (CLL) ist bei Kindern unbekannt.

1.3 Die Knochenmarktransplantation

Die Knochenmarkstransplantation (KMT) ist seit ca. drei Jahrzehnten eine klinisch etablierte Behandlungsmethode für zahlreiche hämatologische, onkologische und immunologische Erkrankungen. Mit Hilfe der KMT ist es möglich kranke, fehlende oder maligne Zellen des Patienten durch immunkompetente Zellen zu ersetzen. Nicht alle Patienten mit einer malignen Grunderkrankung im Kindesalter benötigen, um ein Langzeitüberleben erreichen zu können, eine KMT. Der überwiegende Teil der Leukämiepatienten (über 80% mit ALL, über 50% mit AML) erreicht ein rezidivfreies Langzeitüberleben mit konventioneller Chemotherapie. Trotz der großen Fortschritte bei der Polychemotherapie der akuten Leukämien erleiden noch immer viele Kinder mit akuter myeloischer Leukämie oder mit akuter lymphatischer

Leukämie vom Hochrisikotyp leukämische Rezidive und verstreben. Es ist anzunehmen, dass eine Reihe dieser Patienten länger überleben würden oder sogar geheilt werden könnten, wenn es möglich wäre, die Chemotherapie höher zu dosieren. Protrahierte Myelosuppression und allgemeine Organtoxizität setzen dabei jedoch Grenzen. Jedoch ermöglicht eine Knochenmarkstransplantation eine myelosuppressive Hochdosis-Therapie. Dadurch erhalten auch Risikopatienten die Chance auf ein Langzeitüberleben.

Das therapeutische Prinzip einer KMT bei akuter und chronischer Leukämie besteht darin, die maligne Hämatopoese des Kranken mit einer hochdosierten zytotoxischen Behandlung auszuschalten und durch das Knochenmarkstransplantat eines geeigneten Spenders zu ersetzen.

Die im Knochenmarkstransplantat enthaltenen, sich selbst replizierenden Stammzellen sind in der Lage, die jeweiligen Zellen zu regenerieren. Seit einiger Zeit können diese hämatopoetischen Stammzellen auch aus dem peripheren Blut und aus dem Nabelschnurrestblut gewonnen werden. Für das erfolgreiche Anwachsen der Stammzellen ist in Vorbereitung auf die KMT eine myeloablative Chemotherapie (Konditionierungstherapie) erforderlich. Diese stellt in der Regel eine Kombination aus fraktionierter Ganzkörperbestrahlung und Chemotherapie dar.

Man unterscheidet zwischen autologer (Übertragung des eigenen Knochenmarks) und allogener (Übertragung von Knochenmark eines Spenders) KMT.

Patienten, die eine autologe KMT erhalten, wird in Remission Knochenmark entnommen und aufbewahrt. In Falle eines Rezidivs kann diesen Patienten das eigene Knochenmark nach Aufbereitung intravenös übertragen werden. Bei der allogenen Transplantation wird das Knochenmark einem HLA-kompatiblen Spender entnommen und nach Vorbehandlung transplantiert. Mit dem Anwachsen der pluripotenten Stammzellen des Knochenmarks, beginnen diese neues Blut zu bilden. Im Falle einer ABO-Inkompatibilität erwirbt der Patient die Blutgruppe des Spenders. Neue Erkenntnisse zur Diagnostik des HLA-Systems in der supportiven Therapie nach der KMT und in der Graft-versus-host-Krankheit (GvHD)-Prophylaxe brachten entscheidende Fortschritte für eine erfolgreiche KMT.

1.3.1 Therapie nach KMT

Nach der KMT besteht bis zum Anwachsen des neuen Knochenmarks für die Patienten eine schwere Myelosuppression und eine anhaltende Immunsuppression, welche in jedem Fall eine

intensive supportive Therapie notwendig macht. Eine prophylaktische Gabe von nichtresorbierbaren Antibiotika, Breitbandantibiotika, Mycostatika (vor allem Fluconazol und Amphotericin B) sowie von Aciclovir und Immunglobulinen ist in dieser Zeit notwendig. Des Weiteren kann bis zu Rückkehr der Knochenmarkfunktion eine Substitution von Thrombozyten und Erythrozyten notwendig werden. Die Proliferation und Differenzierung von hämatopoetischen Progenitorzellen kann durch die Gabe von rekombinanten koloniestimulierenden Faktoren (G-CSF, GM-CSF) verkürzt und unterstützt werden [107,108]. Infolge der Chemotherapie kommt es bei diesen Patienten häufig zu einer schweren oralen Mukositis und Gastroenteritis, welche eine totale parenterale Ernährung notwendig machen. Die GvHD ist eine Komplikation, die nach einer allogenen KMT auftreten kann und eine spezielle Prophylaxe erforderlich macht [100]. Dabei stellt die GvHD eine immunologische Reaktion der Spenderlymphozyten gegen das Empfängergewebe dar. Die Spenderlymphozyten erkennen Gewebsantigene (Histokompatibilitätsantigene) des Empfängers als fremd und richten sich so gegen den Wirt. Dem Empfänger ist es aufgrund seiner Vorbehandlung nicht möglich diese Zellen abzustößeln. Es wird zwischen einer akuten und chronischen Form differenziert. Die manifeste akute GvHD, die innerhalb der ersten 3 Monate auftritt, wird mit hohen Dosen Methylprednisolon oder Antithymozytenglobulin therapiert. Eine chronische GvHD entwickelt sich 3-12 Monate nach KMT und wird mit Methylprednisolon, Azathioprin und Ciclosporin A behandelt. Um das Risiko für das Auftreten einer GvHD zu verringern, ist eine Prophylaxe mit den Immunsuppressiva Ciclosporin A und Methotrexat notwendig [30]. Diese wird sowohl bei HLA-inkompatiblen als auch bei HLA-kompatiblen KMTs durchgeführt.

1.3.2 Die Infektion als Komplikation nach KMT

Infektionen zählen mit zu den häufigsten Komplikationen nach der KMT. Die ausgeprägte Immunsuppression bewirkt, dass Patienten unmittelbar nach der Transplantation äußerst anfällig für Infektionen sind. In der frühen aplastischen Phase nach der Transplantation überwiegen Infektionen mit gramnegativen und -positiven Bakterien sowie Pilzen. Nach dem Anwachsen des Transplantates sind Zytomegalieviren (CMV) und Aspergillen gefürchtete Erreger [176]. Weiterhin stellen auch Adenovirusinfektionen ein bedeutsames Mortalitätsrisiko für die Patienten nach KMT dar [103]. Neben den viralen Infektionen scheint auch das Auftreten von bakteriellen Infektionen eine wichtige Rolle für das Langzeitergebnis nach KMT zu spielen. So können z.B. durch Staphylokokken und

Streptokokken sowie durch verschiedene Pilzspezies schwere orale Mukosiden verursachen [90, 106].

Typische Spätinfektionen die Monate und Jahre nach Transplantation auftreten können, werden zum einen durch das Varicella Zoster Virus (VZV) hervorgerufen oder sind gefährliche Infektionen mit grampositiven Bakterien wie z.B. die Pneumokokken [183].

1.4 IGFs und IGFBPs gestern und heute

Erstmalig wurde von Salmon und Daughaday 1957 ein Vermittler („sulphation factor“) zwischen dem somatotropen Hormon (Somatotropin, STH) und dessen wachstumsstimulierende Wirkung in der Peripherie beschrieben [163]. Später wurde dieser Wirkungsmechanismus mit Hilfe der Somatomedinhypothese bestätigt und der „sulphation factor“ als Somatomedin bezeichnet [49, 70, 95].

Eine andere Arbeitsgruppe konnte unabhängig davon eine Serumfraktion nachweisen, deren insulinähnliche und zellwachstumsstimulierende Wirkung durch Insulinantikörper nicht inhibierbar war (non-suppressive insulin-like activity, NSILA) [62]. Spätere Studien deuteten darauf hin, dass die unabhängig voneinander nachgewiesenen Serumfraktionen identisch waren [77, 152, 187]. Heute werden diese Faktoren entsprechend der international anerkannten Nomenklatur zusammengefasst und als Insulin-like Growth Faktor-I (IGF-I) bezeichnet [92, 154]. Schließlich entdeckten Dulak et al. ein in Leberzellkulturen vorkommendes Peptid mit Zellproliferationsaktivität („multiplication-stimulation activity“, MSA) [53]. Rinderknecht und Hummel gelang es 1978 dieses Peptid mit MSA als Insulin-like growth faktor-II (IGF-II) zu identifizieren [153]. Heute werden die beiden Hauptvertreter als IGF-I und IGF-II bezeichnet [154]. Beide Faktoren gehören zu einem komplexen Regulationssystem mit endokriner und parakriner Wirkung auf das Körperwachstum und die Proliferation von Zellen. Auch autokrine und intrakrine Teilwirkungen wurden beschrieben [48]. Neben den IGF-Faktoren sind auch spezifische Bindungsproteine (IGFBPs), IGF-Proteasen und membranassoziierte Rezeptoren in die Regulation des IGF-Systems integriert [85]. Mehr als 99% der IGFs sind während der Zirkulation an diese spezifische Bindungsproteine (IGFBPs) gebunden [116, 146]. Bisher wurden sechs verschiedene Bindungsproteine definiert [10, 171]. Die Struktur dieser Proteine und der komplementären cDNA wurde charakterisiert und erste Erkenntnisse zur Regulation der Gentranskription

gewonnen [18]. Ein geringer Anteil liegt jedoch als freies IGF vor. Dieser stellt die biologisch aktive Form dar [64]. Die IGF-Proteasen führen zu einer Erhöhung der IGF-Bioverfügbarkeit durch die Abspaltung der Bindungsproteine vom IGF [85]. Des Weiteren wurden neben den hochaffinen IGF-BP-1 bis -6 die strukturell verwandten „related proteins“ IGF-BP-7 bis -10 charakterisiert [83].

Die Wirkung der IGFs wird über zwei spezifische Rezeptoren (Typ-I- und Typ-II-Rezeptor) vermittelt [124, 146, 174]. Der Typ-I-Rezeptor zeigt strukturelle Ähnlichkeit mit dem Insulinrezeptor von bis zu 85%. Die Aktivierung des Rezeptors über die Tyrosinkinase führt im weiteren Verlauf zur intrazellulären Phosphorylierung regulativer Proteine [180]. Die Bindungsaffinität dieses Rezeptors ist für IGF-I am größten, gefolgt von IGF-II. Zum Insulin besteht nur eine geringe Affinität [45].

Der Typ-II-Rezeptor ist identisch mit dem kationunabhängigen Mannose-6-Phosphat-Rezeptor [119]. Er zeigt größere Affinität zum IGF-II als zum IGF-I und bindet kein Insulin [46, 105]. Insgesamt scheint der IGF-I-Rezeptor für das Zellwachstum und Proliferation eine größere Bedeutung zu haben [129].

Das IGF-System spielt eine entscheidende Rolle bei der zellulären Proliferation und Gewebedifferenzierung sowie bei der Apoptose [37, 107, 109]. Das IGF-System hat auch eine wichtige Bedeutung im Zellzyklus. Einige Zellen benötigen IGF-I, um von der G1-Phase in die S-Phase des Zellzyklus zu gelangen [1]. Neben dem Einfluss auf das Körperwachstum konnte gezeigt werden, dass die IGF-Faktoren auch von verschiedenen Tumorzelllinien sezerniert werden [48, 54, 113, 147, 150, 193].

1.4.1 Die biochemischen Grundlagen von IGF-I und IGF-II

Das **IGF-I** ist ein aus 70 Aminosäuren bestehendes basisches Polypeptid mit einem Molekulargewicht von 7,6 kDa. Das Gen für IGF-I befindet sich auf Chromosom 12q [13]. Die Struktur des Peptids besitzt eine hohe Sequenzhomologie zu anderen Wachstumsfaktoren wie z.B. dem neural growth factor (NGF) sowie zu Substanzen der Insulinfamilie, insbesondere dem Proinsulin [153]. IGF-I wird zum größten Teil von der Leber, aber auch von Bindegewebe und anderen Organen, wie z.B. der Niere gebildet [47, 178]. Es besteht eine enge Korrelation zwischen der IGF-I Serumkonzentration und der Leberfunktion [36, 169]. Weiterhin ist die IGF-I-Konzentration im Blut altersabhängig. Die

Serumkonzentrationen steigen mit zunehmendem Lebensalter bis zur Pubertät an und fallen danach allmählich wieder ab [18].

IGF-II ist ein saures Polypeptid bestehend aus 67 Aminosäuren und einem Molekulargewicht von 7,5 kDa. IGF-II ist auf dem Chromosom 11p kodiert [51]. Die mRNA des IGF-IIs konnte unter anderem in embryonalem Gewebe und in mesenchymalen Organen nachgewiesen werden [64,124]. Die Altersabhängigkeit von IGF-II ist in Vergleich zum IGF-I geringer ausgeprägt. IGF-II steigt postnatal bis zur Pubertät nur geringfügig an und verbleibt auch nach der Pubertät auf diesem Niveau. Das STH kann als Hauptregulator für IGF-I und IGF-II angesehen werden, wobei IGF-II eine geringere STH-Abhängigkeit aufweist. Es konnte gezeigt werden, dass ein Wachstumshormonmangel sowie eine chronische Malnutrition eine Suppression von IGF-I und IGF-II zur Folge haben [101, 102]. Bei überschießenden Wachstumsreaktionen (Akromegalie) konnte neben der hohen IGF-I-Konzentration auch eine gering angehobene IGF-II Konzentration im Serum nachgewiesen werden. Aufgrund dieser Konstellation kann die Bestimmung dieser Wachstumsparameter ein diagnostisches Mittel zur Differenzierung von Wachstumsstörungen darstellen [102, 187].

Des Weiteren hemmt IGF-I die natürliche Apoptose und trägt damit gleichzeitig zur exzessiven Proliferation und zum Tumorwachstum bei [61, 127, 182].

1.4.2 Die IGF-BPs

Bisher wurden sechs verschiedene Bindungsproteine mit einer hohen Affinität zu den IGFs definiert. Alle IGF-BPs weisen in der cysteinreichen N- und C-terminalen Region eine ähnliche Struktur auf, während sich die mittlere Region strukturell deutlich unterscheidet [15]. Die Bindungsproteine sind sowohl als Plasmaproteine als auch in der interzellulären Flüssigkeit nachweisbar [40]. Die IGF-BPs beeinflussen die Bioverfügbarkeit von IGF-I und IGF-II wesentlich. Die IGFs sind im Serum zum überwiegenden Teil an diese spezifischen IGF-BPs gebunden. Nur ein geringer Teil liegt als freies IGF vor und stellt die biologisch aktive Form dar. Die Abspaltung der IGFs von den IGF-BPs erfolgt durch spezifische Proteasen [21, 85]. Häufig liegen IGF-I und IGF-II in einem Tertiärkomplex von 150 kDa vor. Dieser besteht aus dem IGF, dem IGF-BP-3 und einer säurelabilen Untereinheit (acid labile subunit-ALS) [15]. Es konnte gezeigt werden, dass der Tertiärkomplex eine IGF-Passage durch die Kapillarmembran verhindert und die IGF-Halbwertszeit verlängert [15].

Neben dem Tertiärkomplex konnten auch binäre Komplexe, bestehend aus einem IGF und einem IGF-BP (-1, -2 oder -4) nachgewiesen werden. Mit Hilfe dieser binären Komplexe

können im Gegensatz zum Tertiärkomplex die IGFs zwischen dem intra- und extravaskulärem Raum transportiert werden [143]. Durch diese Mechanismen kann die proliferative Wirkung der IGFs sowohl verstärkt als auch abgeschwächt werden. Von Blum et al konnte gezeigt werden, dass die mitogene Wirkung des IGF-I-IGFBP-Komplexes in Fibroblasten deutlich der des freien IGF-I überlegen ist [39].

Weiterhin vermindern die Bindungsproteine mit der Bindung an die IGFs die Affinität der IGFs zum IGF-I-Rezeptor. Durch diese Mechanismen können die IGFBPs die biologischen Effekte der IGFs beeinflussen [143].

Neben den dargestellten IGF-abhängigen Wirkungen ist in jüngster Zeit auch eine IGF-unabhängige Wirkung der IGFBPs beschrieben wurden [58]. Erstmals wurde von Oh et al. ein wachstumshemmender Effekt des IGFBP-3 in Mammakarzinom-Zelllinien aufgezeigt [130]. Auch in Fibroblasten mit IGF-I-Rezeptordefekt konnte eine wachstumsreduzierende Wirkung von IGFBP-3 nachgewiesen werden [182]. Eine andere Arbeitsgruppe zeigte, dass Zelllinien eines Prostatakarzinoms durch Zugabe von IGFBP-3 eine erhöhte Apoptoserate aufwiesen [67]. Die Autoren postulieren eine IGF-unabhängige Wirkung von IGFBP-3 über einen spezifischen IGFBP-3-Rezeptor [184]. Dieser IGFBP-3-Rezeptor konnte bisher noch nicht vollständig identifiziert werden [100]. Auch das IGFBP-2 wurde in verschiedene Studien mit dem malignen Wachstum in Verbindung gebracht. Das IGFBP-2 ist das zirkulierende IGF-Bindungsprotein, mit der zweithöchsten Konzentration (nach dem IGFBP-3) im menschlichen Serum [21, 88]. Es wird von verschiedenen Geweben (Leber, Nervengewebe u.a.) gebildet und scheint eine bedeutende Rolle während der intrauterinen Entwicklung zu haben [168]. In der Fetalzeit und während der Geweberegeneration wird das IGFBP-2 von verschiedenen Geweben exprimiert. Im Gegensatz zum IGFBP-1 gibt es für das IGFBP-2 keine ausgeprägte zirkadiane Rhythmik. Bei eingeschränkter Nieren- und Leberfunktion konnten erhöhte IGFBP-2-Spiegel gefunden werden. Neben der entscheidenden Rolle in der fetalen Entwicklung scheinen auch maligne Zellen vermehrt IGFBP-2 zu exprimieren [55, 80, 185]. Weitere Charakteristika der einzelnen Bindungsproteine sind der Tabelle 1 zu entnehmen.

Tab1: Charakteristika der IGF-BPs (modifiziert nach Kiess et al.) [175]

| | MG (kDa) | AS | Identifikation in | IGF- Affinität | Chromosom |
|----------------|---------------------------|-----------|---|---------------------------------|------------------|
| IGFBP-1 | 28-31 | 259 | Serum, Leber Plazenta, Amnion | I=II | 7p |
| IGFBP-2 | 31 | 289 | Serum, Leber, ZNS, Urin, Amnion, Leukämiezellen, Maligne Tumoren | I<II | 2q |
| IGFBP-3 | 29-53 | 264 | Serum, Leber, | I>II | 7p |
| IGFBP-4 | 24-28 | 237 | Serum, Leber, Neuroblastom, Knochen | I=II | 17q |
| IGFBP-5 | 28-32 | 252 | Serum, Leber, Niere | I>II | 2q |
| IGFBP-6 | 23 | 216 | Serum, Leber, ZNS, Lunge | I<II | 12 |

1.4.3 Der Einfluss von IGF und IGF-BPs auf das maligne Wachstum

Neben der proliferativen- und wachstumsfördernden Wirkung der IGFs und deren Bindungsproteine im Zellzyklus von Gesunden konnten verschiedene Arbeitsgruppen in den letzten Jahren ein Zusammenhang zwischen den IGFs/IGFBPs sowie der Expression der IGF-Rezeptoren und dem malignen Wachstum aufzeigen [31, 72, 79, 126, 189]. Bei einer Reihe von soliden Tumoren wurde das Verhalten dieser Faktoren überprüft. So finden sich in Patienten mit Prostatakarzinom neben dem prostataspezifischen Antigen (PSA) auch hohe IGF-I- und IGFBP-2-Serumkonzentration. Mit der Bestimmung dieser Parameter kann eine genauere Einschätzung des Karzinomrisikos möglich sein [31, 79]. Ähnliche Ergebnisse konnten von Flyvbjerg et al. beim epithelialen Ovarialkarzinom gezeigt werden. Hier ergab

sich eine positive Korrelation zwischen dem Tumormarker CA 125 und dem IGFBP-2 [59]. Auch beim Mammakarzinom und ZNS-Tumoren konnte der proliferative Effekt der IGFs und der IGFbps nachgewiesen werden [32, 126].

Weiterhin wurden die IGF-Faktoren und deren Bindungsproteine in Kindesalter untersucht. So stellte sich heraus, dass bei Kinder mit einem Wilmstumor oder anderen soliden Tumoren eine vermehrte Expression von IGFBP-2 sowohl im Serum als auch im Liquor nachweisbar war [121, 193]. Ebenso wurden die IGFs und IGFbps bei leukämiekranken Kindern untersucht [14, 118]. Durch Mohnike et al. konnte gezeigt werden, dass zum Zeitpunkt der Diagnosestellung zweidrittel der untersuchten Patienten mit ALL einen systemischen IGF-Mangel und gleichzeitig erhöhte IGFBP-2-Serumkonzentrationen aufwiesen. Dabei postulierte er, dass Rezidivpatienten höhere IGFBP-2-Konzentrationen im Vergleich zu Patienten, die im Beobachtungszeitraum in Remission blieben, aufzeigten [118]. Eine erhöhte Expression von mRNA des IGFBP-2 konnte nachgewiesen werden [185]. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass Leukämiezelllinien der B- und T-Zellreihe vermehrt IGFBP-2 exprimieren [55].

Neben den IGFBP-2-Serumkonzentrationen scheinen auch das IGF-I und IGF-II sowie das IGFBP-3 eine entscheidende Rolle in der Tumorpheriferation zu spielen.

In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass neben der erhöhten IGF-I-Serumkonzentration auch niedrige IGFBP-3-Werte mit einem erhöhten Malignomrisiko verbunden sind. Im Gegensatz zum IGF-I besitzt das IGFBP-3 mittels Induktion des Tumorsuppressorgens p53 einen antiproliferativen Effekt [67].

Ein Verlust des Mannose-6-Phosphat-Rezeptors (IGF-II-Rezeptor) konnte mit einem erhöhten Risiko für Mammakarzinom und Leberzellkarzinom assoziiert werden [32, 139]. Es konnte gezeigt werden, dass der IGF-I-Rezeptor unter anderen vermehrt in Tumorgewebe und in Zelllinien von Neoplasien exprimiert wird. [66]. Sowohl durch einen IGF-I-Rezeptorantikörper (α IR3) als auch durch die Mutationen des IGF-I-Rezeptors kann die Proliferation von Tumorzellen gehemmt werden [174].

Neben den malignen Erkrankungen konnten verschiedene Studien ebenso einen Zusammenhang zwischen Veränderungen der IGF-Serumkonzentrationen und Sepsis, HIV-Infektionen, Verbrennungen und polytraumatisierten Patienten finden [96, 103, 161].

All diese genannten Faktoren legen einen Einfluss bzw. eine Wechselwirkung von IGF bzw. IGFbps auf die Entwicklung und den Verlauf von malignen Erkrankungen im Kindesalter nahe.

2. Klinische Fragestellung

Insulinähnliche Wachstumsfaktoren und deren Bindungsproteine sind für das Wachstum, sowie für die Organentwicklung und Gewebedifferenzierung notwendige Peptide, deren Mangel oder Fehlen zu schwerwiegenden Krankheitsbildern führt. Neben dieser physiologischen Funktion werden sie in letzter Zeit auch zunehmend in Zusammenhang mit Tumorentstehung und -proliferation gebracht. Dabei liegen bis zum heutigen Tage, über die Veränderungen der IGFs und IGFBPs im zeitlichen Verlauf, nur geringe Datenmengen von malignen Erkrankungen vor.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung von IGF-I und IGF-II sowie von IGFBP-2 und IGFBP-3 bei Kindern mit verschiedenen malignen Erkrankungen. Dabei wurden die Faktoren nicht nur zu einem Zeitpunkt, sondern im Verlauf über 18 Monate gemessen. Durch diese longitudinale Untersuchung sollen erstmalig Aussagen über den Verlauf der Parameter über einen längeren Zeitraum getroffen werden. Mit der Untersuchung von vier Faktoren sollen Aussagen hinsichtlich der möglichen Abhängigkeit einzelner Faktoren voneinander gewonnen werden. Dabei soll am Ende herausgearbeitet werden welche Faktoren zu welchem Zeitpunkt der Erkrankung eine prognostische Bedeutung besitzen.

Dafür werden die Faktoren zum einen bei Diagnosestellung und zum anderen nach KMT untersucht. Ein wichtiger Ansatz ist auch die vergleichende Untersuchung von Kindern, die nach der Transplantation ein leukämisches Rezidiv entwickelten oder in kontinuierlicher Remission blieben, um so eine mögliche Aussage hinsichtlich eines möglichen Rezidivrisikos treffen zu können. Auch sollen die verschiedenen medikamentösen Therapien nach KMT und deren möglicher Einfluss auf das IGF-System mit in die Betrachtungen einbezogen werden.

Um mögliche Aussagen hinsichtlich verschiedener Erkrankungen erzielen zu können, werden bei den Untersuchungen und Auswertungen die Patienten getrennt nach den verschiedenen Leukämiearten bzw. anderen malignen Erkrankungen wie z.B. soliden Tumoren betrachtet. Dadurch soll neben dem zeitlichen Verlauf auch krankheitsspezifische Veränderungen untersucht werden.

Bei der Bearbeitung der Einflussfaktoren auf das IGF-System wurden vor allem Infektionserkrankungen –welche häufig im Rahmen der immunsuppressiven Therapie entstehen können– berücksichtigt. Hierbei wurden nicht die Leukämiepatienten bei auftretende Infektionen hinsichtlich ihrer IGF-Faktoren untersucht, sondern es sollte geprüft werden, ob eine alleinige akute Infektion (viraler oder bakterieller Genese) bei sonst gesunden Kindern ohne maligne Grunderkrankung einen Einfluss auf die untersuchten IGF-Parameter

besitzt. Somit soll erstmalig konkret die Rolle der IGFs bei Infektionskrankheiten erforscht werden.

Mit Hilfe all dieser Betrachtungen soll erstmals ein komplexer Überblick über die Bedeutung und Rolle der insulinähnlichen Wachstumsfaktoren und deren Bindungsproteine bei Initialerkrankung sowie im Verlauf von malignen Erkrankungen unter Beachtung der unterschiedlichen Diagnosen gegeben werden. Weiterhin soll die bis heute noch weitgehende unbekannte Bedeutung der Infektionserkrankungen auf die genannten Faktoren des IGF-Systems intensiv untersucht werden.

3. Patienten und Methoden

3.1 Patienten

3.1.1 Beschreibung der Gesamtgruppe

In dieser Longitudinalstudie wurde das Verhalten der Wachstumsfaktoren IGF-I und -II sowie deren Bindungsproteine (IGFBP-2 und -3) bei Kinder mit malignen Erkrankungen untersucht. Insgesamt wurden 121 Kinder in diese Arbeit eingeschlossen. Die Untersuchung erfolgte zum einen vor der KMT (Manifestations-Gruppe) und zum anderen nach KMT (KMT-Gruppe).

Die Manifestations-Gruppe beinhaltet 44 Kinder, die an einer Leukämie, an soliden Tumoren oder an einem Lymphom erkrankt waren. Die Untersuchungen der Faktoren wurde direkt bei Diagnosestellung durchgeführt. Alle Patienten dieser Gruppe wurden im Zeitraum vom 01.02.1995 bis 21.05.1999 diagnostiziert. Die Verteilung der Diagnosen und ihre Häufigkeiten sind in der Abbildung 1 zu entnehmen.

Die 2. Gruppe stellt die KMT-Gruppe dar. In diese Gruppe wurden ausschließlich Patienten mit einer Leukämie aufgenommen. Es wurden sowohl Patienten mit AML als auch mit ALL untersucht. Keiner dieser Patienten wurde in der bereits beschriebenen Manifestationsgruppe berücksichtigt. Beide Gruppen (1 und 2) umfassen somit zwei voneinander unabhängige Patientenkollektive. Insgesamt wurden 51 Kinder, die in der Zeit von 1990-2000 in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Friedrich-Schiller-Universität Jena eine KMT erhalten hatten, mit in die Arbeit einbezogen (Abb.2).

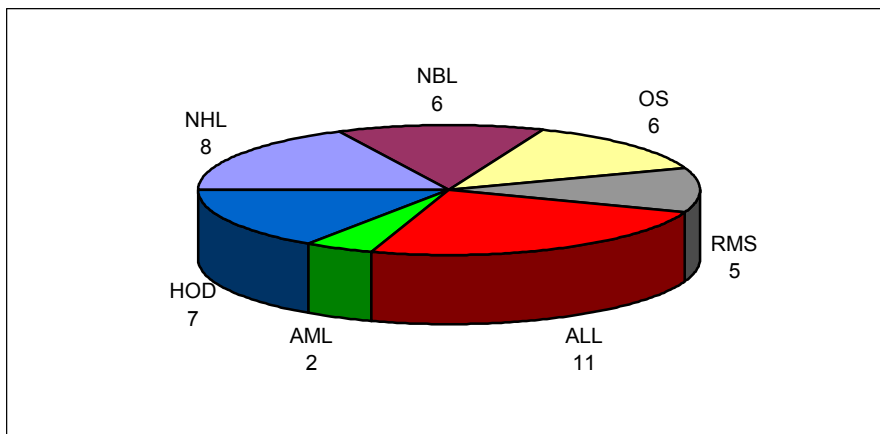


Abb.1: Verteilung der Diagnosen und die Anzahl der Patienten der Manifestations-Gruppe (n=44)

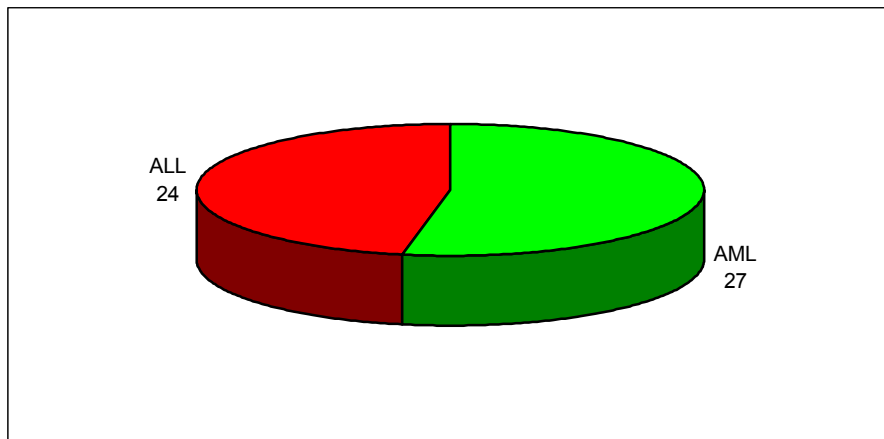


Abb.2: Verteilung der Diagnosen und die Anzahl der Patienten der KMT-Gruppe (n=51)

Neben den malignen Erkrankungen können verschiedene Begleiterkrankungen einen Einfluss auf die Konzentration der Wachstumsfaktoren im Serum. In der Literatur wurden Einflüsse von Nieren- und Lebererkrankungen auf diese Faktoren beschrieben [69, 81]. Es sind auch erste Hinweise auf einen möglichen Einfluss von Infektionskrankheiten bekannt [161].

Aus diesem Grunde wurde der Versuch unternommen die Wachstumsfaktoren bei 26 sonst gesunden Kindern mit akuten Infektionserkrankungen zu untersuchen. Hierbei wurde zwischen viralen und bakteriellen Infektionen differenziert. Hervorzuheben ist, dass bei diesen Patienten weder eine maligne Grunderkrankung noch eine weitere chronische Grunderkrankung vorlag. Insofern sollte auch kein direkter Vergleich zu den Patienten mit malignen Erkrankungen erfolgen.

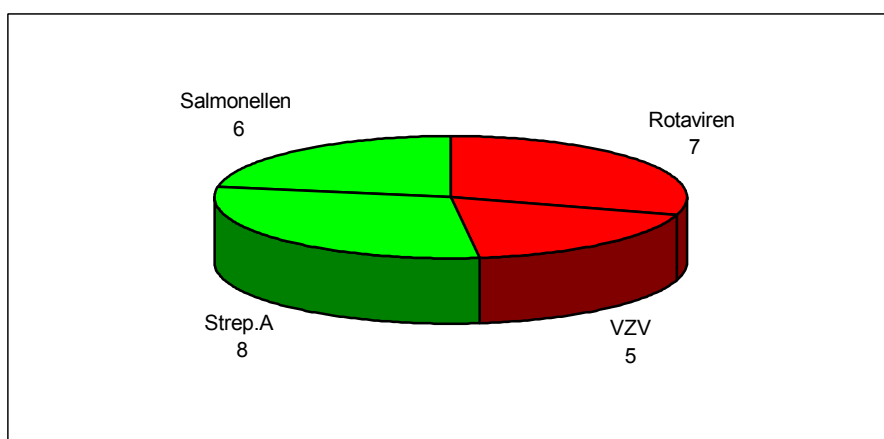


Abb.3: Verteilung der Diagnosen und die Anzahl der Patienten der Infektionsgruppe-Gruppe (n=26). Die viralen Infektionen sind rot und die bakteriellen Infektionen sind grün dargestellt.

3.1.2 Patientencharakteristik

3.1.2.1 Manifestations-Gruppe (Gruppe 1)

Tab. 2: Patientencharakteristik der Gruppe 1

| Anzahl | Diagnose | Alter bei Diagnosestellung (Jahre) | m | w |
|--------|----------|------------------------------------|----|----|
| 11 | ALL | 4,76-16,76 | 9 | 2 |
| 2 | AML | 12,75-15,76 | 1 | 1 |
| 7 | HOD | 12,43-19,73 | 2 | 5 |
| 8 | NHL | 8,12-16,24 | 6 | 2 |
| 6 | NBL | 0,62-9,23 | 4 | 1 |
| 6 | OS | 6,97-17,55 | 4 | 2 |
| 5 | RMS | 0,20-12,57 | 2 | 3 |
| 44 | Gesamt | 0,20-19,73 | 28 | 16 |

3.1.2.2 KMT-Gruppe (Gruppe 2)

Tab.3: Patientencharakteristik der Gruppe 2

| Anzahl | Diagnose | Alter bei KMT (Jahre) | m | w | Rezidiv | kein Rezidiv | autol. | allog. |
|--------|----------|-----------------------|----|----|---------|--------------|--------|--------|
| 27 | AML | 1,8-18,07 | 16 | 11 | 12 | 15 | 13 | 14 |
| 24 | ALL | 3,4-20,28 | 13 | 11 | 7 | 17 | 9 | 15 |
| 51 | Gesamt | 1,8-20,28 | 29 | 22 | 19 | 32 | 22 | 29 |

3.1.2.3 Patienten mit akuten Infektionen

Tab. 4: Patientencharakteristik der Infektionspatienten

| Anzahl | Krankheitserreger | Alter (Jahre) | Gruppe | m | w |
|--------|------------------------------|---------------|------------|----|----|
| 7 | Rotaviren | 0,9-7,92 | viral | 4 | 3 |
| 5 | Varizella zoster Virus (VZV) | 1,1-7,86 | viral | 2 | 3 |
| 8 | Streptokokken A (Strep. A) | 1,5-13,06 | bakteriell | 3 | 5 |
| 6 | Salmonellen | 0,8-16,03 | bakteriell | 3 | 3 |
| 26 | Gesamt | | | 12 | 14 |

3.1.3 Auswahlkriterien der Patienten

Die Patienten der Manifestationsgruppe (Gruppe 1) wurden bei Diagnosestellung untersucht. Die erste Blutentnahme dieser Patienten wurde noch vor Therapiebeginn durchgeführt .

Die KMT-Gruppe (Gruppe 2) umfaßt ausschließlich Leukämiepatienten mit ALL und AML die eine Knochenmarktransplantation erhalten hatten.

Die Patienten mit akuten Infektionserkrankungen wurden nur in diese Untersuchung aufgenommen, wenn bei diesen Patienten ein erkrankungsspezifischer Titer vorlag oder der Erreger selbst nachgewiesen werden konnte. Diese Kinder durften neben den diagnostizierten Infektionen keine Mischinfektionen aufweisen.

3.1.4 Zusammenstellung des Datenmaterials

Die Blutentnahmen aller Patienten erfolgten im Rahmen der regulären Diagnostik. Es wurden ausschließlich Restmengen verwendet. Die Serumproben, der Patienten mit malignen Erkrankungen, wurden bis zur Analyse im Hämatologisch-Onkologischen Labor der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der FSU Jena systematisch gesammelt und bei -70°C kryokonserviert. Somit konnte auf bereits vorhandenes Serum zurückgegriffen werden.

Die Serumproben der Infektionspatienten wurden bei stationärer Aufnahme (Station 8, der Klinik für Kinder und Jugendmedizin der FSU Jena) entnommen und in dem Institut für Medizinische Mikrobiologie am Klinikum der Friedrich-Schiller-Universität Jena untersucht und dort ebenfalls bei -70°C aufbewahrt.

3.1.5 Zeitpunkte der Untersuchung

Die Blutentnahme der Manifestationsgruppe-Gruppe erfolgte am Tag der Diagnosestellung.

Die insulinähnlichen Wachstumsparameter der KMT-Gruppe wurden longitudinal zu acht Zeitpunkten bestimmt. Der Beobachtungszeitraum wurde bis zum Auftreten eines Rezidivs oder bei Rezidivfreiheit bis zum achtzehnten Monat nach KMT festgelegt. Bei 25 Kindern der KMT-Gruppe wurde die Untersuchung mit der Diagnosestellung Rezidiv (Rez.) beendet. Der Zeitraum, in dem ein Rezidiv auftrat, ist in der nachfolgenden Abbildung dargestellt. Im Mittel trat das Rezidiv nach 8,1 Monaten auf.

Die erste Abnahme erfolgte noch vor der Konditionierung und vor der KMT (vKMT). Somit wiesen alle Patienten einen vergleichbaren Ausgangswert auf. 36 Patienten befanden sich zu diesem Zeitpunkt in Remission. Die zweite Serumprobe wurde am 30. Tag (30T) nach der KMT entnommen. Alle weiteren Zeitpunkte sind der folgenden Abbildung zu entnehmen und in der nachstehenden Tabelle 1 ausführlich erläutert.

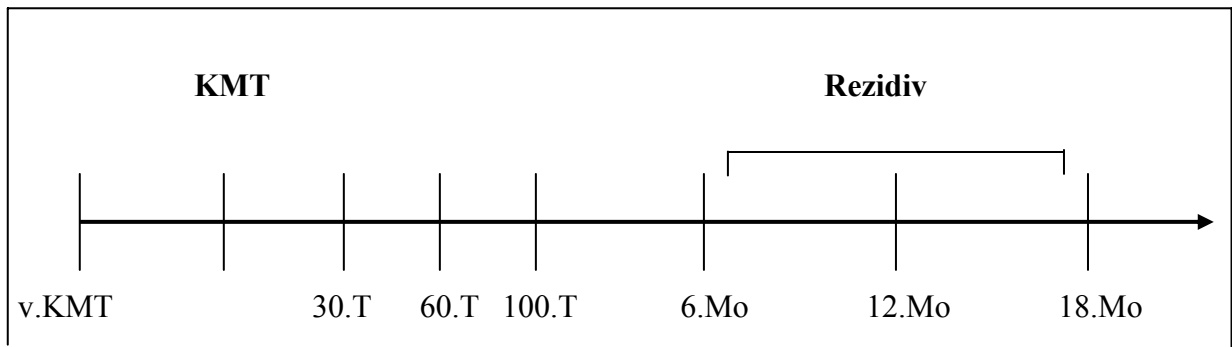


Abb.4: Untersuchungszeitpunkte der KMT-Gruppe im zeitlichen Verlauf

Tab. 5: Untersuchungszeitpunkte der KMT-Gruppe

| Untersuchung | Zeitpunkt |
|--------------|---|
| 1 | Serum vor Konditionierung (v.KMT) |
| 2 | Serum am 30. Tag nach KMT (30T) |
| 3 | Serum am 60. Tag nach KMT (60T) |
| 4 | Serum am 100. Tag nach KMT (100T) |
| 5 | Serum am 6. Monat nach KMT (6MO) |
| 6 | Serum am 12. Monat nach KMT (12MO) |
| 7 | Serum am 18. Monat nach KMT (18MO) |
| 8 | Serum beim Auftreten des Rezidivs (Rez.) |

Des weiteren sei darauf hingewiesen, dass mit zunehmenden zeitlichen Abstand zur KMT die Anzahl der erfassten Daten deutlich weniger wird. Dies ist darauf zurückzuführen das einige Patienten den Beobachtungszeitraum noch nicht beendet hatten, vorzeitig verstorben sind oder keine Serumproben zum Untersuchungszeitpunkt vorlagen.

Bei der Infektions-Gruppe wurde Blutentnahmen am Tag der stationären Aufnahme durchgeführt.

3.1.6. Remissionsstatus der KMT-Gruppe bei Transplantation

Mehr als 85% der Patienten befanden bei der KMT in Remission. Bei allen weiteren Patienten (n=8) wurde die Transplantation in partieller Remission durchgeführt. Eine partielle Remission lag bei 6 Patienten mit AML (20%) und 2 Patienten mit ALL (8%) vor.

3.1.7 Konditionierungsübersicht der KMT-Patienten

Die unterschiedlichen Therapieregime der Primärtherapie und der Konditionierung sind in folgender Übersicht dargestellt. 20 von 51 Patienten erhielten neben der Chemotherapie eine fraktionierte Ganzkörperbestrahlung (GKB).

Tab. 6: Übersicht über die Konditionierung

| Anzahl | Konditionierung |
|--------|---------------------------------|
| 18 | BU / CY |
| 3 | BU / CY / VP16 |
| 1 | BU / CY / TEPA |
| 2 | BU / CY / ATG |
| 1 | BU / CY / MEL |
| 2 | BU / CY / MEL / ATG |
| 4 | BU / CY / TEPA / ATG |
| 10 | 6x2 Gy GKB / VP 16 |
| 2 | 6x2 Gy GKB / VP 16 / ATG |
| 2 | 3x2 Gy GKB / VP 16 / ATG |
| 5 | 6x2 Gy GKB / CY |
| 1 | 6x2 Gy GKB / VP 16 / TEPA / ATG |
| 51 | gesamt |

3.1.8 Darstellung der Daten

Die untersuchten Wachstumsfaktoren weisen bekanntermaßen eine Alters- und Geschlechtsabhängigkeit auf [18]. Um eine statistische Auswertung zu ermöglichen, war eine vom Alter und Geschlecht unabhängige Einheit notwendig. Alle von uns untersuchten

Serumkonzentrationen wurden deshalb als Standard-Deviation-Score (SDS) angegeben. Der SDS drückt die Abweichung eines Istwertes vom Mittelwert der Normalpopulation (bezogen auf das Alter) in Vielfachen der zugehörigen Standardabweichung (SD) aus.

$$\text{Berechnungsformel: } \text{SDS} = \frac{\text{Ist-Soll (Mittelwert d. Altersnorm)}}{\text{SD (Mittelwert der Altersnorm)}}$$

Als Referenzwerte für die Faktoren IGF-II und IGFBP-2 wurden (mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. med. J. Argente) die publizierten Ergebnisse im *Hormon Research* aus dem Jahre 2000 verwendet [14]. Für die IGF-I-Serumkonzentrationen stellte die Firma Biochem Immunosystems, die für ihren Testansatz SERIA-IGF-I spezifische Vergleichswerte gesunder Kontrollkinder zu Verfügung. Die Vergleichswerte für das IGFBP-3 wurden dem Anleitungsheft der Firma Diagnostic Systems Laboratories (DSL) für den Immunradiometrischer Assay-DSL-6600 ACTIVE™ entnommen (siehe Anhang).

3.2 Untersuchungsmethoden

3.2.1 Bestimmung Insulin-like-growth-factor-I im Serum

Der Testansatz SERIA-IGF-I ist ein Radioimmunoassay der Firma Biochem Immunosystems mit Doppelantikörper-Trenntechnik. Die Methode beinhaltet einen Extraktionsschritt, durch den das IGF-I mittels einer Alkohol-Salzsäure-Lösung von seinen Bindungsproteinen getrennt wird [17, 50]. Anschließend wird das unmarkierte Antigen des Patientenserums zusammen mit ¹²⁵J-markierten-IGF-I-Antigen („Tracer“) und einem spezifischen Antikörper in einem Röhrchen inkubiert. Während der Inkubationszeit konkurriert das nicht markierte Antigen der Probe mit dem ¹²⁵J-markierten-Antigen kompetitiv, um eine limitierte Zahl von Bindungsstellen einer konstanten Menge des spezifischen Antikörpers. Es entstehen Antigen-Antikörper-Komplexe. Nach der Inkubationszeit wird durch einen zweiten Antikörper, gekoppelt an magnetisierbare Polystyrolpartikel (Separation Reagent), das gebundene Antigen vom ungebundenen Antigen getrennt. Nach der Sedimentation wird der Überstand dekantiert und die Radioaktivität des im Röhrchen verbliebenen Präzipitats wird im ¹²⁵J-Kanal eines Gammacounters gemessen. Mit Hilfe der gemessenen Standards wird eine Standardkurve erstellt, aus der die Konzentration der Patientenprobe ermittelt werden kann.

Testcharakteristik:

Die Präzision des Testes wurde anhand Intra-Assay und Inter-Assay überprüft. Die Spezifität zeichnet sich durch eine nicht nachweisbare Kreuzreaktivität (bei 1 µg/Röhrchen) mit anderen Bindungsproteinen aus. Die Sensitivität dieses Testsystems liegt bei 12 ng/ml.

Reproduzierbarkeit:

| | Variationskoeffizient in % |
|-------------|----------------------------|
| Intra-Assay | 3,8 |
| Inter-Assay | 5,1 |

3.2.2 Bestimmung Insulin-like-growth-factor-II im Serum

Dieser Test basiert auf dem Prinzip des immunoradiometrischen Assays (IRMA) das erstmals von Miles et al. [113] beschrieben wurde.

In unserer Untersuchung wurde der DSL-2600 ACTIV™ IGF-II Coated-Tube-IRMA der Firma Diagnostic Systems Laboratories verwendet. In dieser Methode ist ein einfacher Extraktionsvorgang miteingeschlossen, wodurch IGF-II von bindenden Proteinen im Serum getrennt wird. Dies gewährleistet eine genauere IGF-II Bestimmung. Der IRMA ist ein nicht-kompetitiver Test, in welchem das Analyt „sandwichartig“ zwischen zwei Antikörper gebunden wird. Die Innenseite der Röhrchenwand ist mit dem ersten Antikörper (Anti-IGF-II-Immunglobulin) beschichtet und wird zusammen mit dem Patientenserum, welches das unmarkierte Antigen enthält, in einem Röhrchen inkubiert. Nach einer dreistündigen Inkubationszeit bei Raumtemperatur wird der Inhalt des Röhrchens dekantiert und einem Waschvorgang unterzogen, um nicht gebundene Komponenten zu entfernen. Anschließend wird ein zweiter radioaktiv-markierter Antikörper (¹²⁵J-Anti-IGF-II), der zum Nachweis dient, in alle Röhrchen pipettiert. Es schließt sich eine nochmalige Inkubationszeit von einer Stunde an. Abschließend wird das ungebundene Material durch nochmaliges Dekantieren und Waschen beseitigt. Die verbliebene Radioaktivität wird im Gammacounter gemessen.

Testcharakteristik:

Die Präzision des Testes wurde anhand Intra-Assay und Inter-Assay überprüft. Die Spezifität zeichnet sich durch eine nicht nachweisbare Kreuzreaktivität (bei 1 µg/Röhrchen) mit anderen Bindungsproteinen aus. Die Sensitivität dieses Testsystems liegt bei < 40 ng/ml.

Reproduzierbarkeit:

| | Variationskoeffizient in % |
|-------------|----------------------------|
| Intra-Assay | 2,8 |
| Inter-Assay | 6,5 |

3.2.3 Bestimmung Insulin-like-growth-faktor-Bindungsprotein-3 im Serum

Für die quantitative Bestimmung von IGFBP-3 wurde ein Immunradiometrischer Assay (DSL-6600 ACTIVE™ IGFBP-3-Coated-Tube-IRMA) der Firma Diagnostic Systems Laboratories gewählt (DSL). An der Röhrchenwand immobilisierte IGFBP-3-Antikörper (Ziege) und ¹²⁵J-markierte IGFBP-3-Antikörper bilden zusammen mit dem im Serum vorhandenen IGFBP-3 einen Sandwichkomplex. Nach einer definierten Inkubationszeit werden die nicht an der Röhrchenwand gebundenen Komponenten durch Dekantieren der Flüssigkeit und durch Waschen aus dem Röhrchen entfernt. Anschließend wird die Aktivität in den Röhrchen im ¹²⁵J-Kanal eines Gammacounters gemessen.

Testcharakteristik:

Die Präzision des Testes wurde anhand Intra-Assay und Inter-Assay überprüft. Die Spezifität zeichnet sich durch eine nicht nachweisbare Kreuzreaktivität (bei 1 µg/Röhrchen) mit anderen Bindungsproteinen aus. Die Sensitivität dieses Testsystems liegt bei 0,5 ng/ml.

Reproduzierbarkeit:

| | Variationskoeffizient in % |
|-------------|----------------------------|
| Intra-Assay | 6,2 |
| Inter-Assay | 6,4 |

3.2.4 Bestimmung Insulin-like-growth-factor-Bindungsprotein-2 im Serum

Das IGFB-2 wurde mit Hilfe des Radioimmunoassys (DSL-7100 IGFBP-2-Kit) der Firma Diagnostic Systems Laboratories bestimmt. Das Bestimmungsverfahren beruht auf dem gleichen Grundprinzip wie bei IGF-I, wobei radioaktive und nicht radioaktive Antigene um eine begrenzte Anzahl von Antikörperbindungsstellen konkurrieren [20, 21].

Testcharakteristik:

Die Präzision des Testes wurde anhand Intra-Assay und Inter-Assay überprüft. Die Spezifität zeichnet sich durch eine nicht nachweisbare Kreuzreaktivität (bei 1µg/Röhrchen) mit anderen Bindungsproteinen aus. Die Sensitivität dieses Testsystems liegt bei 0,5 ng/ml.

Reproduzierbarkeit:

| | Variationskoeffizient in % |
|-------------|----------------------------|
| Intra-Assay | 2,9 |
| Inter-Assay | 6,1 |

3.3 Statistische Auswertung

Die Verwendung aller im folgenden aufgeführten Verfahren und Tests erfolgte nach Betreuung und Absprache mit dem Institut für Klinische Statistik, Informatik und Dokumentation des Klinikums der Friedrich Schiller Universität Jena unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Witte.

Alle Daten und Angaben der durchgeführten Analysen basieren auf Krankenakten der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin am Klinikum der Friedrich Schiller Universität Jena und eigenen Untersuchungen im Zeitraum von 1990 bis 2000. In diesem Beobachtungszeitraum wurden 121 Patienten erfasst.

Die ausgewerteten Größen der bereits dargestellten Gruppen sind in nachfolgender Übersicht zusammen gefasst.

1. Unterschiede zwischen den Diagnosen für die jeweiligen Gruppen (AML, ALL, Lymphome, solide Tumore, virale und bakterielle Infektion)
2. Bewertung der IGF-Faktoren im zeitlichen Verlauf nach KMT im Bezug zum Ausgangswert
3. Abweichung der bestimmten Parameter von Referenzbereich gesunder Kontrollkinder
4. Vergleich der bestimmten Parameter bei Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten der KMT-Gruppe
5. Analyse der Zusammenhänge aller erfassten Parameter untereinander (Korrelationsanalyse) der KMT-Gruppe

Für die statistische Auswertung der Daten im zeitlichen Verlauf wurde der Wilcoxon Match-Pairs Signed-Ranks Test verwendet. Eine Anwendung des t-Testes war nach Prüfung der Normalverteilung bei diesen abhängigen Stichproben nicht möglich. Die auszuwertenden Daten entsprechen nicht den Kriterien der symmetrischen bzw. Normalverteilung.

Für den Vergleich zweier voneinander unabhängiger Stichproben wurde der U-Test nach Mann-Whitney verwendet. Für den Vergleich der bestimmten Parameter bei Rezidiv- und Nicht-Rezidivpatienten wurde der Chi-Quadrat-Testes herangezogen. Dieser Test überprüft, ob sich die beobachteten und erwarteten Häufigkeiten bei nominalskalierten

Variablen signifikant voneinander unterscheiden Die Bestimmung der Korrelation erfolgte mittels Spearman-Korrelationsanalyse. Eine Anwendung des Pearson-Korrelationskoeffizienten war der nicht vorhandenen Normalverteilung nicht möglich. Die Auswertung erfolgte durch zweiseitige, exakte Signifikanzprüfung.

4. Ergebnisse

4.1. Die Manifestationsgruppe

4.1.1. Altersgrafik – Darstellung der Einzelwerte

In der vorliegenden Arbeit wurden zum Zeitpunkt der Diagnosestellung 44 Patienten untersucht. Die Serumkonzentrationen von IGF-I, IGF-II sowie IGFBP-2 und IGFBP-3 wurden in Abhängigkeit zum Alter in Abbildung 1 bis 6 dargestellt. Das mittlere Alter dieser Gruppe lag bei 11,7 Jahren. Die unterschiedlichen Diagnosen wurden voneinander getrennt abgebildet.

Unter Berücksichtigung der geschlechtsspezifischen Unterschiede von IGF-I und IGFBP-3 erfolgte eine Differenzierung zwischen männlichen und weiblichen Patienten.

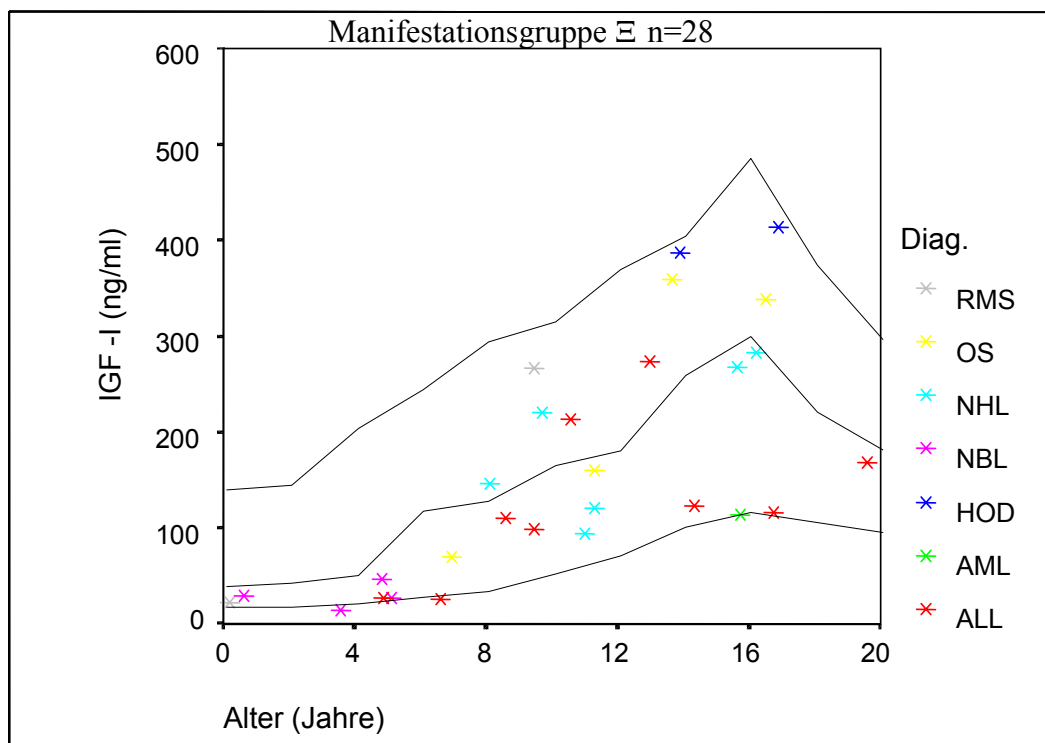


Abb. 5: Serumkonzentrationen von IGF-I zum Zeitpunkt der Diagnosestellung (**männliche Patienten**). Die Linien stellen die 5er, 50er und 95er Perzentile der gesunden Kontrollen dar. Die jeweiligen Diagnosen wurden farblich gekennzeichnet.

Die IGF-I-Serumkonzentrationen lagen bei einem überwiegenden Teil der männlichen Patienten im unterem Normbereich. Zwischen den einzelnen Diagnosen fielen hohe individuelle Schwankungen auf (Abb.5). Alle Patienten unter dem 8. Lebensjahr zeigten IGF-I-Werte unterhalb der 50. Perzentile. Neben den ALL-Patienten zeigten vor allem die Neuroblastompatienten geringe IGF-I-Konzentrationen.

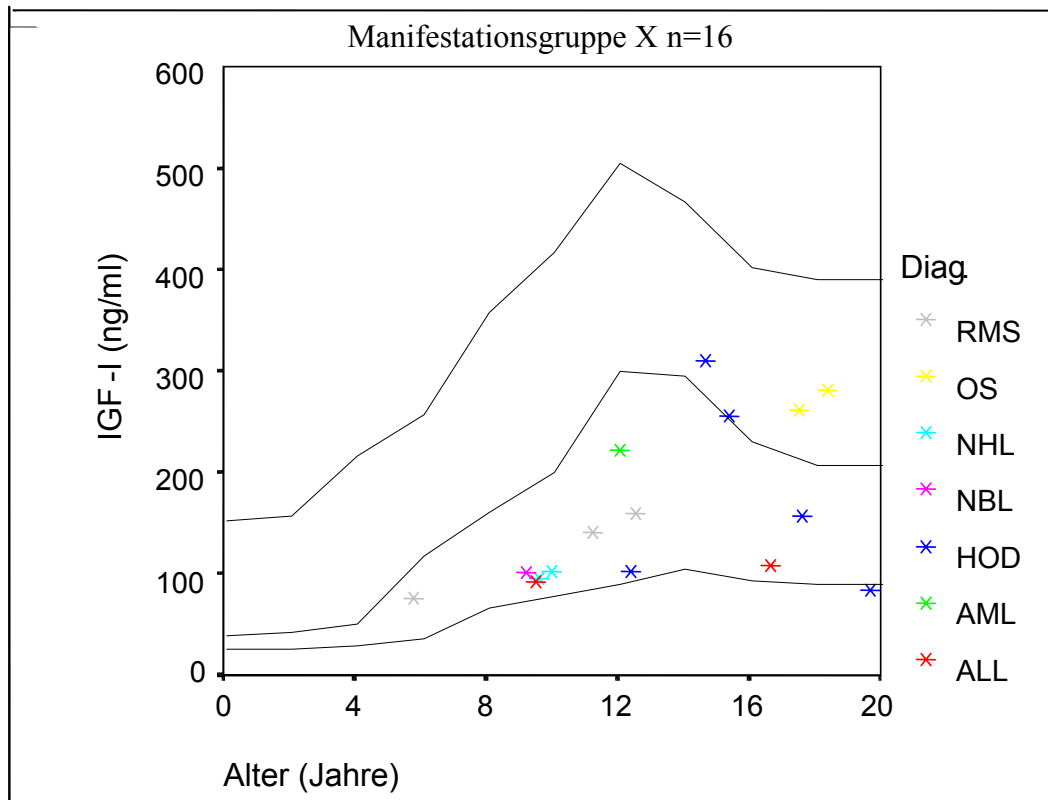


Abb.6: Serumkonzentrationen von IGF-I zum Zeitpunkt der Diagnosestellung (**weibliche Patienten**). Die Linien stellen die 5., 50. und 95. Perzentile der gesunden Kontrollen dar. Die jeweiligen Diagnosen wurden farblich gekennzeichnet.

Die Einzelwerte der IGF-I-Serumkonzentrationen aller weiblichen Patienten dieser Gruppe sind in der Abbildung 6 dargestellt. Im Vergleich zu den männlichen Patienten zeigte sich ein ähnliches Bild. Der Hauptanteil der weiblichen Patienten konnte im unteren Normbereich nachgewiesen werden. Über 70% der Einzelwerte lagen unterhalb des Medians. Es war kein Unterschied hinsichtlich der Altersgruppen sowie zwischen den einzelnen Diagnosen zu erkennen.

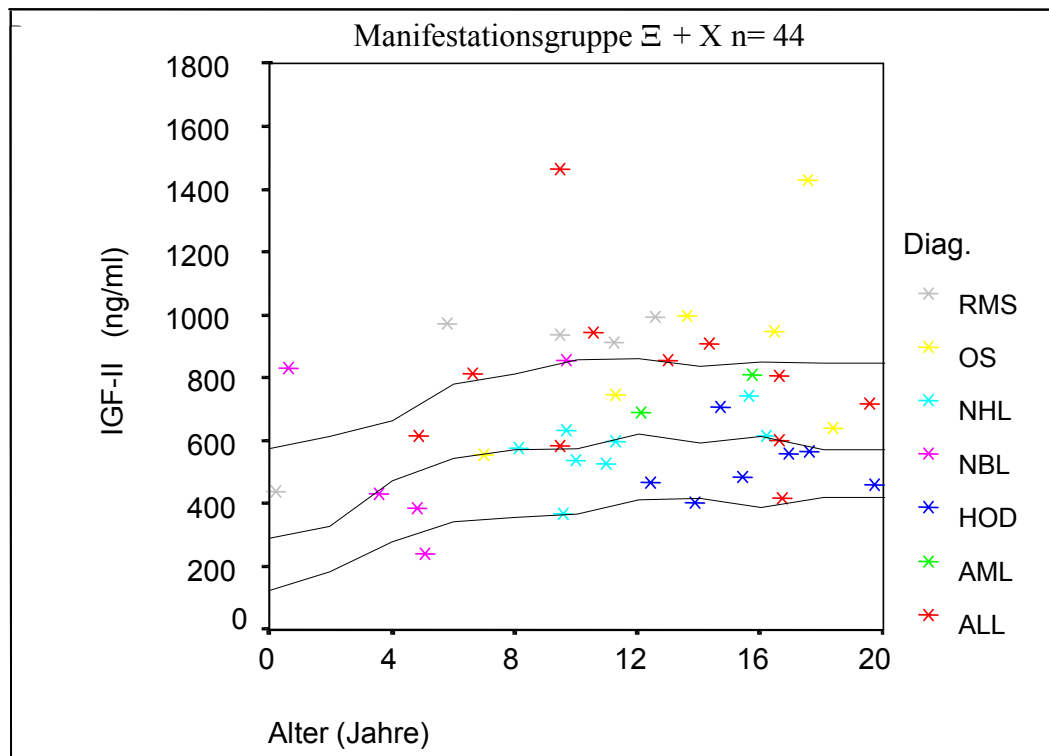


Abb. 7: Serumkonzentrationen von IGF-II zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Die Linien stellen die 5., 50. und 95. Perzentile der gesunden Kontrollen dar. Die jeweiligen Diagnosen wurden farblich gekennzeichnet.

Die IGF-II-Konzentrationen waren sowohl unter der 5. als auch über der 95. Perzentile zu finden. Insgesamt lag eine große Streubreite vor. Wobei zu beachten ist, dass ca. 27% über dem altersentsprechenden Referenzbereich lagen. Patienten mit einem Rhabdomyosarkom lagen zum Teil deutlich über dem altersentsprechenden Normbereich. Hinsichtlich der Altersverteilung konnten kaum Unterschiede aufgezeigt werden.

In der Abbildung 8 sind die IGFBP-2-Serumkonzentrationen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung dargestellt. 50% der Patienten weisen IGFBP-2-Werte zum Teil deutlich über der 95. Perzentile auf. Einzelne Patienten liegen mit ihren IGFBP-2 bis zum 8-fachen über dem altersentsprechenden Referenzbereich. Dieser hohe Anteil von pathologischen Konzentrationen konnte im Vergleich zu den anderen insulinähnlichen Wachstumsfaktoren nur bei dem IGFBP-2 nachgewiesen werden. Zu beachten ist, dass die bereits erwähnten ALL- und Neuroblastompatienten mit Ihren niedrigen IGF-I-Serumkonzentrationen ein sehr hohes IGFBP-2 aufweisen. Bis auf eine Ausnahme waren, alle Leukämiepatienten über der 95. Perzentile zu finden. Auch bei Kindern mit einem Rhabdomyosarkom zeigten sich deutlich erhöhte IGFBP-2-Konzentrationen. In Gegensatz dazu konnten bei fast allen Osteosarkompatienten Werte im Bereich der Altersnorm gefunden werden. Kein Kind mit einer malignen Grunderkrankung wies zum Zeitpunkt der Diagnosestellung eine IGFBP-2-

Serumkonzentration unterhalb des altersentsprechenden Referenzbereiches auf. Für die Gesamtgruppe konnten keine alters- und geschlechtsbezogene Unterschiede nachgewiesen werden.

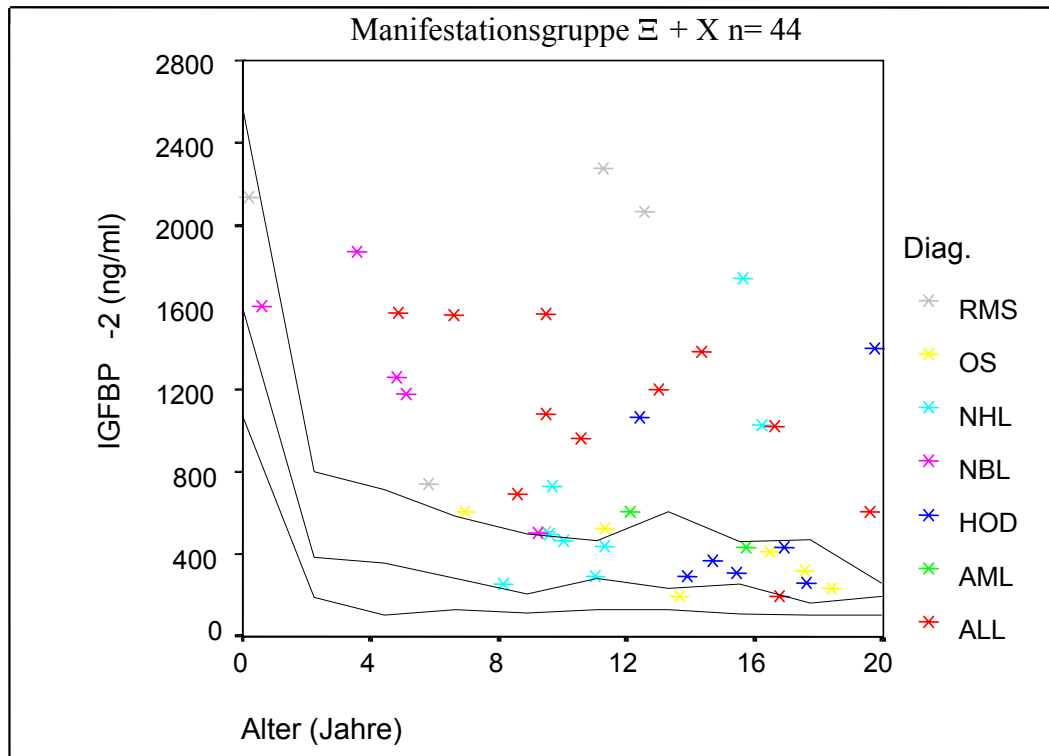


Abb. 8: Serumkonzentrationen von IGFBP-2 zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Die Linien stellen die 5., 50. und 95. Perzentile der gesunden Kontrollen dar. Die jeweiligen Diagnosen wurden farbig gekennzeichnet.

Die IGFBP-3-Konzentrationen waren sowohl bei den männlichen als auch bei den weiblichen Patienten im unteren Normbereich zu finden und zeigten somit ein ähnliches Bild wie die IGF-I-Werte (Abb. 9, Abb. 10). Der überwiegende Teil der Patienten, d.h. 74 % der Jungen und 80 % der Mädchen lagen mit ihren IGFBP-3-Werten unterhalb der 50. Perzentile. Da alle insulinähnlichen Wachstumsfaktoren eine physiologische Altersabhängigkeit aufweisen, ist es notwendig für eine exakte Auswertung der Ergebnisse eine vergleichbare Variable einzuführen, um die Patienten mit unterschiedlichem Alter vergleichen zu können. Die gezeigten Einzelwerte wurden unter Verwendung der Referenzwerte gesunder Kontrollkinder von Argente et al. in altersunabhängige SDS-Werte (Standard-Deviation-Score) transformiert [69,148,149]. Ein SDS-Wert der sich im Bereich von +2 bis -2 befindet, entspricht der Altersnorm [25,111,112].

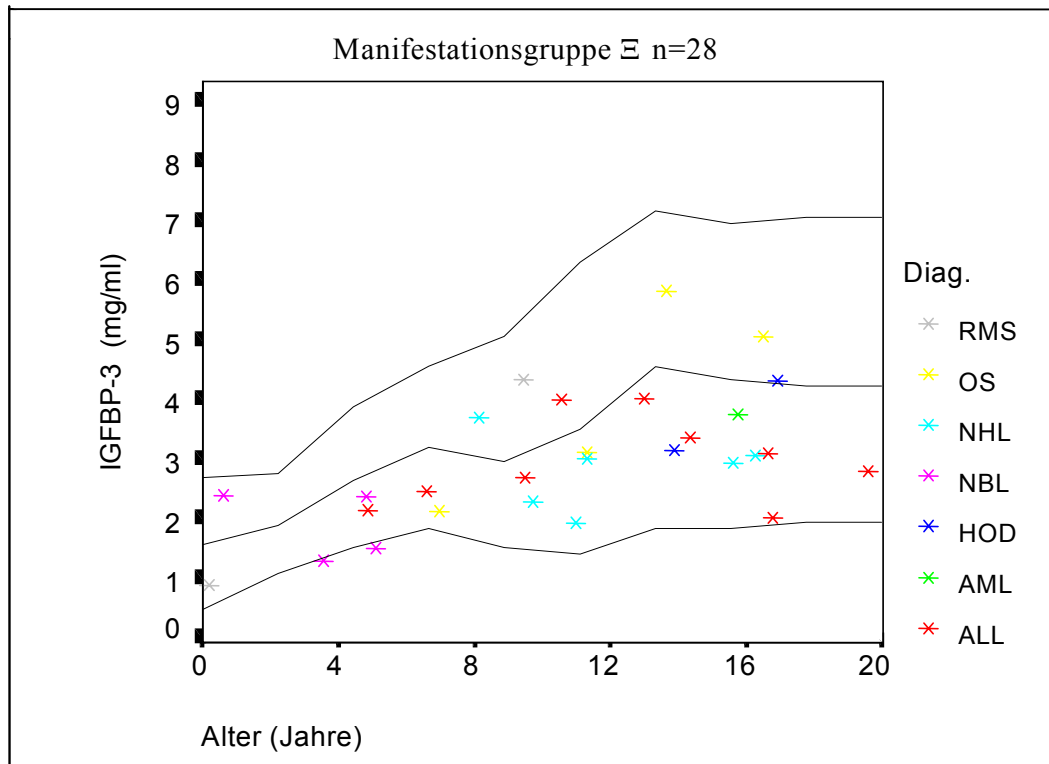


Abb. 9: Serumkonzentrationen von IGFBP-3 zum Zeitpunkt der Diagnosestellung (**männliche Patienten**) Die Linien stellen die 5., 50. und 95. Perzentile der gesunden Kontrollen dar. Die jeweiligen Diagnosen wurden farblich gekennzeichnet.

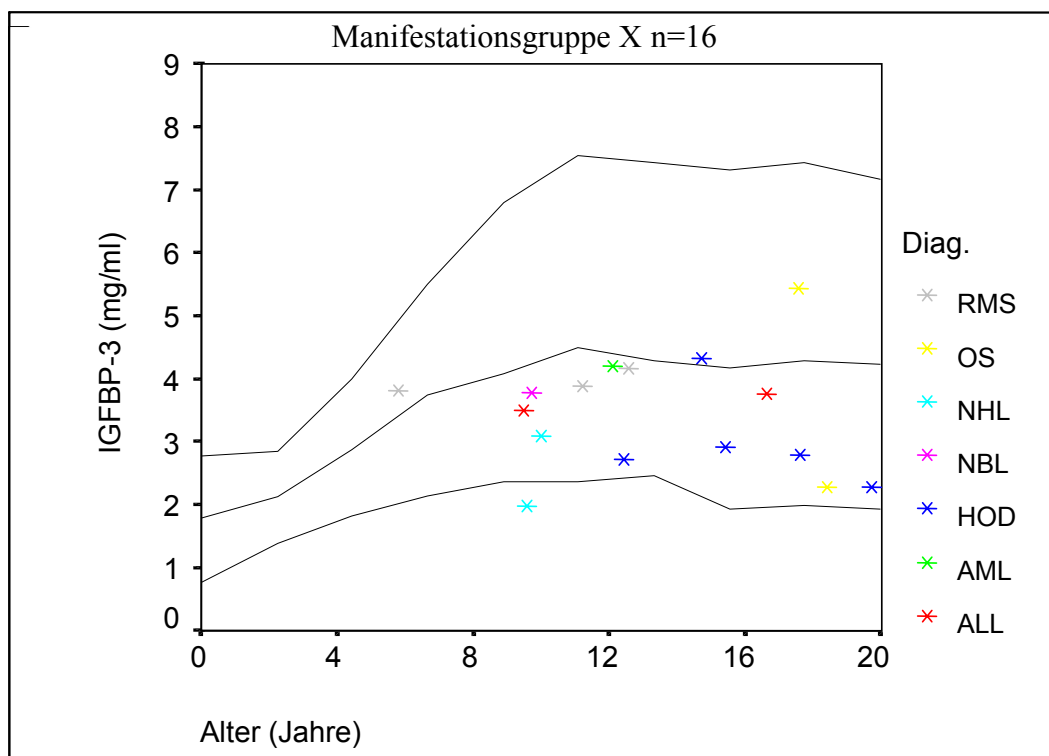


Abb. 10: Serumkonzentrationen von IGFBP-3 zum Zeitpunkt der Diagnosestellung (**weibliche Patienten**) Die Linien stellen die 5., 50. und 95. Perzentile der gesunden Kontrollen dar. Die jeweiligen Diagnosen wurden farblich gekennzeichnet.

4.1.2 SDS-Darstellung der Manifestationsgruppe

In den folgenden Abbildungen 11 bis 14 wurden die SDS-Werte der insulinähnlichen Wachstumsfaktoren zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bei Patienten mit malignen Erkrankungen dargestellt. Hierbei wurden Patienten mit Leukämien, Lymphomen und soliden Tumoren berücksichtigt. Da die Einzeldiagnosen vergleichsweise geringe Fallzahlen aufwiesen, wurden unter diesem Aspekt die Patienten der Manifestationsgruppe in drei Bereichen zusammengefasst. Somit war es möglich die Unterschiede zwischen den einzelnen Erkrankungen darstellen und auswerten zu können. Weitere Untersuchungen anhand größerer Fallzahlen sind nötig, um die Wertigkeit dieser Ergebnisse noch unterstreichen zu können. Die ALL und AML wurden den Leukämien zugeordnet. Des weiteren erfolgte die Aufnahme des Morbus Hodgkin und der Non-Hodgkin-Lymphome in den Bereich der Lymphome. Patienten mit einem Rhabdomyosarkom, Osteosarkom und Neuroblastom wurden als solide Tumoren zusammengefasst. Der Referenzbereich gesunder Kontrollkinder wurde in den Abbildungen 11 bis 14 mittels Linien gekennzeichnet. Er entspricht dem Median (Nulllinie) und der zweifachpositiven und zweifachnegativen Standardabweichung (± 2 SD) des Normwertes der entsprechenden Altersgruppe.

Für die Auswertung wurden sowohl die Abweichung vom Normbereich als auch die einzelnen Erkrankungen miteinander verglichen.

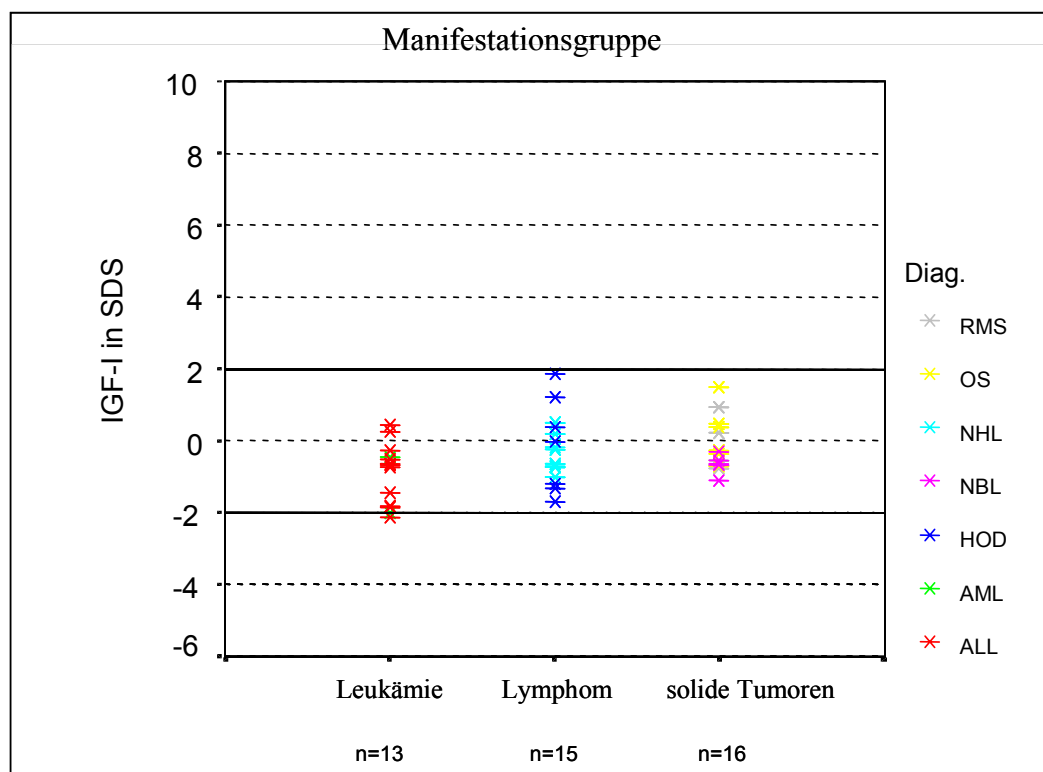


Abb.11: IGF-I-Serumkonzentrationen (in SDS) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Linien stellen den Referenzbereich gesunder Kontrollkinder dar (± 2 SD). Die jeweiligen Diagnosen wurden farbig gekennzeichnet.

Tab. 7: IGF-I-SDS-Werte der Manifestationsgruppe

| | Leukämie n=13 | Lymphome n=15 | solide Tumoren n=16 |
|-------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Mittelwert | -0,91 | 0,24 | 0,19 |
| Median | -0,66 | 0,25 | 0,46 |
| Minimum | -2,12 | -1,71 | -1,10 |
| Maximum | 0,43 | 1,87 | 1,48 |

Die IGF-I-Serumkonzentrationen lagen bei nahezu allen Patienten im Referenzbereich für gesunde Kontrollkinder. Die Leukämiepatienten zeigten im Vergleich zu den anderen Erkrankungen die geringsten Serumkonzentrationen (Tab.7). Mit einem Median von $-0,66$ SDS lagen diese im unteren Normbereich. Signifikante Unterschiede zwischen den Erkrankungen konnten nicht belegt werden.

Die in der Abbildung 12 dargestellten IGF-II-SDS-Werte zeigen im Vergleich zum IGF-I ein ganz anderes Bild. Patienten mit soliden Tumoren (vor allem Rhabdomyosarkom und

Osteosarkom) wiesen deutlich erhöhte Serumkonzentrationen auf. Mit einem Median von +2,31 SDS lagen die IGF-II-Konzentrationen für diese Patienten deutlich über der Norm. Auch Kinder mit einer Leukämie zeigten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung in unseren Untersuchungen vereinzelt erhöhte IGF-II-Werte oberhalb des Referenzbereiches. Der überwiegende Teil dieser Patienten lag im oberen Normbereich. Im Gegensatz dazu zeigten Kindern mit einem Lymphom keine pathologischen IGF-II-Konzentrationen. Im Vergleich zu Patienten mit einem soliden Tumor oder einer Leukämie waren diese überwiegend im unterem Normbereich zu finden.

Die Erhöhung der IGF-II-Serumkonzentrationen bei soliden Tumoren und Leukämien wurde gegenüber den Lymphompatienten mittels Mann-Whitney-Test geprüft. Diese weisen eine hohe Signifikanz von $p < 0,003$ bzw. $p = 0,01$ auf.

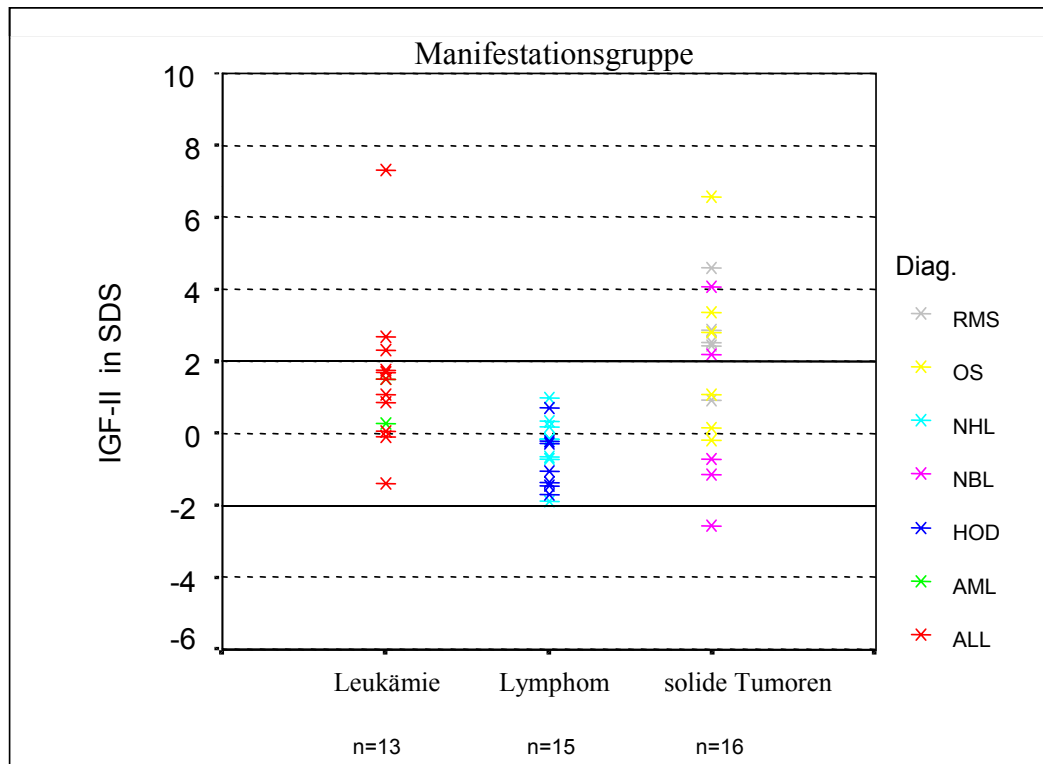


Abb.12: IGF-II-Serumkonzentrationen (in SDS) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Linien stellen den Referenzbereich gesunder Kontrollkinder dar (± 2 SD). Die jeweiligen Diagnosen wurden farbig gekennzeichnet.

Tab. 8: IGF-II-SDS-Werte der Manifestationsgruppe

| | Leukämie n=13 | Lymphome n=15 | solide Tumoren n=16 |
|-------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Mittelwert | 1,50 | -0,49 | 1,81 |
| Median | 1,51 | -0,28 | 2,31 |
| Minimum | -1,40 | -1,91 | -2,57 |
| Maximum | 7,31 | 0,99 | 6,58 |

Tab. 9: Signifikanzprüfung (p-Werte, IGF-II-SDS-Werte der Manifestationsgruppe)

| | Leukämie | Lymphome | solide Tumoren |
|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------------|
| Leukämie | | <u>0,01</u> | 0,48 |
| Lymphome | | | <u>0,003</u> |

Das IGFBP-2 zeigte im Vergleich zu den anderen insulinähnlichen Wachstumsfaktoren eine deutliche Abweichung über dem Referenzbereich gesunder Kontrollkinder. Hervorzuheben ist, dass von den untersuchten Kindern mit malignen Erkrankungen nur die Leukämiepatienten IGFBP-2-SDS-Werte aufwiesen, die hochsignifikant ($p=0,005$) über dem altersentsprechenden Normbereich lagen. Bis auf zwei Patienten mit einer Leukämie lagen alle anderen oberhalb des Normbereiches. Auch die Patienten mit soliden Tumoren und Lymphomen wiesen pathologische Serumkonzentrationen auf. Bei zwei Patienten mit einem Rhabdomyosarkom konnten IGFBP-2-Serumkonzentrationen bestimmt werden, die über dem 8-fachen des Referenzbereiches gesunder Kontrollkinder lagen. Obwohl Patienten mit Lymphomen und soliden Tumoren zum Teil deutlich über einem Vielfachen der Norm lagen, konnte keine signifikante Abweichung vom Referenzbereich aufgezeigt werden. Im Vergleich der Erkrankungen untereinander wurde deutlich, dass Leukämien signifikant höhere IGFBP-2-Serumkonzentrationen im Vergleich zu Lymphomen aufweisen ($p=0,03$).

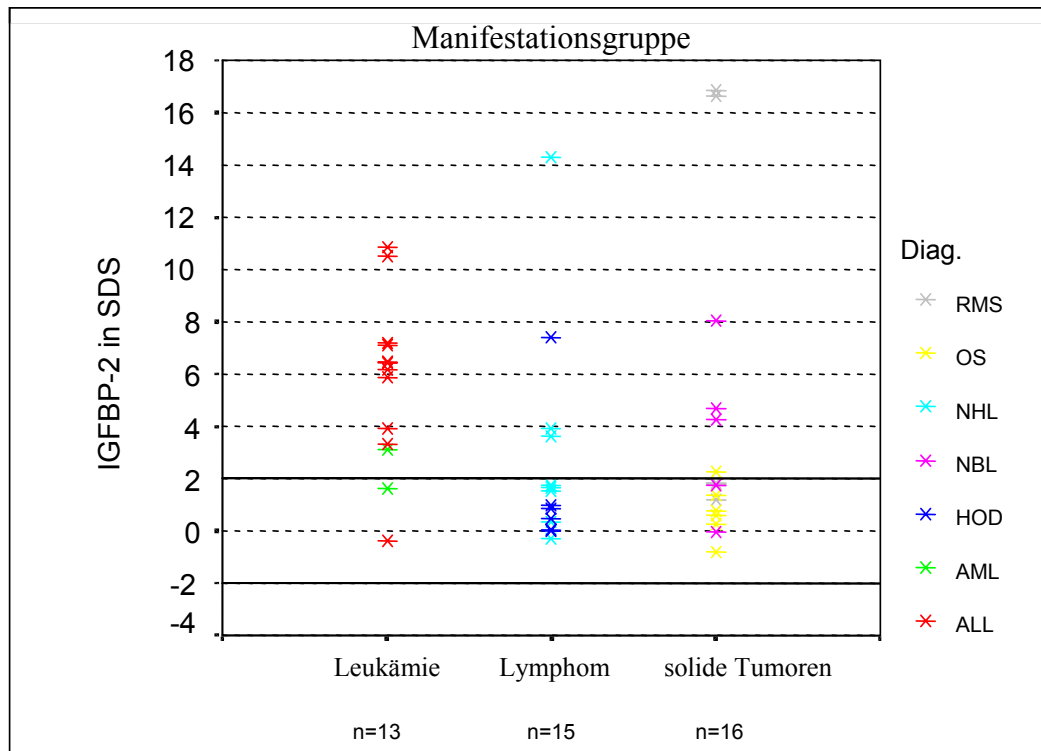


Abb.13: IGFBP-2-Serumkonzentrationen (SDS) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Linien stellen den Referenzbereich gesunder Kontrollkinder dar (± 2 SD). Die jeweiligen Diagnosen wurden farbig gekennzeichnet.

Tab. 10: IGFBP-2-SDS-Werte der Manifestationsgruppe

| | Leukämie n=13 | Lymphome n=15 | solide Tumoren n=16 |
|-------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Mittelwert | 5,55 | 3,84 | 3,83 |
| Median | 6,18 | 1,54 | 1,76 |
| Minimum | -0,37 | -0,31 | -0,81 |
| Maximum | 10,84 | 14,29 | 16,83 |

Tab.11: Signifikanzprüfung (p-Werte, IGFBP-2-SDS-Werte der Manifestationsgruppe)

| | Leukämie | Lymphome | solide Tumoren |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| Leukämie | | 0,03 | 0,06 |
| Lymphome | | | 0,63 |

Die IGFBP-3-Werte zeigten ein ähnliches Verteilungsmuster wie das IGF-I. Bei Patienten mit einer Leukämie oder mit einem Lymphom lagen die IGFBP-3 Serumkonzentrationen im unteren Normbereich. Die Kinder mit einem soliden Tumor wiesen im Gegensatz dazu eine breite Streuung der IGFBP-3-SDS-Werte auf. Das Maximum der IGFBP-3 Konzentration lag bei dieser Erkrankung weit oberhalb der doppelten Standardabweichung und das Minimum unterhalb der zweifach negativen Standardabweichung. Im Vergleich der Erkrankungen untereinander konnten bei den soliden Tumoren gegenüber Lymphomen signifikant erhöhte IGFBP-3 Konzentrationen gefunden werden ($p=0,02$).

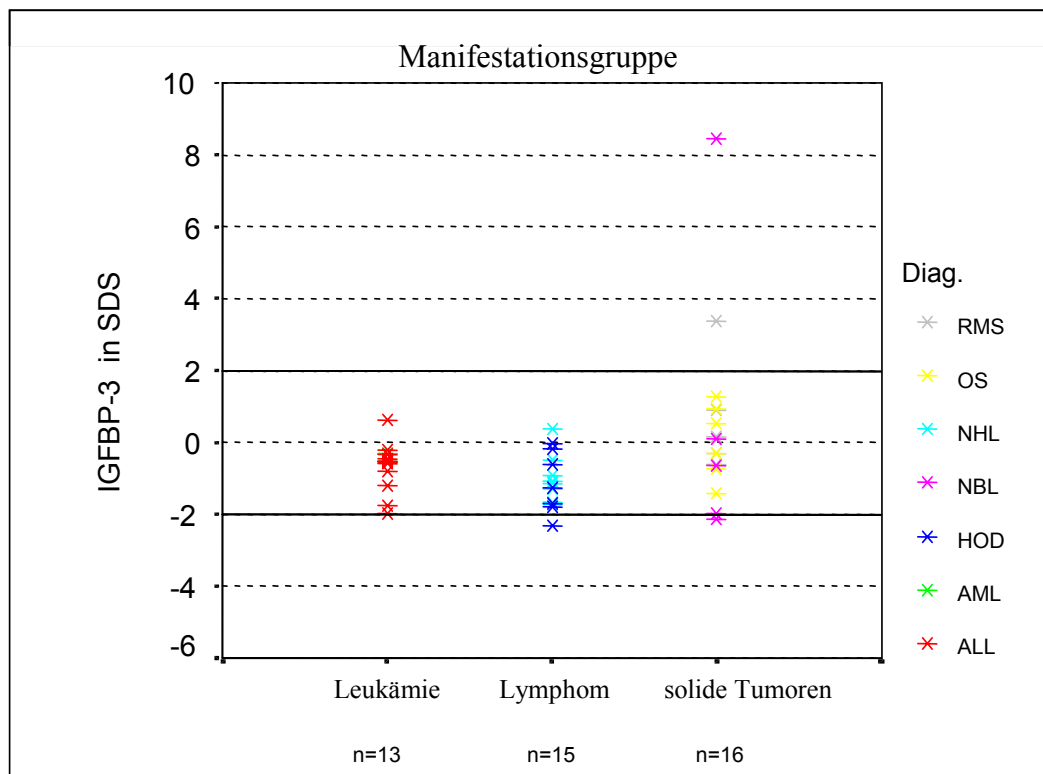


Abb.14: IGFBP-3-Serumkonzentrationen (in SDS) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Linien stellen den Referenzbereich gesunder Kontrollkinder dar (± 2 SD). Die jeweiligen Diagnosen wurden farblich gekennzeichnet.

Tab. 12: IGFBP-3-SDS-Werte der Manifestationsgruppe

| | Leukämie n=13 | Lymphome n=15 | solide Tumoren n=16 |
|-------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Mittelwert | -0,66 | -1,0 | 0,47 |
| Median | -0,53 | -1,15 | 0,10 |
| Minimum | -1,98 | -2,32 | -2,13 |
| Maximum | 0,63 | 0,36 | 8,44 |

Tab.13: Signifikanzprüfung (p-Werte, IGFBP-3-SDS-Werte der Manifestationsgruppe)

| | Leukämie | Lymphome | solide Tumoren |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| Leukämie | | 0,15 | 0,17 |
| Lymphome | | | <u>0,02</u> |

4.2. Die KMT-Gruppe

4.2.1. Altersgrafik der KMT-Patienten

4.2.1.1. Verteilung der Einzelwerte

Vor allem Leukämiepatienten in unseren Untersuchungen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung signifikante Veränderungen im IGF-System aufwiesen, wurden in der folgenden Gruppe insgesamt 51 Leukämiepatienten im Rahmen der KMT auf ihre insulinähnlichen Wachstumsfaktoren IGF-I und -II sowie deren Bindungsproteine IGBP-2 und IGFBP-3 untersucht. Dabei waren 27 Patienten an einer AML und 24 an einer ALL erkrankt. Der Altersdurchschnitt betrug bei den AML-Patienten 13,6 Jahre und bei Patienten mit einer ALL 11,0 Jahre. In den Abb.15-20 sind die Absolutwerte der Serumkonzentrationen der insulinähnlichen Wachstumsfaktoren die unmittelbar vor Konditionierung bestimmt wurden im Bezug zu Alter dargestellt. Zu diesem Zeitpunkt befand sich der überwiegende Teil der Patienten in Remission und stellte somit eine vergleichbare Ausgangsbasis dar. Unter Berücksichtigung der geschlechtsspezifischen Unterschiede von IGF-I und IGFBP-3 erfolgte eine Differenzierung zwischen männlichen und weiblichen Patienten.

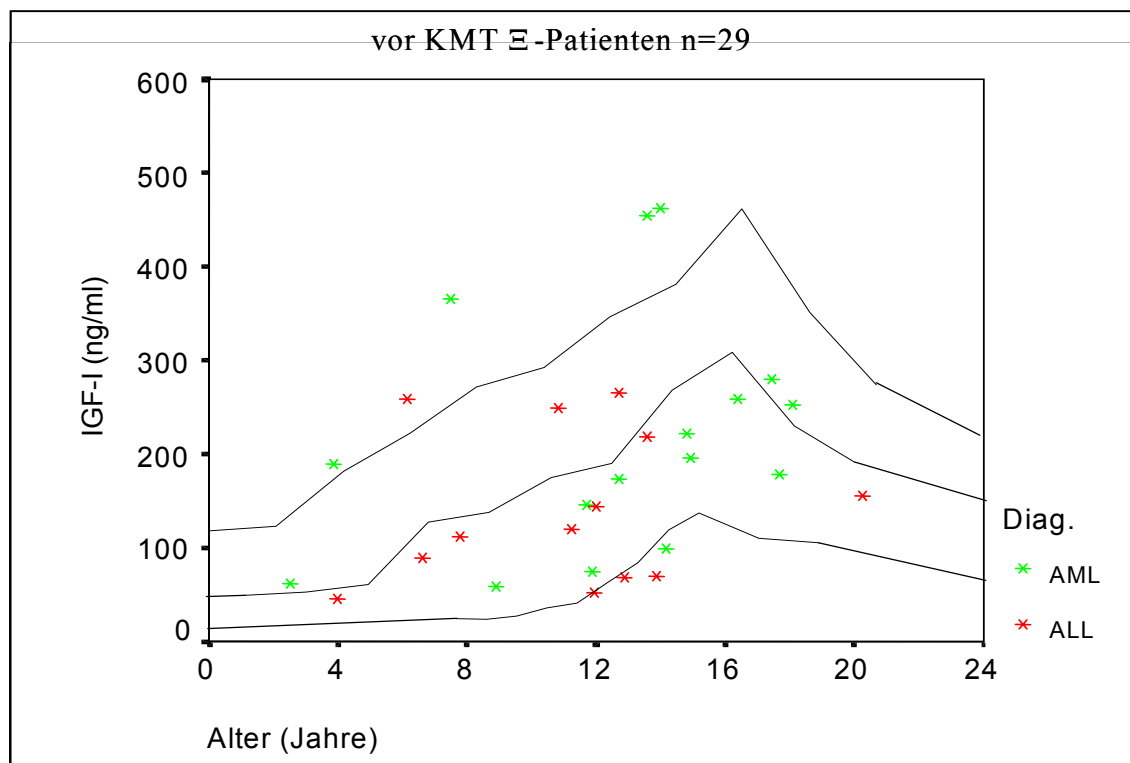


Abb.15: Serumkonzentrationen von IGF-I zum Zeitpunkt vor der KMT (**männliche Patienten**). Die Linien stellen die 5., 50. und 95. Perzentile der gesunden Kontrollen dar. Die jeweiligen Diagnosen wurden farbig gekennzeichnet.

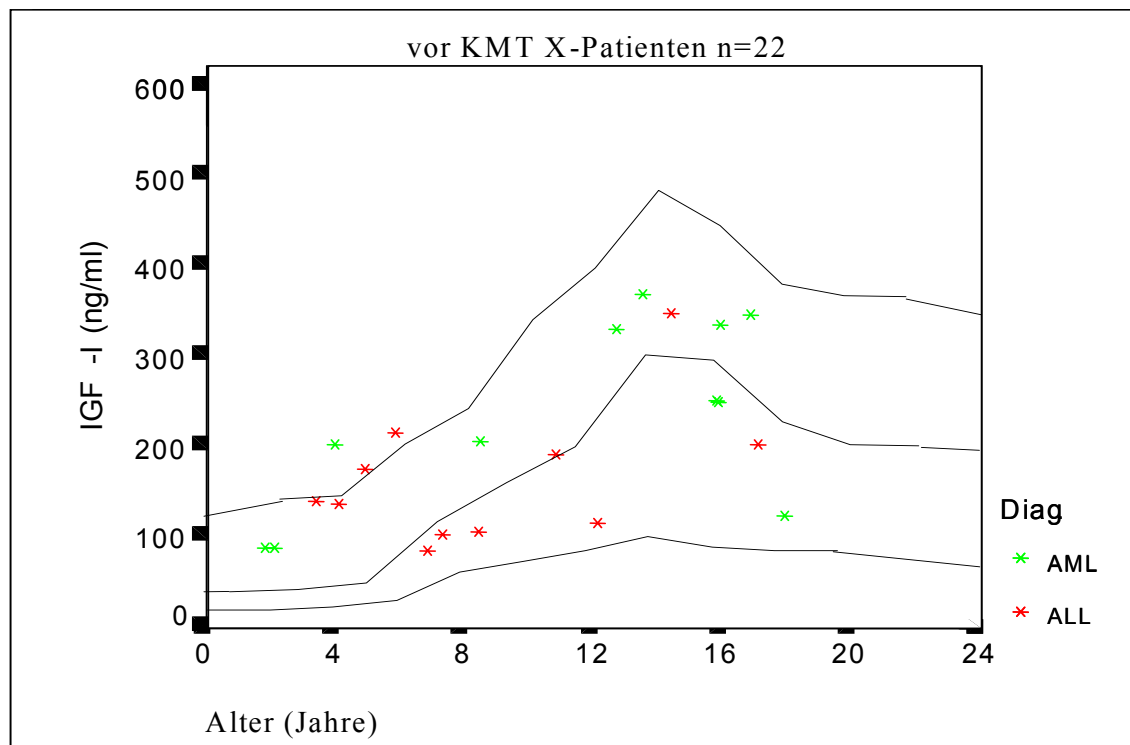


Abb.16: Serumkonzentrationen von IGF-I zum Zeitpunkt vor der KMT (**weibliche Patienten**). Die Linien stellen die 5., 50. und 95. Perzentile der gesunden Kontrollen dar. Die jeweiligen Diagnosen wurden farbig gekennzeichnet.

Die IGF-I-Serumkonzentrationen der männlichen und weiblichen Patienten lagen unmittelbar vor KMT überwiegend im Normbereich. Über 80% der männlichen Patienten konnten IGF-I-Werte unterhalb der 50. Perzentile gefunden werden. Nur einzelne IGF-I-Werte lagen außerhalb des Normbereiches. Bei den Mädchen streuten die IGF-I-Serumkonzentrationen über den gesamten Referenzbereich gesunder Kontrollkinder. Unterschiede zwischen AML und ALL sowie altersspezifische Unterschiede konnten zu diesem Zeitpunkt nicht nachgewiesen werden.

Die IGF-II-Werte streuten über den gesamten Normbereich. Es konnten IGF-II-Konzentrationen sowohl unterhalb aber auch oberhalb der Altersnorm gefunden werden. Einige Patienten wiesen Serumkonzentrationen bis zum 3-fachen über der Norm auf. Signifikante Unterschiede zwischen AML und ALL-Patienten konnten nicht nachgewiesen werden. Geschlechts- und altersspezifische Differenzen waren nicht zu finden.

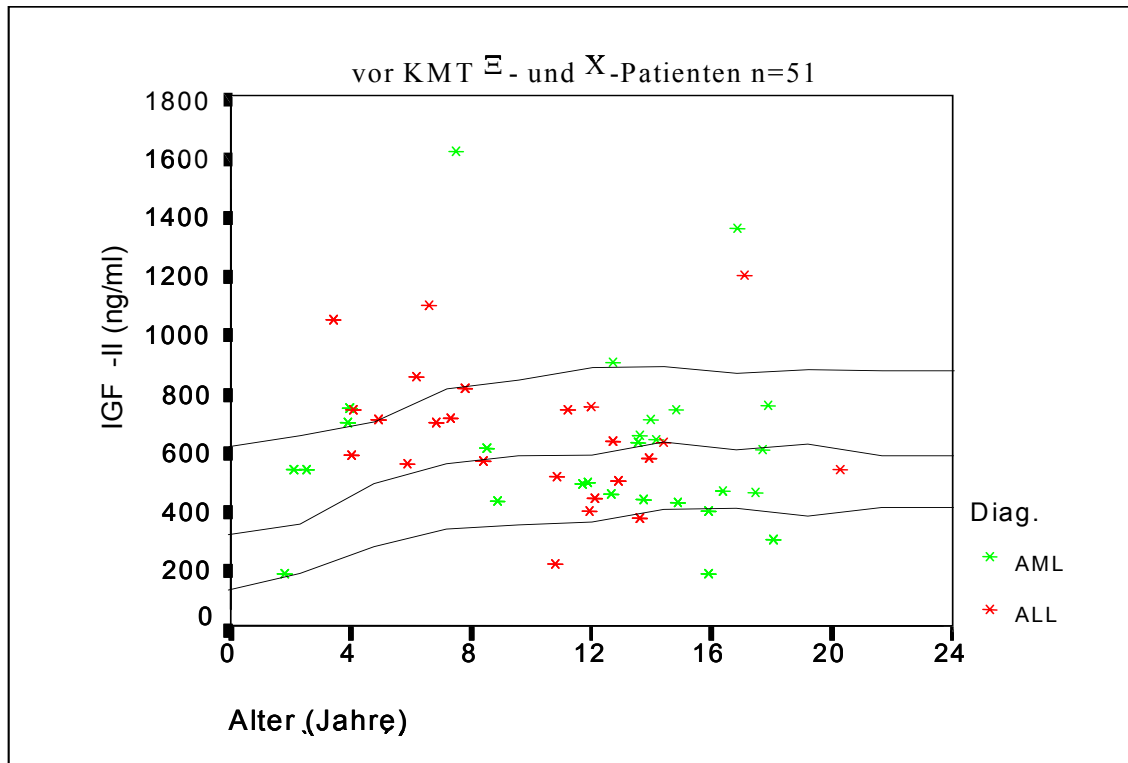
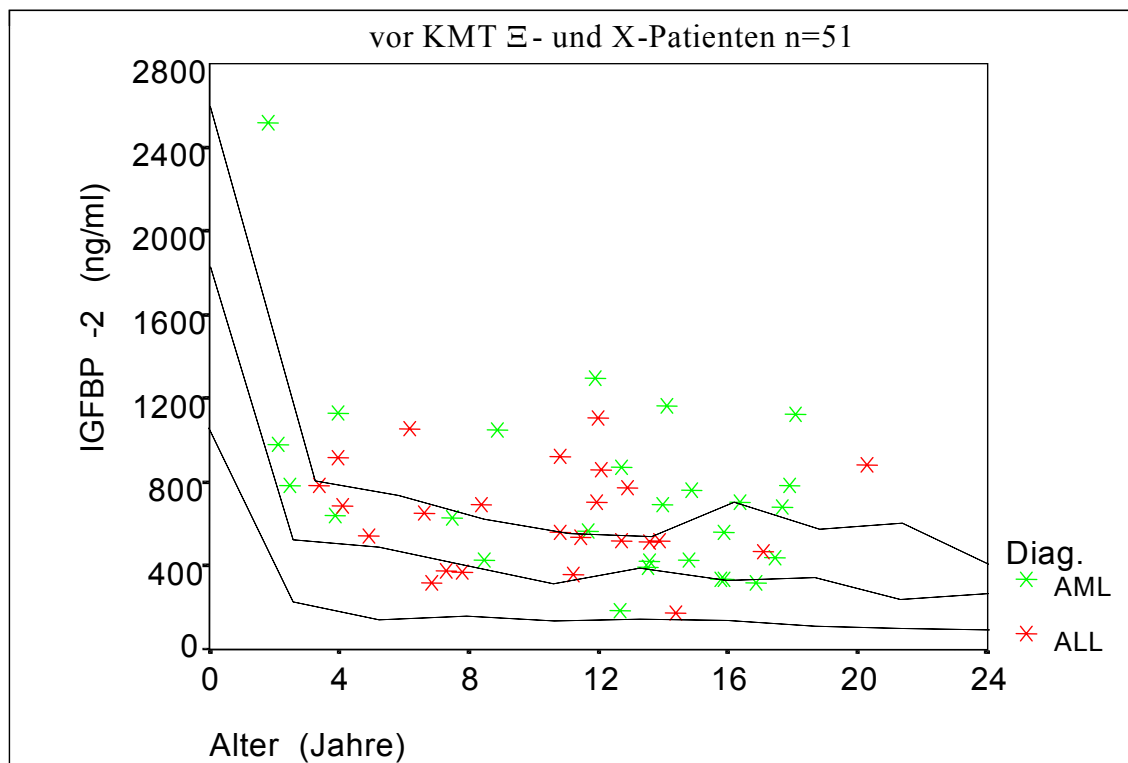


Abb.17: Serumkonzentrationen von IGF-II zum Zeitpunkt vor der KMT. Die Linien stellen die 5., 50. und 95. Perzentile der gesunden Kontrollen dar. Die jeweiligen Diagnosen wurden farbig gekennzeichnet.

Abb.18: Serumkonzentrationen von IGFBP-2 zum Zeitpunkt vor der KMT. Die Linien stellen die 5., 50. und 95. Perzentile der gesunden Kontrollen dar. Die jeweiligen Diagnosen wurden farbig gekennzeichnet.



Die IGFBP-2-Konzentrationen der AML- und auch der ALL-Patienten lagen im Gegensatz zu IGF-I und -II, mit mehr als 50% über der 95. Perzentile und damit deutlich über dem Normbereich.. Einige Patienten erreichten sogar ein Vielfaches der Norm. Nur ein geringer Anteil der Patienten (ein Kind mit AML und vier Patienten mit ALL) war unterhalb der 50. Perzentile zu finden. Kein Patient wies eine IGFBP-2-Serumkonzentration unterhalb des Referenzbereiches gesunder Kontrollkinder auf. Alters- und geschlechtsspezifische Unterschiede konnten zu diesem Zeitpunkt nicht nachgewiesen werden.

Die IGFBP-3-Werte zeigten in Vergleich zum IGFBP-2 sowohl bei den männlichen als auch bei den weiblichen Patienten deutlich niedrigere Konzentrationen. Vor allem die Jungen lagen zum überwiegenden Teil mit ihren Serumkonzentrationen unterhalb der 50. Perzentile. Bei den Mädchen konnten vereinzelt sowohl IGFBP-3-Werte über der 95. als auch unter der 5. Perzentile gefunden werden. Somit waren weitestgehend alle Patienten im Referenzbereich gesunder Kontrollkinder zu finden.

Es wurde deutlich, dass Patienten die zum Zeitpunkt der Untersuchung älter als 8 Jahre waren, vermehrt IGFBP-3-Werte im unteren Normbereich aufwiesen. Jüngere Patienten hingegen zeigten vermehrt IGFBP-3-Konzentrationen oberhalb der 50. Perzentile. Der überwiegende Teil der Kinder lag jedoch mit seinen IGFBP-3-Konzentrationen unmittelbar vor KMT im unteren Normbereich. Wiederrum konnten zwischen AML- und ALL-Patienten zu diesem Zeitpunkt keine Unterschiede bezüglich der IGFBP-3-Werte gefunden werden.

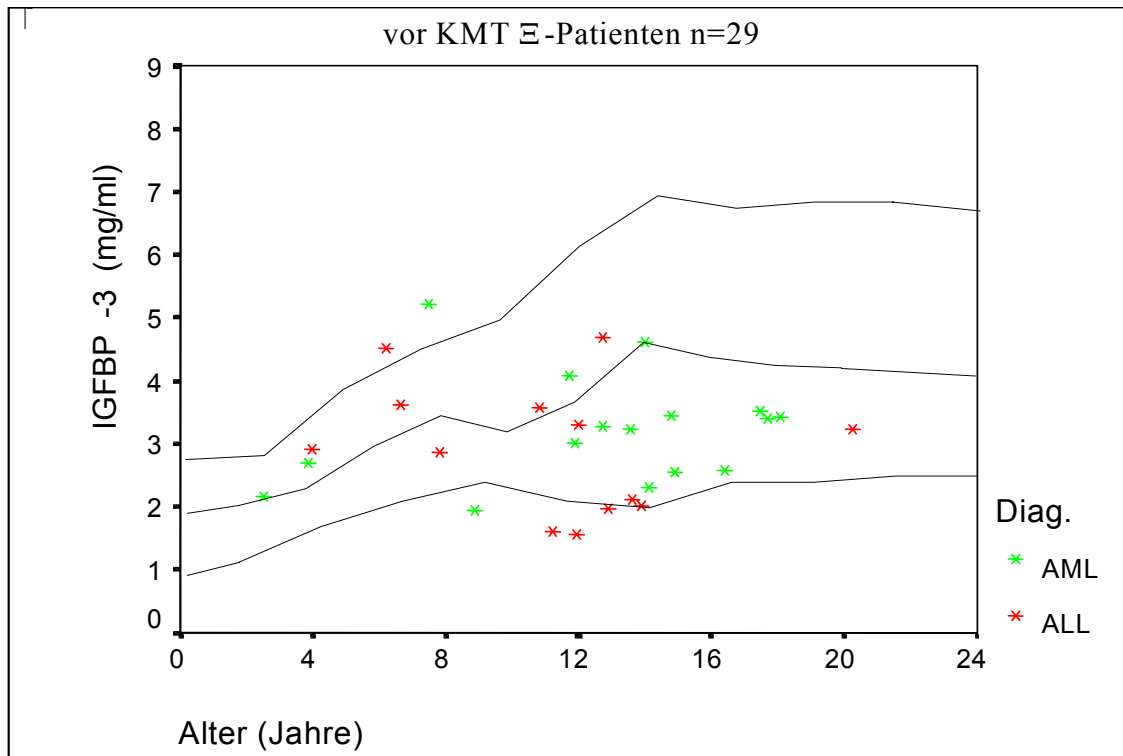


Abb.19: Serumkonzentrationen von IGFBP-3 zum Zeitpunkt vor der KMT (**männliche Patienten**). Die Linien stellen die 5., 50. und 95. Perzentile der gesunden Kontrollen dar. Die jeweiligen Diagnosen wurden farblich gekennzeichnet.

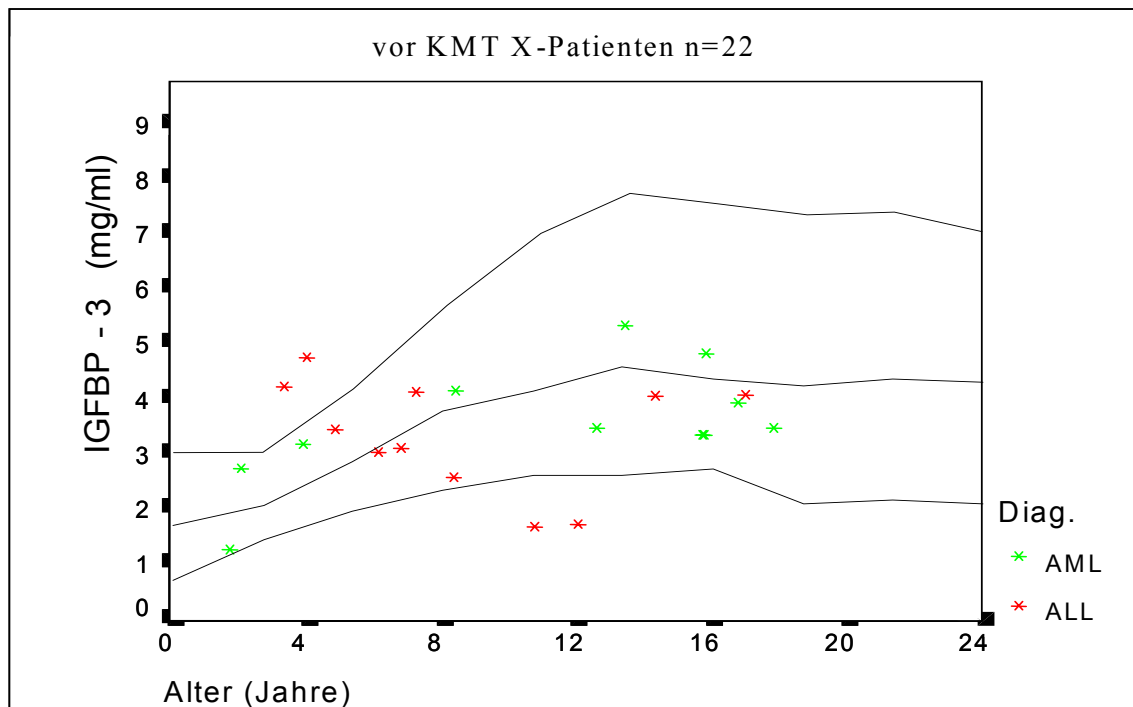


Abb.20: Serumkonzentrationen von IGFBP-3 zum Zeitpunkt vor der KMT (**weibliche Patienten**). Die Linien stellen die 5., 50. und 95. Perzentile der gesunden Kontrollen dar. Die jeweiligen Diagnosen wurden farblich gekennzeichnet.

4.2.2 Verlauf der insulinähnlichen Wachstumsfaktoren nach KMT

4.2.2.1 Serumkonzentrationen von IGF-I,-II sowie IGFBP-2,-3 bei AML- und ALL-Patienten

In den folgenden Abbildungen sind die insulinähnlichen Wachstumsfaktoren im zeitlichen Verlauf dargestellt. Die AML und ALL wurden farblich voneinander getrennt abgebildet. Der Beobachtungszeitraum betrug 18 Monate. Die erste Serumentnahmen erfolgte noch vor KMT unmittelbar vor Konditionierung, um für alle Patienten einen vergleichbaren Ausgangspunkt zu gewährleisten. Weitere Zeitpunkte sind den folgenden Abbildungen zu entnehmen wurden in Material und Methoden (3.4.) ausführlich beschrieben. Mit wachsenden zeitlichem Abstand zur KMT wird die Anzahl der erfassten Daten weniger, da zu einigen Zeitpunkten von den jeweiligen Patienten nicht ausreichend Serum zur Verfügung stand, einige Patienten verstorben sind und andere den Beobachtungszeitraum noch nicht beendet hatten.

In der Auswertung wurden sowohl Veränderungen im Vergleich zum Ausgangswert berücksichtigt als auch die Abweichungen zwischen den Zeitpunkten untersucht. Die Leukämien wurden untereinander verglichen und Abweichungen vom Normbereich untersucht. Ebenso wurden die Patienten mit einer autologen oder allogenen Transplantation verglichen. Dabei zeigten sich jedoch keine signifikanten Unterschiede, so dass in den folgenden Ausführungen diese Unterscheidung nicht weiter berücksichtigt wurde. Der Referenzbereich gesunder Kontrollkinder wurde in den Abbildungen 18 bis 21 mittels Linien gekennzeichnet. Er entspricht dem Median und der zweifachpositiven und zweifachnegativen Standardabweichung (± 2 SD) des Normwertes der entsprechenden Altersgruppe.

Die Ergebnisse zeigen, dass beim Vergleich der Leukämien untereinander, die Serumkonzentrationen von IGF-I und IGFBP-3 im Median bei Patienten mit AML bereits unmittelbar nach der Transplantation niedriger sind als bei ALL-Patienten (Abb.21, 23). Dabei konnten signifikant geringere IGF-I-Konzentrationen am 60. und 100. Tag ($p=0,02$, $p=0,03$) gefunden werden. Entgegengesetzt verhielten sich die Serumkonzentrationen von IGFBP-2. Hierbei wiesen Kinder mit einer AML deutlich höhere Serumkonzentrationen auf. Über 88% der AML-Patienten und 65% der ALL-Patienten zeigten am 100. Tag nach KMT IGFBP-2-Werte über dem Referenzbereich gesunder Kontrollkinder von +2 SDS. Dagegen konnten für die IGF-II-Werte keine signifikanten Abweichungen von der Norm gefunden werden. Die Serumkonzentrationen des IGF-II streuten über dem gesamten Normbereich. Differenzen zwischen den Leukämien konnten hierbei nicht aufgezeigt werden.

Bei weiteren Untersuchungen im zeitlichen Verlauf wurden die spezifischen Veränderungen zum Ausgangswert (v.KMT) und das individuelle Verhalten der AML und ALL berücksichtigt. Im Bezug zum Ausgangswert zeigten sowohl Patienten mit einer AML als auch Kinder mit einer ALL mit zunehmenden zeitlichem Abstand von der KMT bis zum 6. Monat nach KMT immer weiter abnehmende IGF-I und IGFBP-3-Konzentrationen sowie ansteigende IGFBP-2-Konzentrationen. Bis zum 18. Monat nach KMT wurde der Ausgangswert wieder annähernd erreicht. Für die IGF-II-Werte konnte dieses Verhalten nicht beobachtet werden (Abb.18-21).

Patienten mit einer AML wiesen deutlichere Abweichungen vom Ausgangswert auf. Signifikante Differenzen zum Ausgangswert konnten nur AML-Patienten gefunden werden (Tab.12). Kindern mit einer ALL zeigten bereits am 30. Tag nach KMT Abweichungen vom Ausgangswert (Tab.3). Zu diesem Zeitpunkt lagen 75 % der IGF-I- und 52 % der IGFBP-3-Werte unter einem Wert von -1 SDS und damit deutlich im unterem Normbereich. Gleichzeitig zeigte das IGFBP-2 ein spiegelbildliches Verhalten. Die IGFBP-2-Serumkonzentrationen dieser Patienten stiegen bis zum 6. Monat kontinuierlich an. 22 von 25 Patienten wiesen IGFBP-2-Konzentrationen über dem Normwert von $+2$ SDS auf. In der Tab. 14 sind die p-Werte für Paardifferenzen zu den jeweiligen Zeitpunkten im Bezug auf den Ausgangswert (vor Konditionierungs-Therapie) für die AML-Patienten dargestellt.

Tab. 14: Mittelwertsvergleich von IGF-I,-II sowie IGFBP-2,-3 zum Ausgangswert zu verschiedenen Zeitpunkten nach KMT bei AML-Patienten. Dargestellt sind die p-Werte für Paardifferenzen des Wilcoxon-Testes.

| AML | v.KMT- 30. Tag | v.KMT- 60. Tag | v.KMT- 100. Tag | v.KMT- 6. Monat | v.KMT- 12. Monat | v.KMT- 18. Monat |
|--------------|-------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| <i>IGF-I</i> | 0,49 | <u>0,006</u> | <u>0,001</u> | <u>0,009</u> | <u>0,01</u> | 0,13 |
| IGF-II | 0,74 | 0,98 | 0,95 | 0,23 | 0,56 | 0,87 |
| IGFBP-2 | 0,50 | <u>0,007</u> | <u>0,007</u> | <u>0,019</u> | 0,37 | 0,75 |
| IGFBP-3 | 0,90 | <u>0,05</u> | 0,13 | <u>0,02</u> | 0,17 | 0,06 |

Eine signifikante Abweichung von Normbereich konnte nur für das IGFBP-2 festgestellt werden. Eine deutliche Überschreitung des Referenzbereiches (oberhalb +2 SDS) war sowohl für AML- als auch für ALL-Patienten nachweisbar (Abb.22). Hochsignifikante Unterschiede konnten mittels Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben bei der AML am 60. und 100.Tag sowie am 6. Monat gezeigt werden. Die ALL-Patienten zeigten signifikante Unterschiede um den 100. Tag. Die p-Werte sind der Tab. 15 zu entnehmen. Für Wachstumsfaktoren IGF-I,-II und das IGFBP-3 konnten keine signifikanten Abweichungen vom der Norm gefunden werden.

Tab.15: Abweichung des IGFBP-2 vom Normbereich (± 2 SDS) zu verschiedenen Zeitpunkten. Dargestellt sind die p-Werte der Paardifferenzen des Wilcoxon-Testes

| IGFBP-2 | vKMT | 30T | 60T | 100T | 6Mo | 12Mo | 18Mo |
|----------------|------|------|------------------|------------------|------------------|------|------|
| <u>AML</u> | 0,38 | 0,33 | <u><0,001</u> | <u><0,001</u> | <u><0,001</u> | 0,26 | 0,75 |
| <u>ALL</u> | 0,71 | 0,98 | 0,12 | <u>0,02</u> | 0,13 | 0,75 | 0,79 |

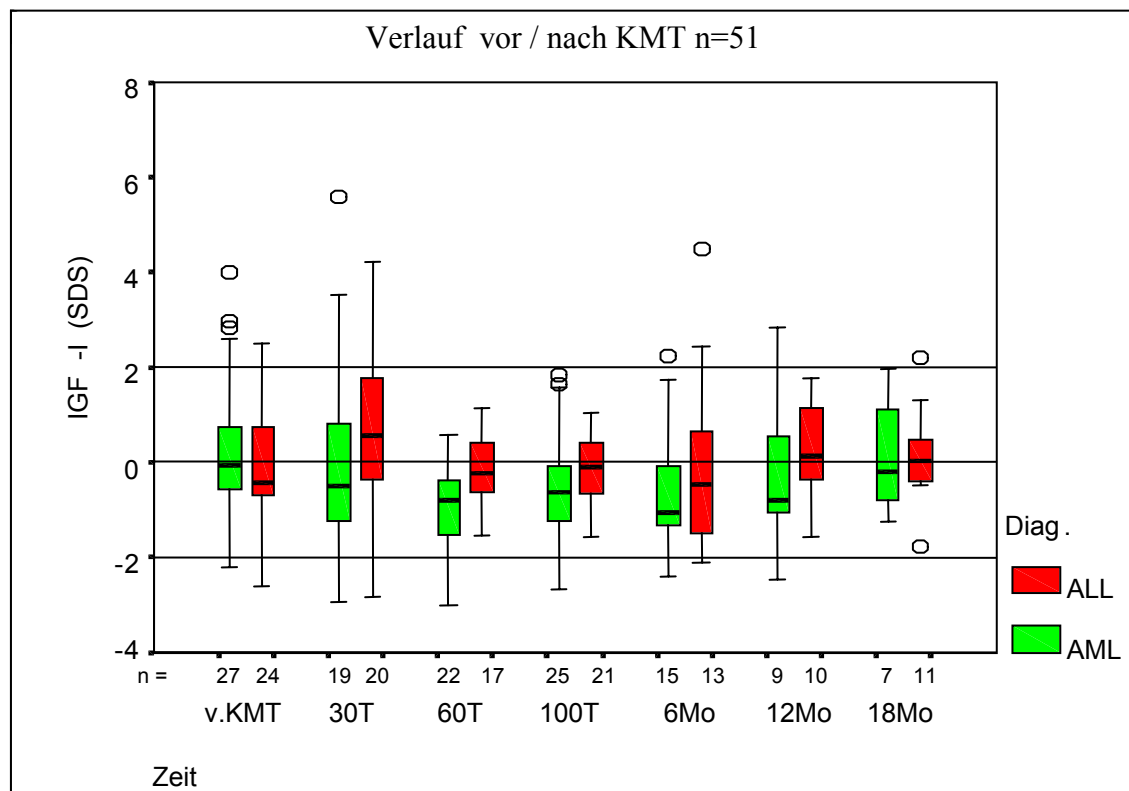


Abb.21: Verlauf der Serumkonzentrationen (in SDS) von IGF-I nach der KMT. Die Linien stellen den Normbereich (± 2 SD) dar. Die jeweiligen Diagnosen wurden farblich gekennzeichnet.

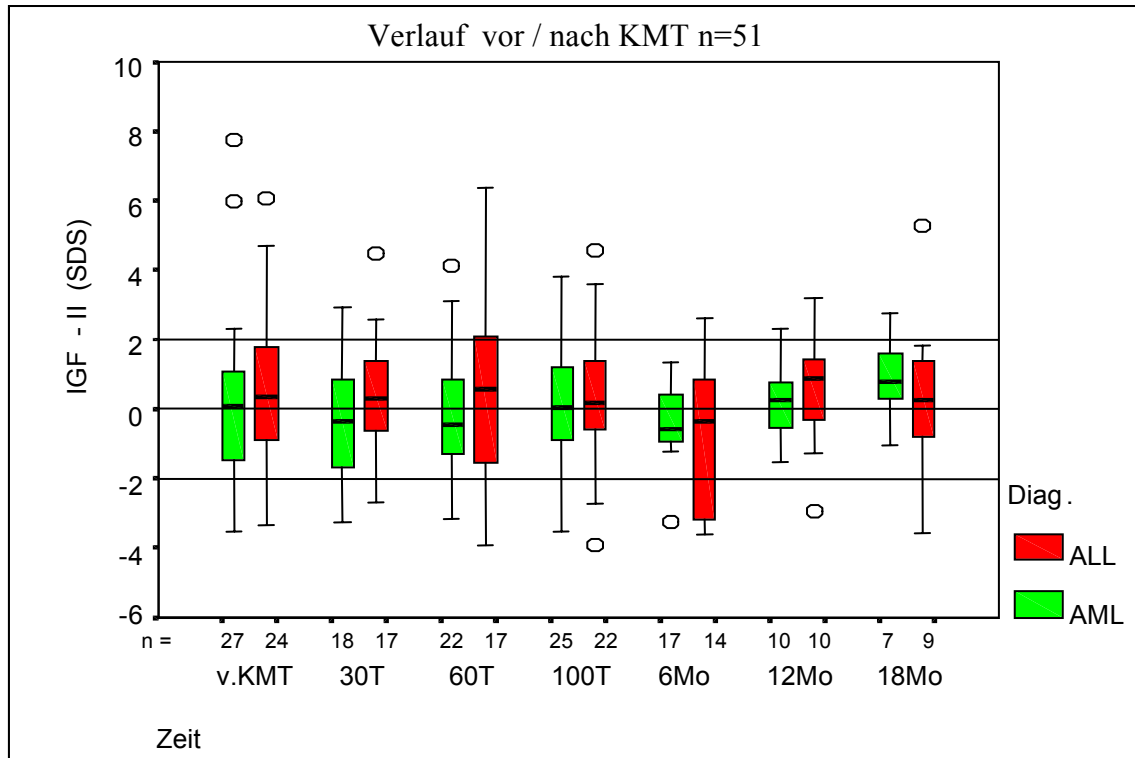


Abb.22: Verlauf der Serumkonzentrationen (in SDS) von IGF-II nach der KMT. Die Linien stellen den Normbereich (± 2 SD) dar. Die jeweiligen Diagnosen wurden farbig gekennzeichnet.

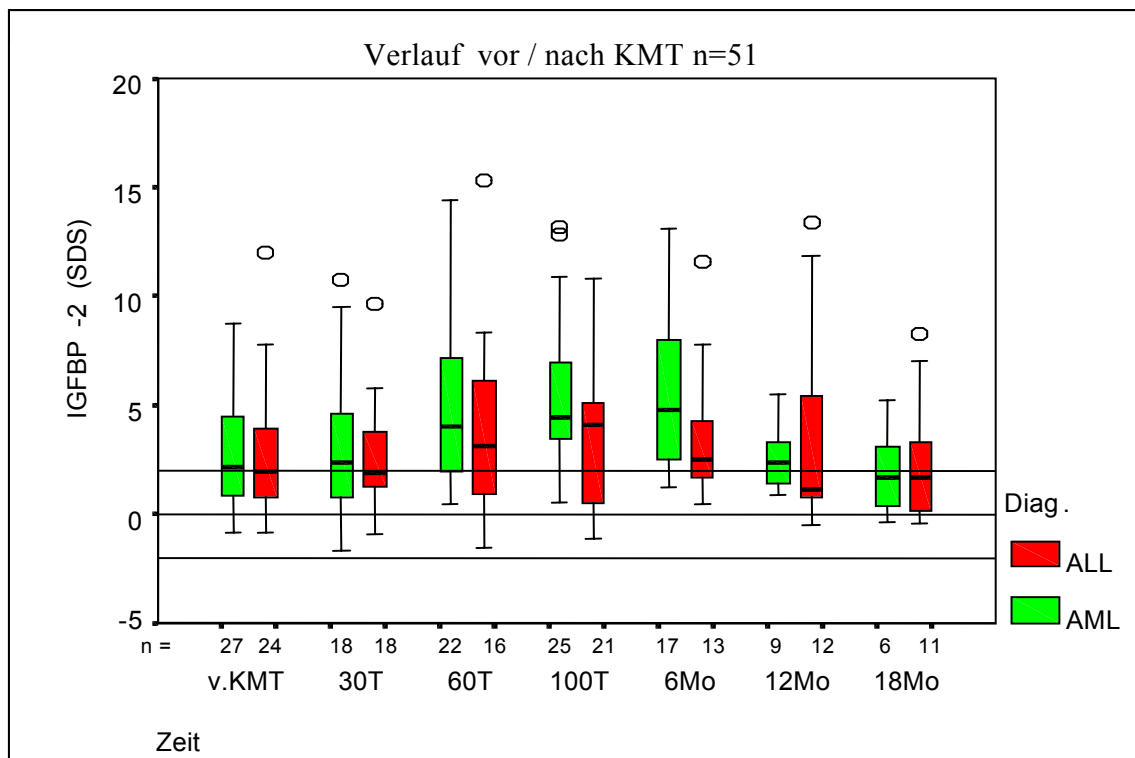


Abb.23: Verlauf der Serumkonzentrationen (in SDS) von IGFBP-2 nach der KMT. Die Linien stellen den Normbereich (± 2 SD) dar. Die jeweiligen Diagnosen wurden farbig gekennzeichnet.

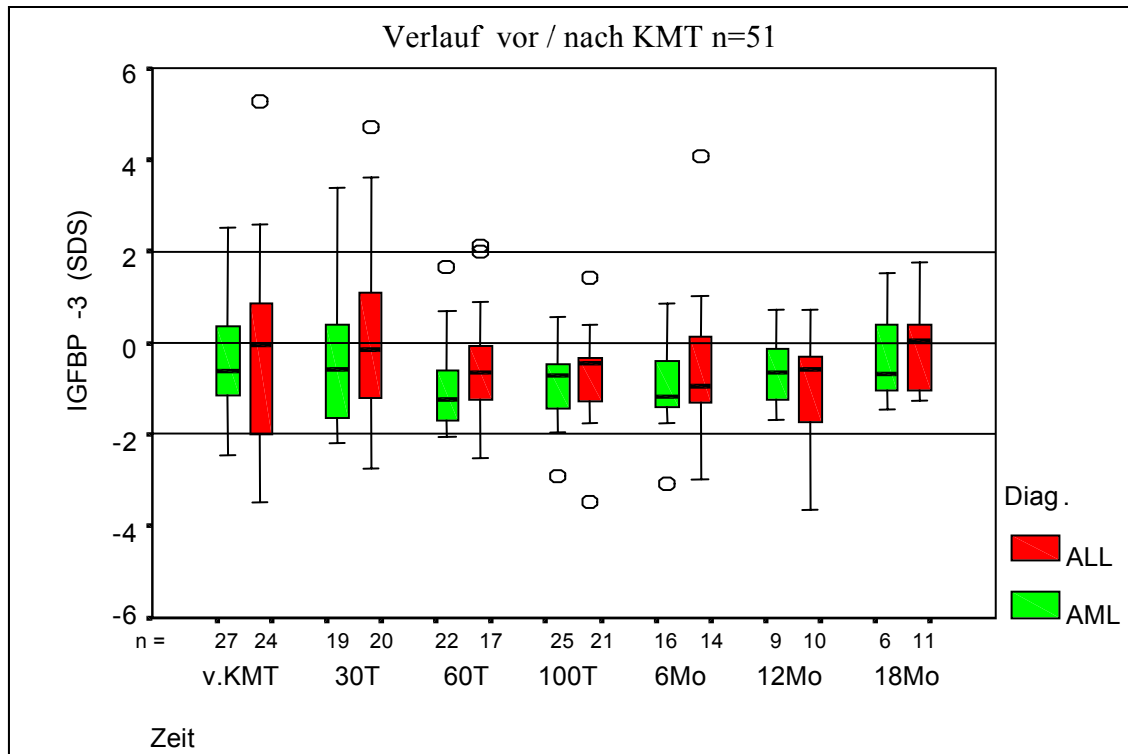


Abb.24: Verlauf der Serumkonzentrationen (in SDS) von IGFBP-3 nach der KMT. Die Linien stellen den Normbereich (± 2 SD) dar. Die jeweiligen Diagnosen wurden farblich gekennzeichnet.

4.2.2.2 Vergleich Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten

Es wurde untersucht, inwieweit das Auftreten eines Rezidivs nach KMT durch die Bestimmung der insulinähnlichen Wachstumsfaktoren und deren Bindungsproteine im Serum vorhersagbar ist. Es sollte geprüft werden, inwieweit eine Erhöhung der IGFBP-2-Serumkonzentration und auch Veränderungen der Faktoren IGF-I, -II, und IGFBP-3, eine Prognose für die Entstehung eines Rezidivs im zeitlichen Verlauf zulässt.

Bei 19 Patienten der KMT-Gruppe war im Beobachtungszeitraum ein Rezidiv diagnostiziert worden (12 Patienten mit AML und 7 mit ALL). Es wurden nur Patienten berücksichtigt, deren Rezidiv erst nach dem 6. Monat nach KMT auftrat. Mit dem individuellen Auftreten des Rezidivs wurde die Untersuchung dieser Patienten beendet.

In den nachfolgenden Abbildungen wurden die jeweiligen Serumkonzentrationen zum Zeitpunkt des Rezidivs nach dem 18. Monat dargestellt, dies entspricht aber nicht dem vorgegebenen Zeitintervall der X-Achse, da bei jedem Kind das Rezidiv zu einem ganz

individuellen Zeitpunkt diagnostiziert wurde. Der überwiegende Teil der Rezidive trat zwischen dem 6. und 18. Monat nach KMT auf.

32 Patienten der Gesamtgruppe blieben im Beobachtungszeitraum in kontinuierlicher Remission. Davon waren 15 Patienten an einer AML und 17 an einer ALL erkrankt. Unter Berücksichtigung der Altersabhängigkeit der Parameter wurde nach Möglichkeit einem Rezidivpatient ein gleichaltriger Nicht-Rezidivpatient mit vergleichbarer Diagnose zugeordnet.

Bei dieser Untersuchung wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen dem Auftreten eines Rezidivs und den gemessenen Wachstumsfaktoren hinterfragt. Patienten mit einer AML und ALL wurden getrennt voneinander ausgewertet, da abgesehen vom IGF-II beide Leukämieformen bei Rezidiv- und auch bei Nicht-Rezidivpatienten Unterschiede in den Serumkonzentrationen der einzelnen Wachstumsfaktoren aufwiesen. Kinder mit einer AML, bei denen im Beobachtungszeitraum ein leukämisches Rezidiv diagnostiziert werden konnte, zeigten niedrigere IGF-I und IGFBP-3-Werte im Vergleich zu Rezidivpatienten mit einer ALL. Am 100.Tag nach KMT lagen AML-Rezidivpatienten im Median mit einem IGF-I-Wert von $-1,1$ SDS und einem IGFBP-3-Wert mit $-1,5$ SDS unter den Serumkonzentrationen der ALL-Rezidivpatienten. Entgegengesetzt verhielten sich die IGFBP-2-Konzentrationen. Hier lagen am Tag 100 nach KMT die IGFBP-2-Serumkonzentrationen der AML-Patienten im Median ca. 5 Standardabweichungen über denen der ALL-Patienten. Auf Grund der deutlichen Differenzen zwischen Kindern mit AML bzw. ALL erfolgte eine Gegenüberstellung der Ergebnisse von „Rezidivpatienten“ und „Nicht-Rezidivpatienten“ im zeitlichen Verlauf sowohl für AML- als auch für ALL-Patienten. Hier wurden die individuellen Veränderungen der einzelnen Serumparmeter im Vergleich zum Ausgangswert (v. KMT) dargestellt. Abweichungen der erhobenen Befunde vom Normbereich gesunder Kontrollkinder wurden aufgezeigt.

4.2.2.3 Vergleich Rezidiv- und Nicht-Rezidivpatienten mit AML

Bei Kindern mit einer AML konnten deutliche Unterschiede zwischen Rezidiv- und Nicht-Rezidivpatienten gefunden werden. Die Rezidivpatienten wiesen im Vergleich zu Nicht-Rezidivpatienten für das IGFBP-2 eindeutig höhere Serumkonzentrationen auf. Bereits zu Beginn der Untersuchung lagen die IGFBP-2-Serumkonzentrationen weit über dem Ausgangswert. Ein signifikanter Unterschied ($p=0,05$) konnte am 100.Tag nach KMT

nachgewiesen werden. Kinder die an einem Rezidiv erkrankten zeigten am 100.Tag nach KMT IGFBP-2-Konzentrationen deutlich über der +5-SDS-Marke (Abb. 23). Im Median wiesen diese Kinder einen SDS-Wert von +7,2 auf und lagen damit weit über dem Normbereich. Über 50% waren oberhalb eines Wertes von +9 SDS zu finden.

Kinder, die im Beobachtungszeitraum kein leukämisches Rezidiv entwickelten, wiesen ebenfalls -wie im Kontext bereits beschrieben- erhöhte IGFBP-2-Serumkonzentrationen auf. Jedoch waren diese deutlich unter der +5-SDS-Marke zu finden. Nahezu 87% (13 Patienten) der untersuchten Nicht-Rezidivpatienten zeigten am 100.Tag nach KMT eine IGFBP-2-Serumkonzentration unterhalb eines Werte von +5 SDS. Nur zwei Nicht-Rezidivpatienten lagen oberhalb der +5-SDS-Marke (Tab.14). Der Chi-Quadrat-Test war mit $p=0,01$ signifikant und damit waren die Variablen (Rezidiv/ Nicht-Rezidivpatienten) unabhängig voneinander.

Vergleichsweise niedrige Serumkonzentrationen konnten für die Faktoren IGF-I und IGFBP-3 sowohl bei Rezidiv- als auch bei Nicht-Rezidivpatienten mit AML nachgewiesen werden. Kinder mit einem leukämisches Rezidiv zeigten deutlich niedrigere Konzentrationen. Signifikant niedrigere Werte konnten für das IGFBP-3 am 100.Tag nach KMT ($p=0,02$) gefunden werden. Wiederum scheint der 100. Tag nach KMT einen entscheidenden Wendepunkt darzustellen. 70% aller Rezidivpatienten wiesen am Tag 100 nach KMT eine IGFBP-3-Serumkonzentrationen unterhalb eines Wertes von -1 SDS auf. Dagegen konnte dieser Sachverhalt nur für 26% der Nicht-Rezidivpatienten gefunden werden (Tab.15). Der Chi-Quadrat-Test war mit $p=0,03$ signifikant. Auch bei den IGF-I-Werten waren Unterschiede zwischen Rezidiv- und Nicht-Rezidivpatienten erkennbar. Diese zeigten jedoch aufgrund der breiten Streuung der Einzelwerte eine zu große Überlappung der Serumkonzentrationen zwischen Rezidiv und Nicht-Rezidivpatienten, so dass mittels des Chi-Quadrat-Testes keine signifikanten Unabhängigkeiten der untersuchten Variablen festgestellt werden konnte. Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, dass aufgrund des weitgefassen Referenzbereichs der Faktoren IGF-I und IGFBP-3 eine Reihe von Patienten mit sehr niedrigen Serumkonzentrationen häufig noch im Normbereich zu finden waren.

Für das IGF-II konnten keine Differenzen zwischen Rezidiv- und Nicht-Rezidivpatienten aufgezeigt werden. Die nachfolgenden Tabellen 16 und 17 verdeutlicht die Unterschiede zwischen den untersuchten Serumkonzentrationen der Wachstumsfaktoren zu den entsprechenden Abnahmezeitpunkten.

Tab.16: Vierfeldertafel: IGFBP-2-SDS Werte: Anzahl der AML-Patienten am 100.Tag nach KMT

| | über 5 SDS | unter 5 SDS | Gesamt |
|-------------------|------------|-------------|--------|
| Rezidiv | 6 | 4 | 10 |
| Nicht- Rezidiv | 2 | 13 | 15 |
| Gesamt | 8 | 17 | 25 |

Tab.17: Vierfeldertafel: IGFBP-3-SDS Werte: Anzahl der AML-Patienten am 100.Tag nach KMT

| | unter -1 SDS | über -1 SDS | Gesamt |
|-------------------|--------------|-------------|--------|
| Rezidiv | 7 | 3 | 10 |
| Nicht- Rezidiv | 4 | 11 | 15 |
| Gesamt | 11 | 14 | 25 |

Im zeitlichen Verlauf wurden die spezifischen Veränderungen aller Faktoren im Bezug auf den Ausgangswert (v. KMT) untersucht. Während die IGFBP-2-Serumkonzentrationen der Rezidivpatienten kontinuierlich bis zum Rezidiv anstiegen, fielen diese bei Nicht-Rezidivpatienten nach dem 6.Monat kontinuierlich ab (Abb.27; Tab.18). Die IGF-I- und IGFBP-3-Werte ergaben ein gegensätzliches Bild. So fielen die Serumkonzentrationen der Rezidivpatienten bis zum Rezidiv kontinuierlich ab. Die Nicht-Rezidivpatienten erreichten nach einem zwischenzeitlichen Abfall um den 18. Monat wieder ihren Ausgangswert. Das IGF-II zeigte wiederum keine Differenzen zum Ausgangswert. Die SDS-Werte der einzelnen Faktoren sind im zeitlichen Verlauf sowohl von Rezidiv- als auch von Nicht-Rezidivpatienten in nachfolgender Tabelle dargestellt.

Tab.18: Vergleich der SDS-Werte im Median bei AML-Patienten mit Rezidiv / ohne Rezidiv

| Rezidiv | v.KMT | 30. Tag | 60. Tag | 100. Tag | 6. Monat | Rezidiv | |
|---------------------------|-------|---------|---------|---------------------|----------|-----------|----------|
| IGF-I | -0,06 | -0,65 | -0,96 | <u>-1,06</u> | -1,05 | -1,02 | |
| IGF-II | -0,35 | -0,55 | -0,08 | 0,37 | -0,67 | -0,05 | |
| IGFBP-2 | 3,68 | 4,44 | 5,74 | <u>7,18</u> | 9,70 | 6,37 | |
| IGFBP-3 | -1,13 | -1,03 | -1,30 | <u>-1,42</u> | -1,38 | -1,45 | |
| Nicht- Rezidiv | v.KMT | 30. Tag | 60. Tag | 100. Tag | 6. Monat | 12. Monat | 18.Monat |
| IGF-I | 0,45 | -0,38 | -0,70 | <u>-0,28</u> | -0,95 | -0,25 | 0,40 |
| IGF-II | 0,33 | -0,23 | -0,46 | 0,02 | -0,04 | 0,28 | 0,77 |
| IGFBP-2 | 1,57 | 1,79 | 2,77 | <u>3,99</u> | 4,57 | 2,50 | 1,66 |
| IGFBP-3 | -0,55 | -0,38 | -0,80 | <u>-0,56</u> | -0,71 | -0,49 | -0,67 |

Für die spätere Diskussion sei darauf hingewiesen, dass die Rezidivpatienten mit AML bereits zum Zeitpunkt vor der KMT im Median deutlich über dem Normbereich von +2 SDS lagen. Ein hoch signifikanter Anstieg konnte hier ab dem 60. Tag bis zum Rezidiv nachgewiesen werden. Auch die Patienten, die rezidivfrei blieben, lagen vom 60. Tag bis zum 6. Monat mit ihren IGFBP-2-Werten signifikant über dem Referenzbereich gesunder Kontrollkinder. Nach dem 6. Monat erreichten diese jedoch den Normbereich wieder. In der nachfolgenden Tabelle sind die p-Werte des IGFBP-2 für die Abweichung von ± 2 SDS dargestellt.

Tab.19: Abweichung des IGFBP-2 von 2 (SDS) zu verschiedenen Zeitpunkten. Dargestellt sind die p-Werte der Paardifferenzen des Wilcoxon-Testes

| | v.KMT | 30T | 60T | 100T | 6Mo | Rez. | 12Mo | 18Mo |
|------------------------------------|-------|------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------|------|
| IGFBP-2 Rezidiv | 0,13 | 0,12 | <u>0,008</u> | <u>0,007</u> | <u>0,05</u> | <u>0,009</u> | --- | --- |
| IGFBP-2 Nicht- Rez. | 0,69 | 0,93 | 0,06 | <u>0,001</u> | <u>0,009</u> | --- | 0,26 | 0,75 |

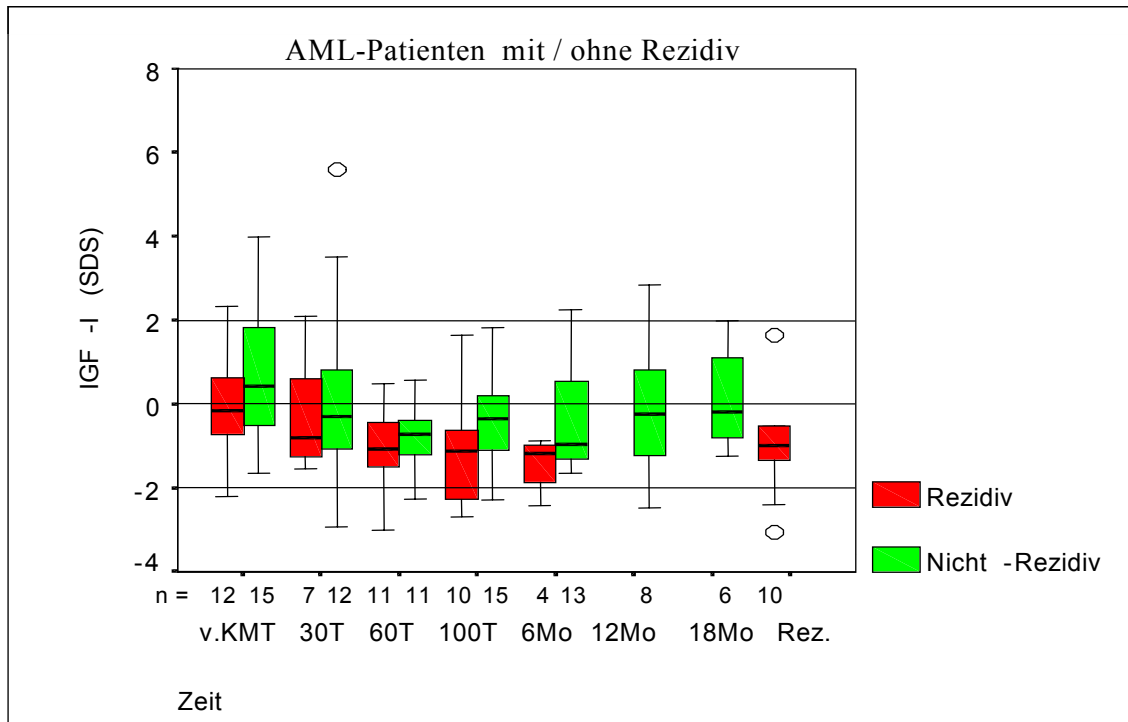


Abb.25: Die IGF-I Serumkonzentrationen (in SDS) der **AML**-Patienten im zeitlichen Verlauf bei Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten. Die Linien stellen den Referenzbereich gesunder Kontrollkinder ($\pm 2SD$) dar.

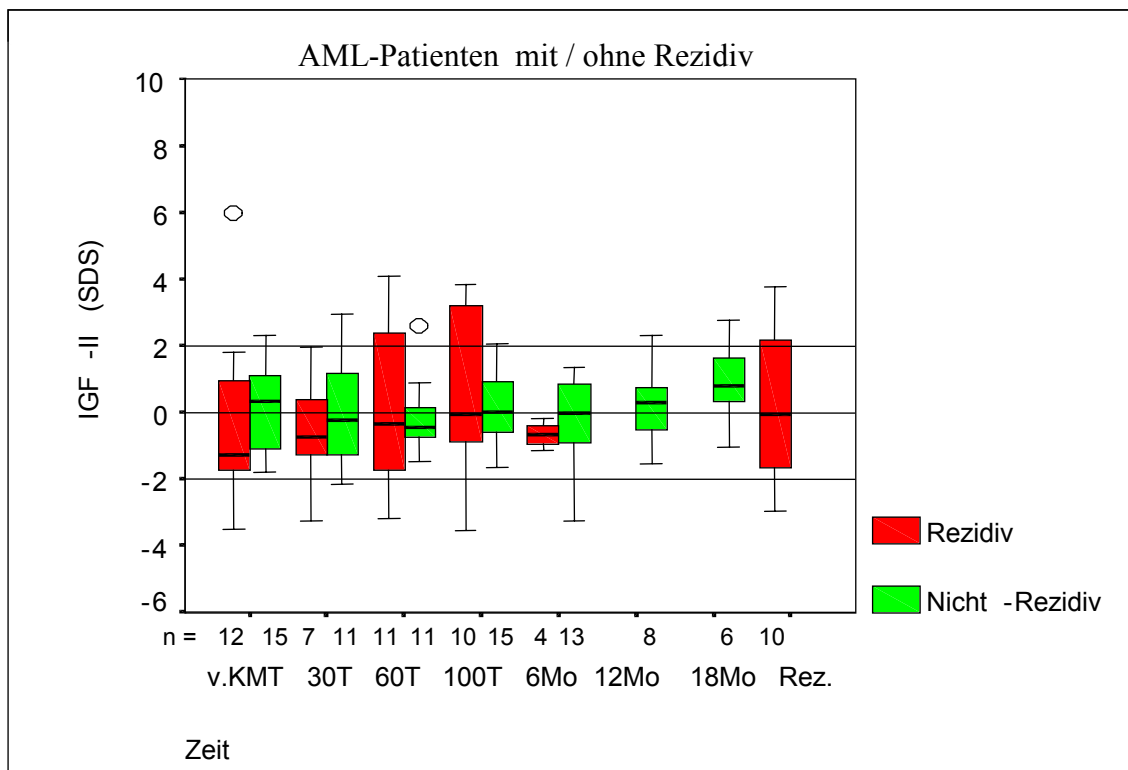


Abb.26: Die IGF-II Serumkonzentrationen (in SDS) der **AML**-Patienten im zeitlichen Verlauf bei Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten. Die Linien stellen den Referenzbereich gesunder Kontrollkinder ($\pm 2SD$) dar.

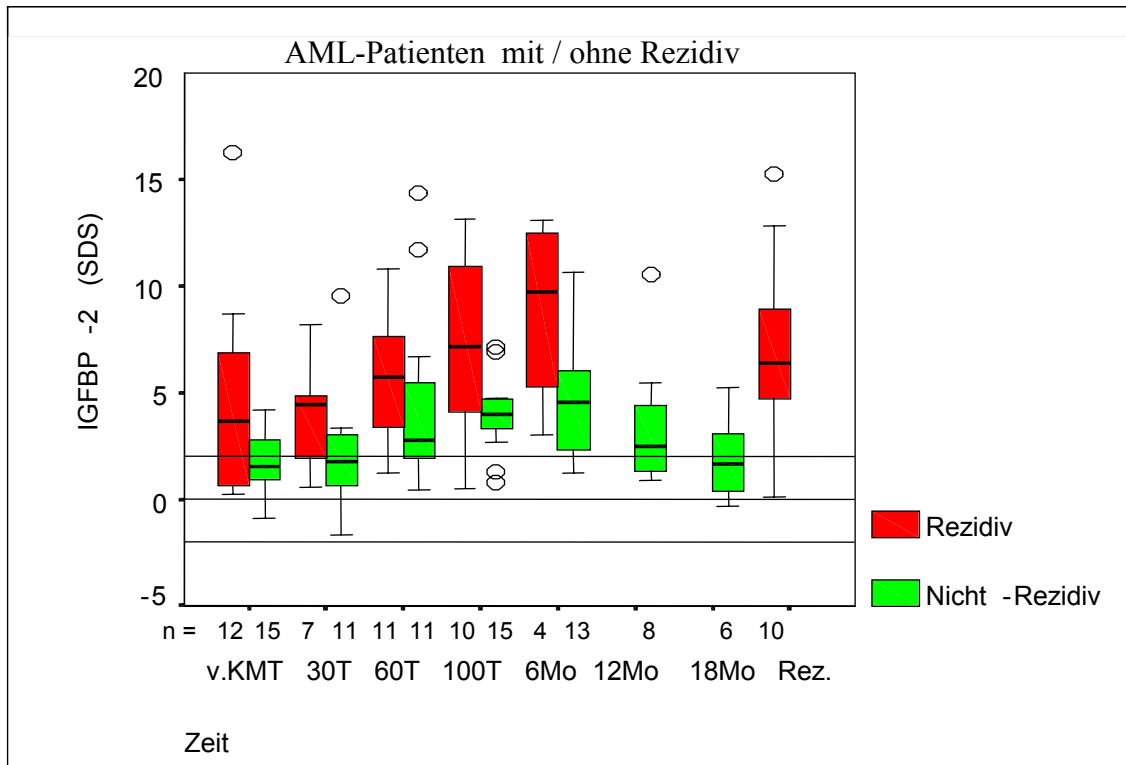


Abb.27: Die IGFBP-2 Serumkonzentrationen (in SDS) der **AML**-Patienten im zeitlichen Verlauf bei Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten. Die Linien stellen den Referenzbereich gesunder Kontrollkinder ($\pm 2SD$) dar.

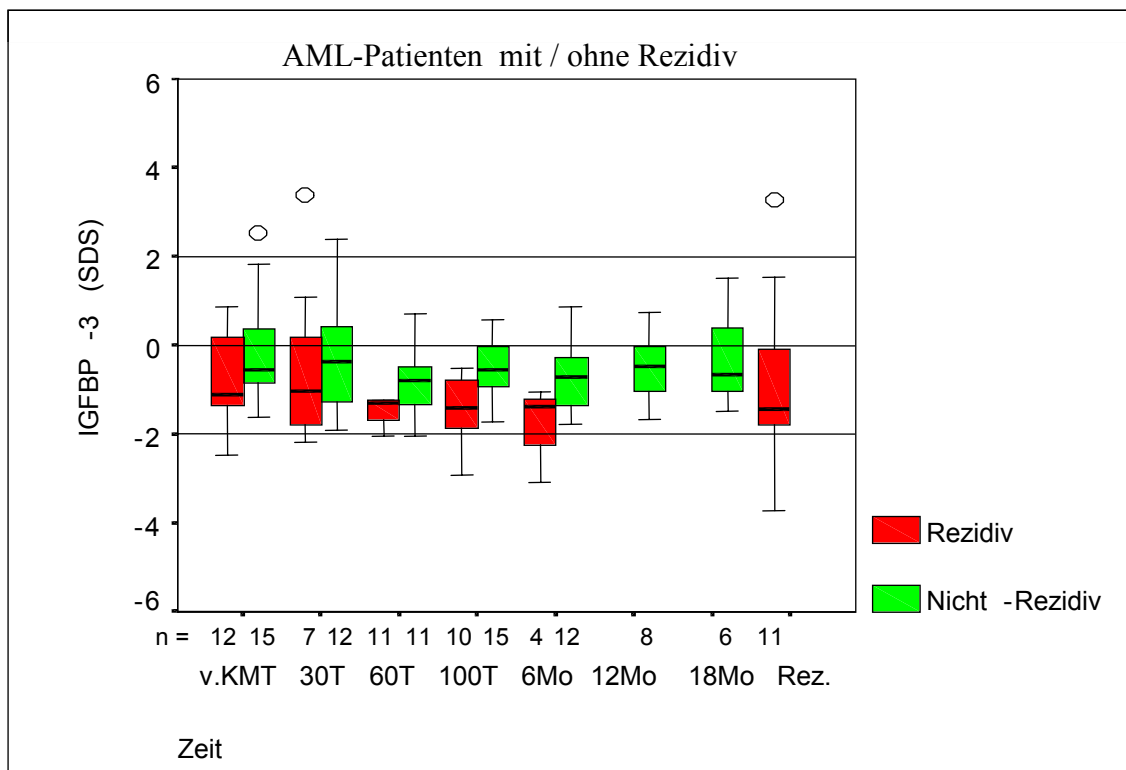


Abb.28: Die IGFBP-3 Serumkonzentrationen (in SDS) der **AML**-Patienten im zeitlichen Verlauf bei Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten. Die Linien stellen den Referenzbereich gesunder Kontrollkinder ($\pm 2SD$) dar.

4.2.2.4 Vergleich Rezidiv- und Nicht-Rezidivpatienten mit ALL

Rezidiv- und Nicht-Rezidivpatienten mit einer ALL wiesen im Gegensatz zu AML-Patienten einen geringeren Unterschied zwischen den Serumkonzentrationen der untersuchten insulinähnlichen Wachstumsfaktoren auf. Für die Faktoren IGF-I, IGF-II und IGFBP-3 konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Rezidiv- und Nicht-Rezidivpatienten gefunden werden. Im zeitlichen Verlauf, vom Ausgangswert bis hin zum 6. Monat, war für das IGF-I und das IGFBP-3 ein geringer Abfall der Serumkonzentrationen nachweisbar. Die niedrigsten Konzentrationen wurden um den 6. Monat erreicht und waren im unteren Referenzbereich gesunder Kontrollkinder zu finden. Eine signifikante Abweichung zum Ausgangswert konnte unter Berücksichtigung der geringen Fallzahl zu diesen Zeitpunkten nicht aufgezeigt werden. ALL-Patienten, die über den gesamten Beobachtungszeitraum kein Rezidiv entwickelten, erreichten bis zum 18. Monat nach KMT wieder ihren Ausgangswert. Anders verhielten sich die Serumkonzentrationen des IGFBP-2. Ähnlich wie die zuvor beschriebenen Ergebnisse der AML-Patienten, zeigten auch die Patienten mit einer ALL, IGFBP-2-Konzentrationen die bereits zum Zeitpunkt der KMT deutlich über dem Normbereich lagen. Die Serumkonzentrationen des IGFBP-2 stiegen sowohl bei Rezidiv als auch bei Nicht-Rezidivpatienten bis zum 100. Tag nach KMT kontinuierlich an. Patienten die in kontinuierlicher Remission blieben erreichten bis zum 18. Monat nach KMT nahezu ihren Ausgangswert. Dagegen wiesen Rezidivpatienten mit dem Auftreten eines Rezidivs die höchsten IGFBP-2-Werte auf. Mit einem Median von +4,82 SDS lagen Serumkonzentrationen des IGFBP-2 zu diesem Zeitpunkt deutlich über dem Normbereich von +2 SDS. Dieser Unterschied war mit $p=0,04$ statistisch signifikant.

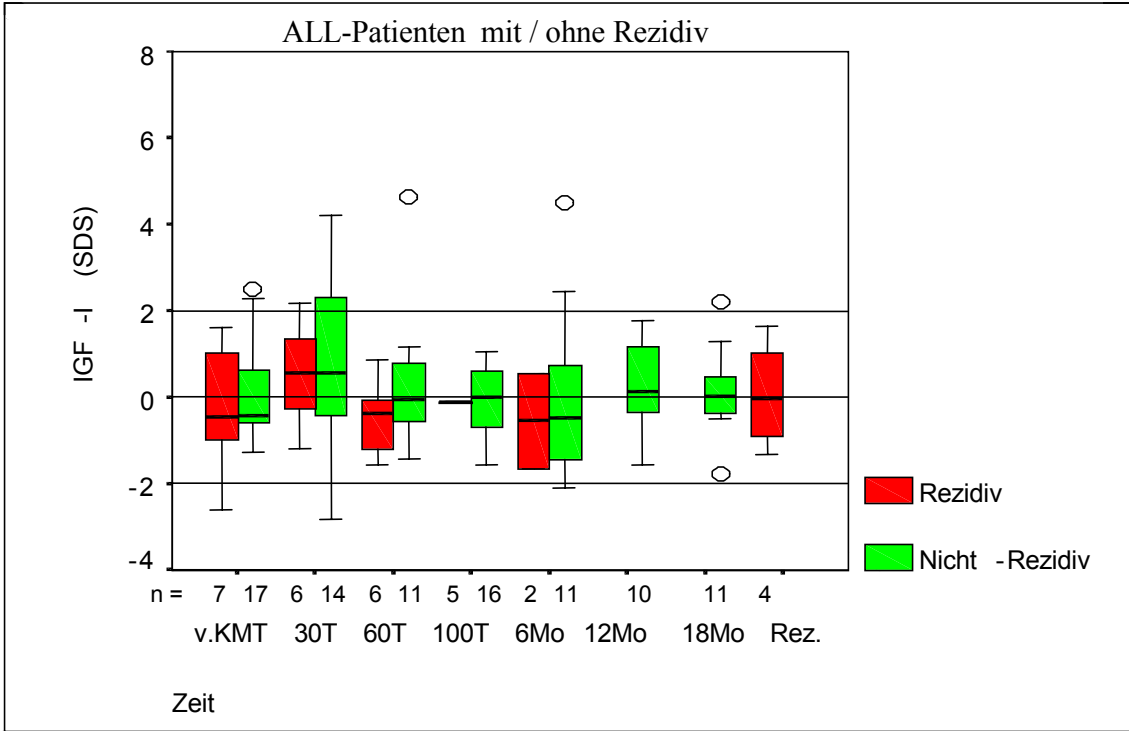


Abb.29: Die IGF-I Serumkonzentrationen (in SDS) der ALL-Patienten im zeitlichen Verlauf bei Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten. Die Linien stellen den Referenzbereich gesunder Kontrollkinder ($\pm 2SD$) dar.

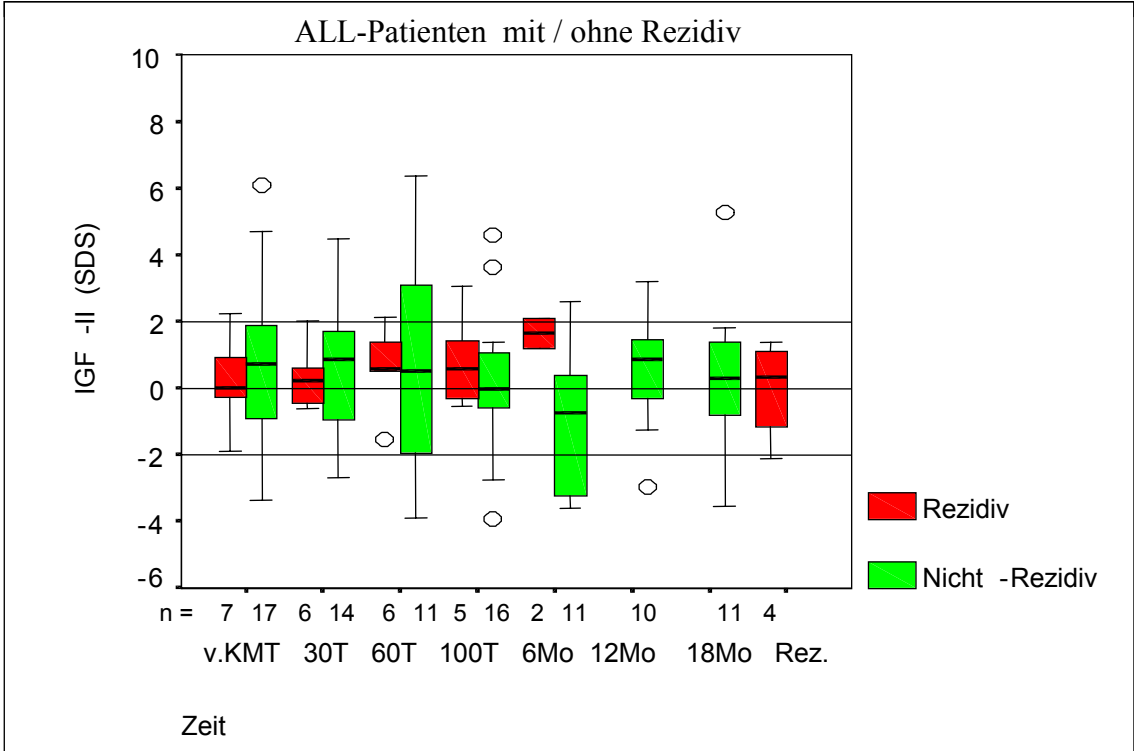


Abb.30: Die IGF-II Serumkonzentrationen (in SDS) der ALL-Patienten im zeitlichen Verlauf bei Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten. Die Linien stellen den Referenzbereich gesunder Kontrollkinder ($\pm 2SD$) dar.

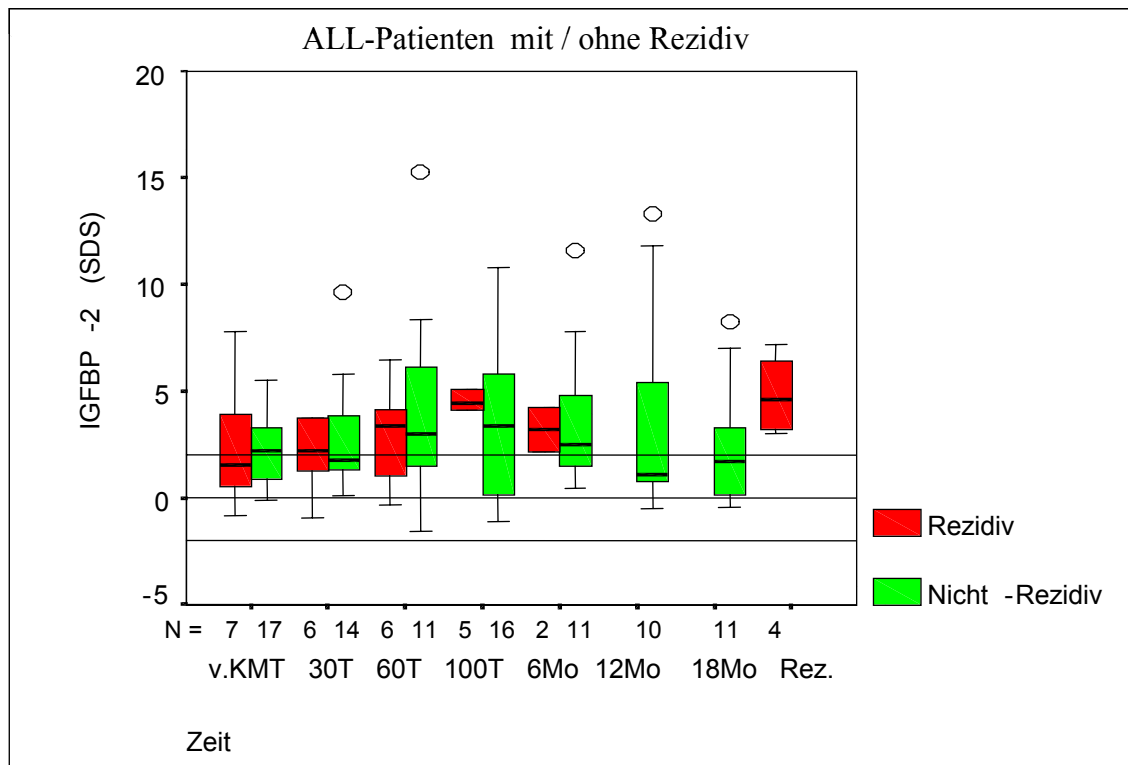


Abb.31: Die IGFBP-2 Serumkonzentrationen (in SDS) der **ALL**-Patienten im zeitlichen Verlauf bei Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten. Die Linien stellen den Referenzbereich gesunder Kontrollkinder ($\pm 2SD$) dar.

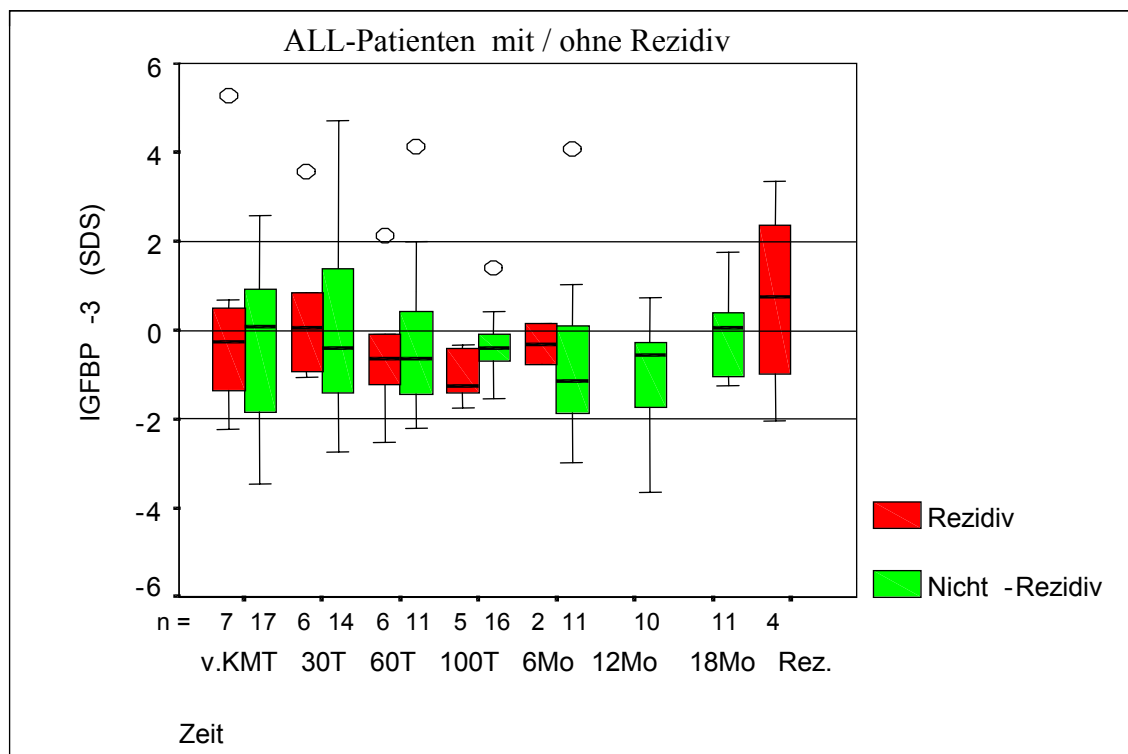


Abb.32: Die IGFBP-3 Serumkonzentrationen (in SDS) der **ALL**-Patienten im zeitlichen Verlauf bei Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten. Die Linien stellen den Referenzbereich gesunder Kontrollkinder ($\pm 2SD$) dar.

4.2.3 Korrelationen der IGF-Faktoren und deren Bindungsproteine

4.2.3.1 Untersuchung zum Zeitpunkt vor der KMT (Ausgangswert)

Um eine Regulation bzw. eine gegenseitige Beeinflussung der einzelnen Faktoren aufzuzeigen, wurden die nachfolgenden Korrelationsanalysen durchgeführt. Der Zusammenhang zwischen den Wachstumsfaktoren und den Bindungsproteinen wurde exemplarisch zum Ausgangszeitpunkt (v. KMT) dargestellt. Für alle weiteren Zeitpunkte der longitudinalen Untersuchung konnten ähnliche Ergebnisse ermittelt werden. Für die graphische Darstellung wurden die SDS-Werte der jeweiligen Faktoren verwendet.

Zwischen dem IGF-I und IGF-II konnte ein hoch signifikanter Zusammenhang gefunden werden. Auch bei der Betrachtung der einzelnen Diagnosen war dieser Zusammenhang nachweisbar.

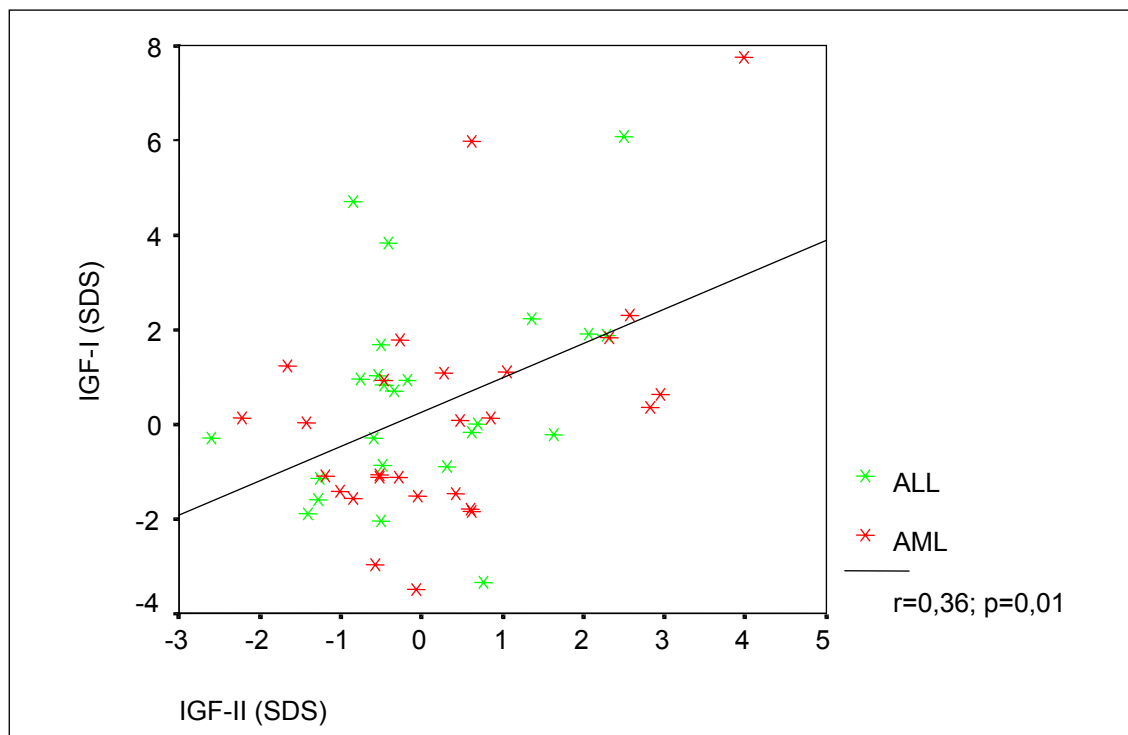


Abb.33: Zusammenhang der Serumkonzentrationen von IGF-I und IGF-II der KMT-Gruppe.

Weiterhin konnten mit Hilfe der Korrelationsanalyse nach Spearman zwischen IGF-I und den Bindungsproteinen-3 sowie zwischen IGF-II und den Bindungsprotein-3 hoch signifikante Korrelationen aufgezeigt werden. Niedrige IGF-I und IGF-II-Werte waren mit niedrigen IGFBP-3-Werten assoziiert. Dies konnte auch bei der alleinigen Betrachtung der AML und ALL nachgewiesen werden.

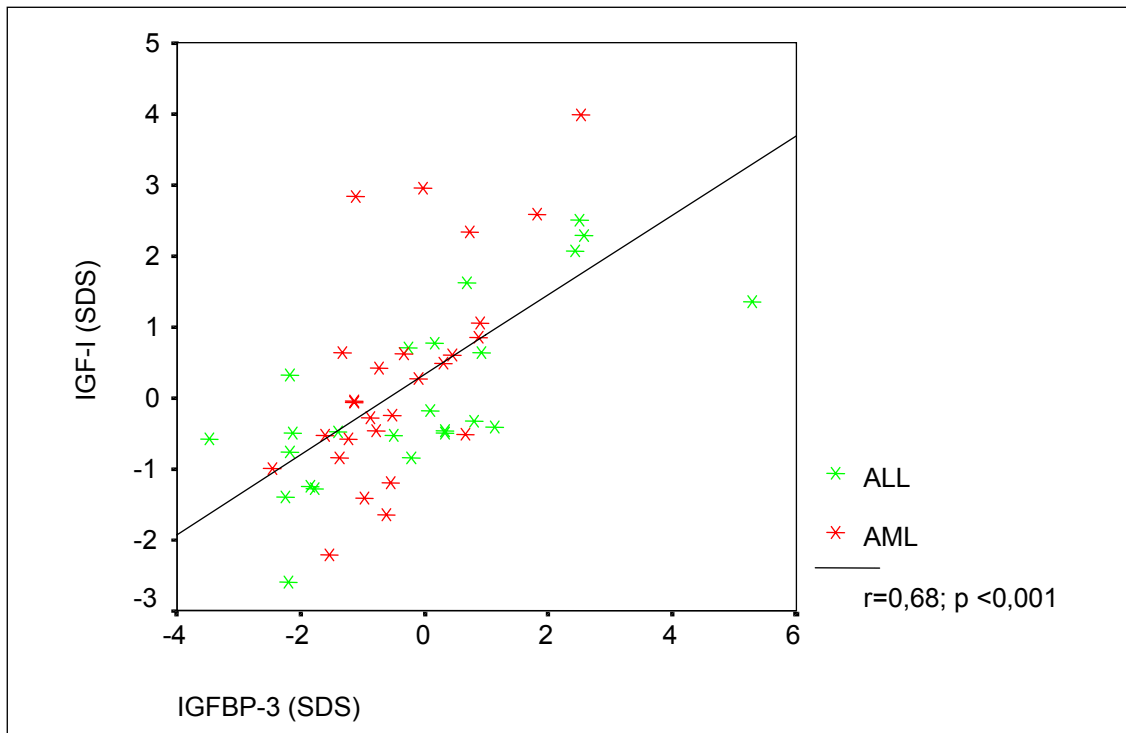


Abb.34: Zusammenhang der Serumkonzentrationen von IGF-I und IGFBP-3 der KMT-Gruppe

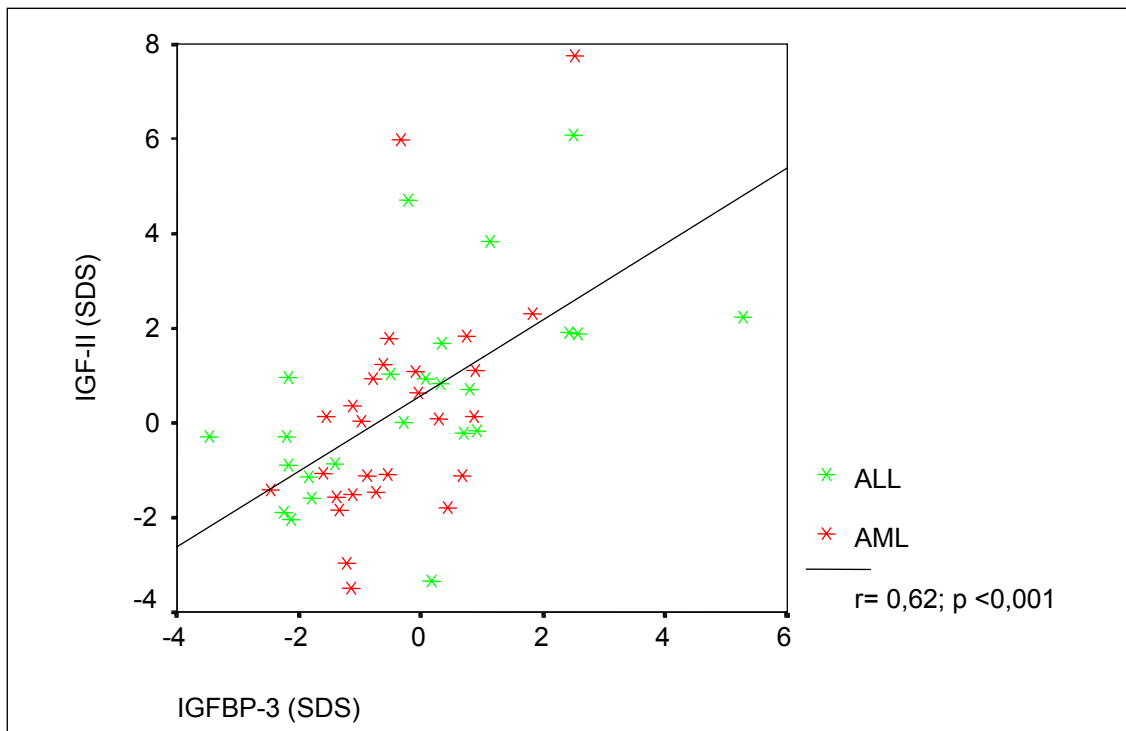


Abb.35: Zusammenhang der Serumkonzentrationen von IGF-II und IGFBP-3 der KMT-Gruppe

Im Gegensatz dazu konnte zwischen dem IGF-I und den IGFBP-2 sowie zwischen IGF-II und dem IGFBP-2 eine negative Korrelation gefunden werden. Dieser Zusammenhang war in beiden Fällen signifikant. Dabei konnten niedrigen IGF-I-Werten bzw. IGF-II-Werten überwiegend hohe IGFBP-2-Werte zugeordnet werden. In der Abbildung 36 ist die Korrelation zwischen IGF-I und IGFBP-2 beispielhaft dargestellt. Die beschriebenen Zusammenhänge gelten sowohl für Patienten mit AML als auch für Patienten mit ALL. Diese Zusammenhänge konnten über den gesamten Beobachtungszeitraum gefunden werden.

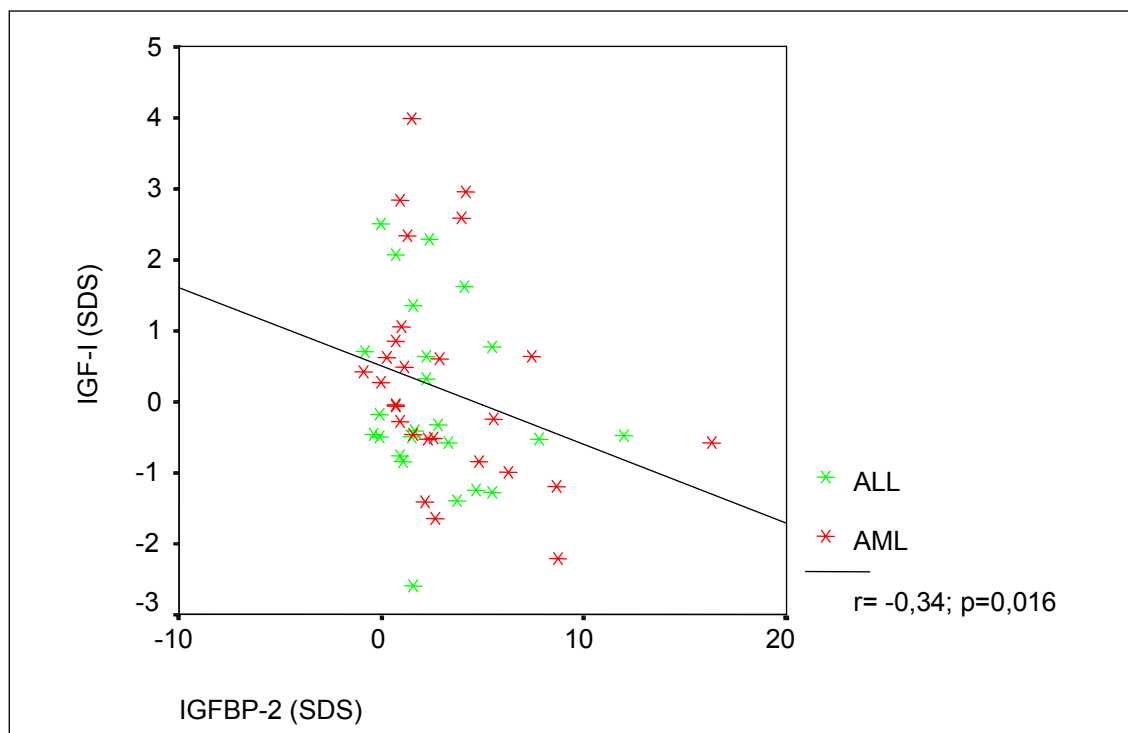


Abb.36: Zusammenhang der Serumkonzentrationen von IGF-I und IGFBP-2 der KMT-Gruppe

4.3 Patienten mit akuten Infektionserkrankungen

4.3.1 Altersgrafik-Darstellung der Einzelwerte

In dieser Gruppe wurden 26 Patienten mit akuten Infektionserkrankungen auf ihre insulinähnlichen Wachstumsfaktoren (IGF-I,-II sowie IGFBP-2,-3) hin untersucht. Davon waren 12 Patienten an einer viralen und 14 Patienten an einer bakteriellen Infektion erkrankt. Bei diesen Kindern lag keine maligne Erkrankung vor. Das mittlere Alter dieser Gruppe betrug 5,1 Jahre. In den folgenden Abbildungen (37-43) sind die absoluten Serumkonzentrationen der Faktoren zu Zeitpunkt der stationären Aufnahme im Bezug zum Alter dargestellt. Die Linien in den folgenden Graphiken stellen die 5., 50. und 95. Perzentile gesunder Kinder dar. Unter Berücksichtigung der geschlechtsspezifischen Unterschiede von IGF-I und IGFBP-3 erfolgte eine Differenzierung zwischen männlichen und weiblichen Patienten.

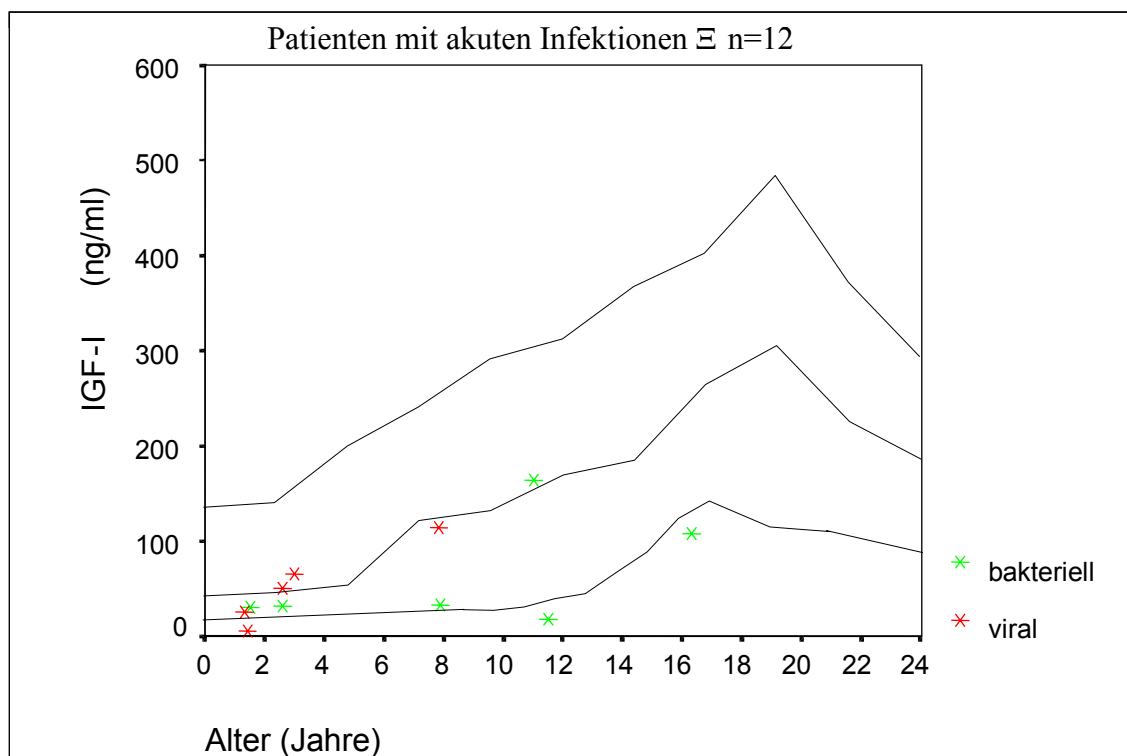


Abb.37: Serumkonzentrationen von IGF-I in Abhängigkeit zum Alter (Infektionspatienten; männliche Patienten). Die Linien stellen die 5., 50. und 95. Perzentile der gesunden Kontrollen dar.

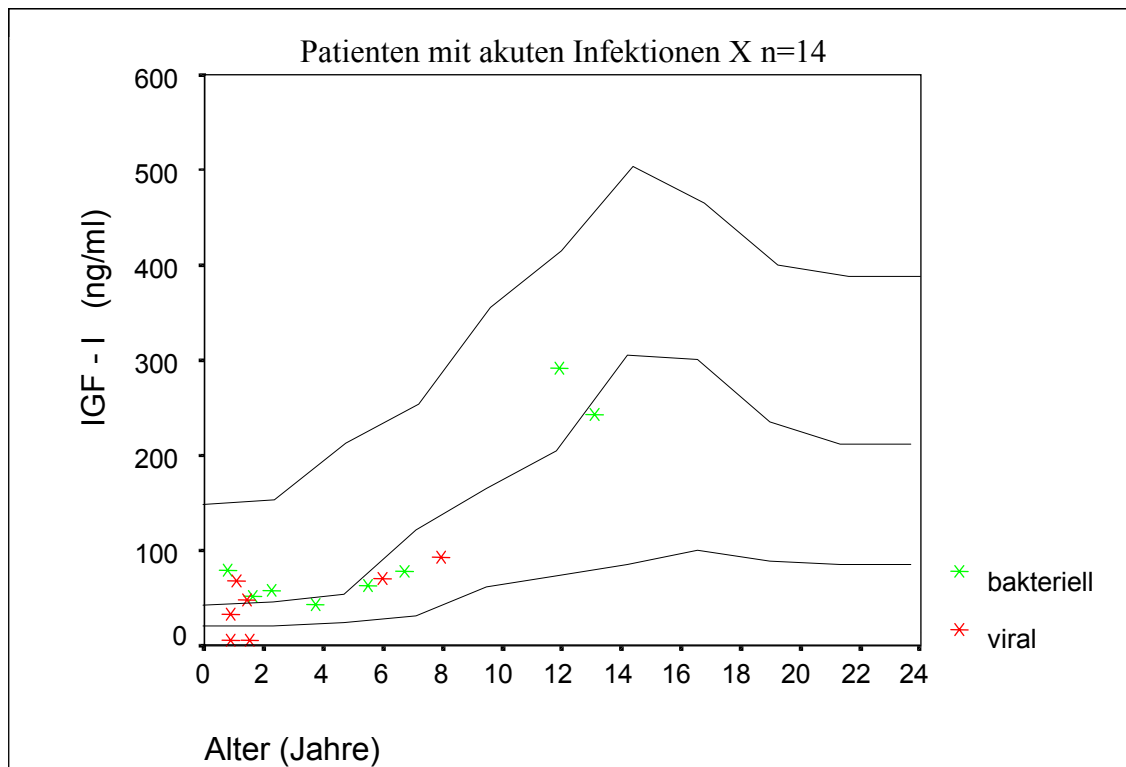


Abb.38: Serumkonzentrationen von IGF-I in Abhängigkeit vom Alter (Infektionspatienten; weibliche Patienten). Die Linien stellen die 5., 50. und 95. Perzentile der gesunden Kontrollen dar.

Die IGF-I-Serumkonzentrationen der männlichen und weiblichen Patienten konnten im wesentlichen unterhalb des Medians nachgewiesen werden. 25% der Patienten mit viralen Infektionen und 15% mit bakteriellen Infektionen lagen unterhalb des Normbereichs. Ein signifikanter Unterschied zwischen Infektionen viraler bzw. bakterieller Genese konnte nicht gefunden werden. Die Serumkonzentrationen zeigten zwischen Jungen und Mädchen sowie in der Altersverteilung keine Differenzen.

Die IGF-II-Serumkonzentrationen der Patienten mit viralen Infektionen streuten über den gesamten Normbereich. Es konnten Werte oberhalb und unterhalb des Referenzbereichs gesunder Kontrollkinder bestimmt werden. Dagegen lagen die Serumkonzentrationen bei Patienten mit bakteriellen Infektionen im mittleren und unteren Normbereich. Die Verteilung von Alter und Geschlecht zeigte keine Unterschiede.

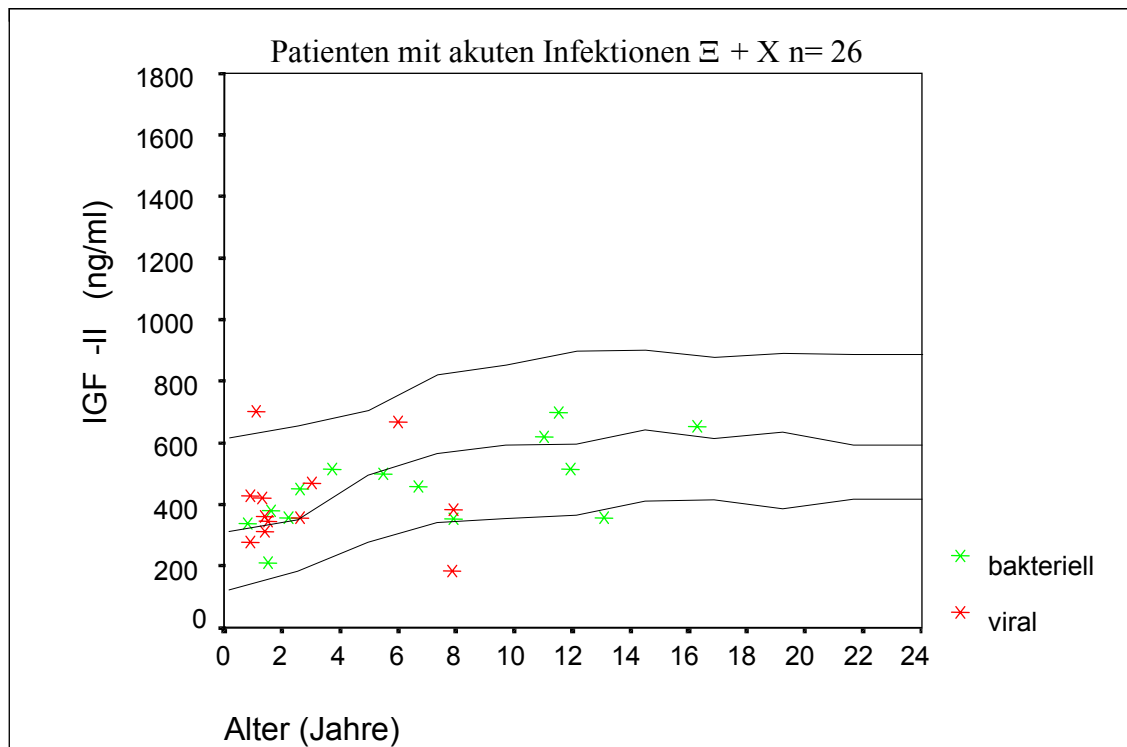


Abb.39: Serumkonzentrationen von IGF-II in Abhängigkeit vom Alter (Infektionspatienten). Die Linien stellen die 5., 50. und 95. Perzentile der gesunden Kontrollen dar.

Die IGFBP-2-Serumkonzentrationen der Infektionspatienten zeigten ein ähnliches Verteilungsbild wie die Patienten der KMT- und Manifestationsgruppe. Sowohl bei Patienten mit viralen als auch bei Patienten mit bakteriellen Infektionen konnten Konzentrationen über dem Normbereich nachgewiesen werden. Dabei lagen 33% der Patienten mit Virusinfektion und 24% mit bakteriellen Infektionen über der 95. Perzentile. Nur wenige Patienten lagen unterhalb des Medianes und kein Patient wies IGFBP-2-Werte unterhalb der Norm auf. Unterschiede in der Altersverteilung sowie geschlechtsspezifische Unterschiede konnten nicht aufgezeigt werden.

Im Gegensatz zum IGFBP-2 waren die IGFBP-3-Werte der männlichen und weiblichen Patienten im mittleren und unteren Referenzbereich gesunder Kontrollkinder zu finden. Nur bei einem Patienten mit einer viralen Infektion konnte das IGFBP-3 oberhalb der 95. Perzentile bestimmt werden. Einige Patienten lagen mit ihren IGFBP-3-Werten unter der 5. Perzentile. Unterschiede zwischen Alter und Geschlecht sowie zwischen den Krankheitserregern konnten nicht gefunden werden.

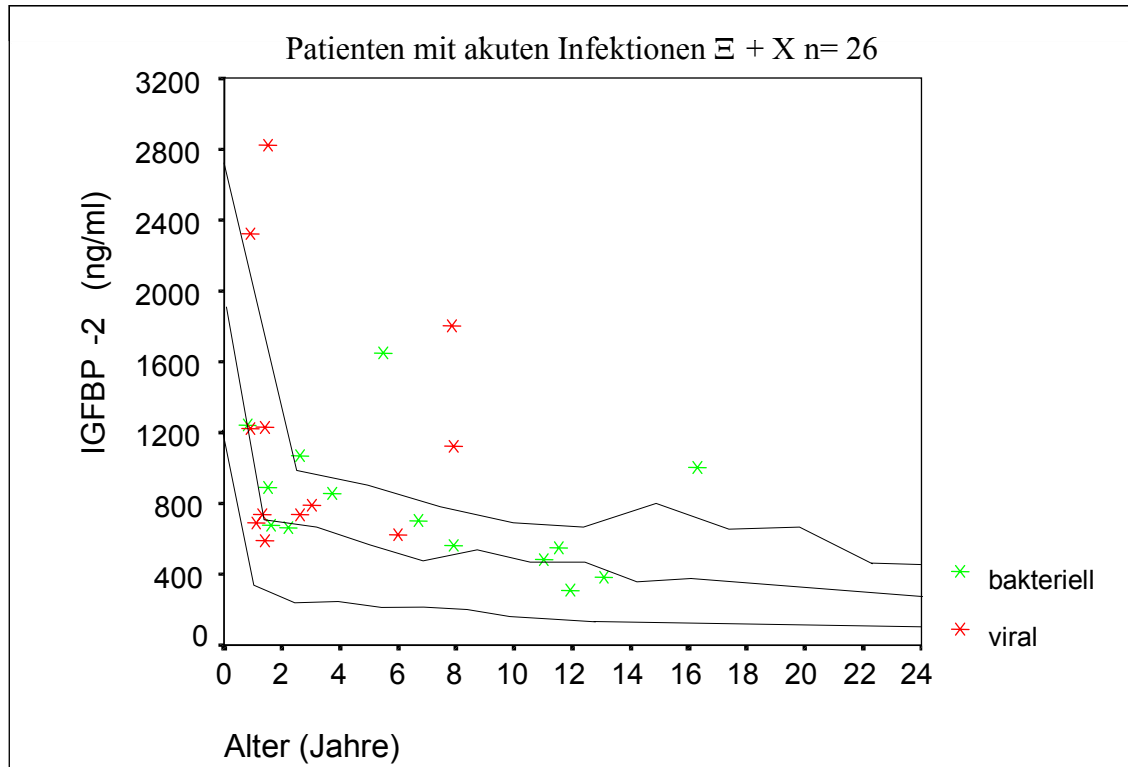


Abb.40: Serumkonzentrationen von IGFBP-2 in Abhängigkeit vom Alter (Infektionspatienten). Die Linien stellen die 5., 50. und 95. Perzentile der gesunden Kontrollen dar.

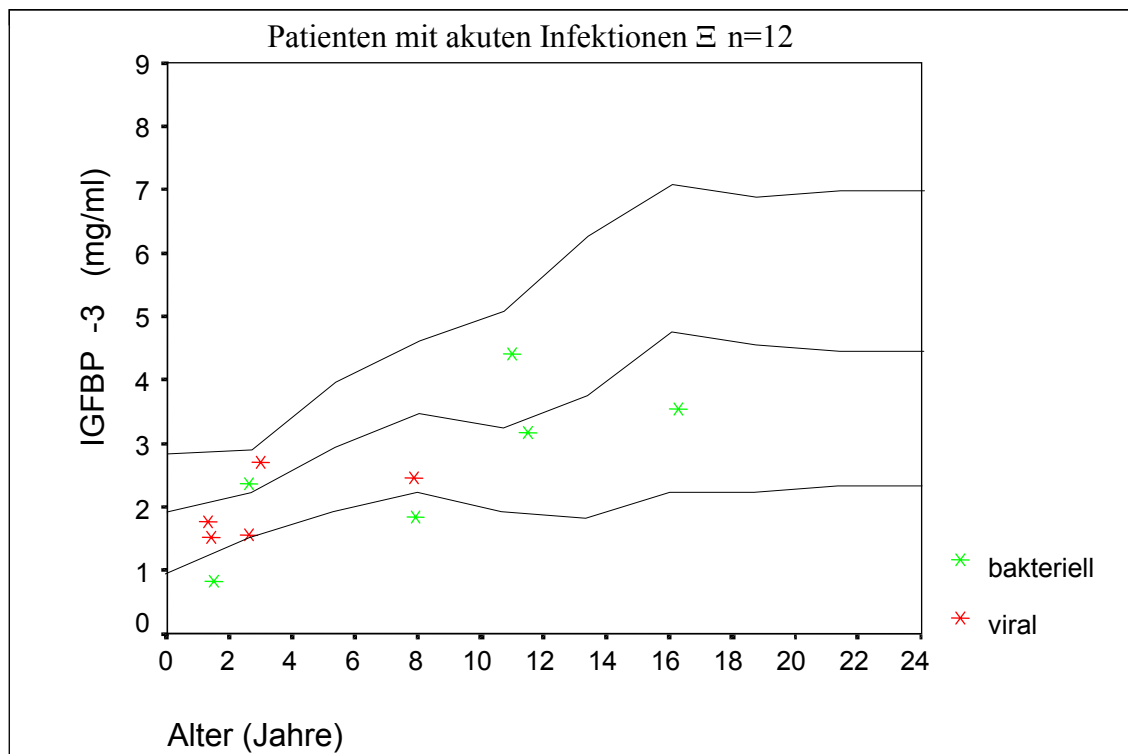


Abb.41: Serumkonzentrationen von IGFBP-3 in Abhängigkeit vom Alter (Infektionspatienten; männliche Patienten). Die Linien stellen die 5., 50. und 95. Perzentile der gesunden Kontrollen dar.

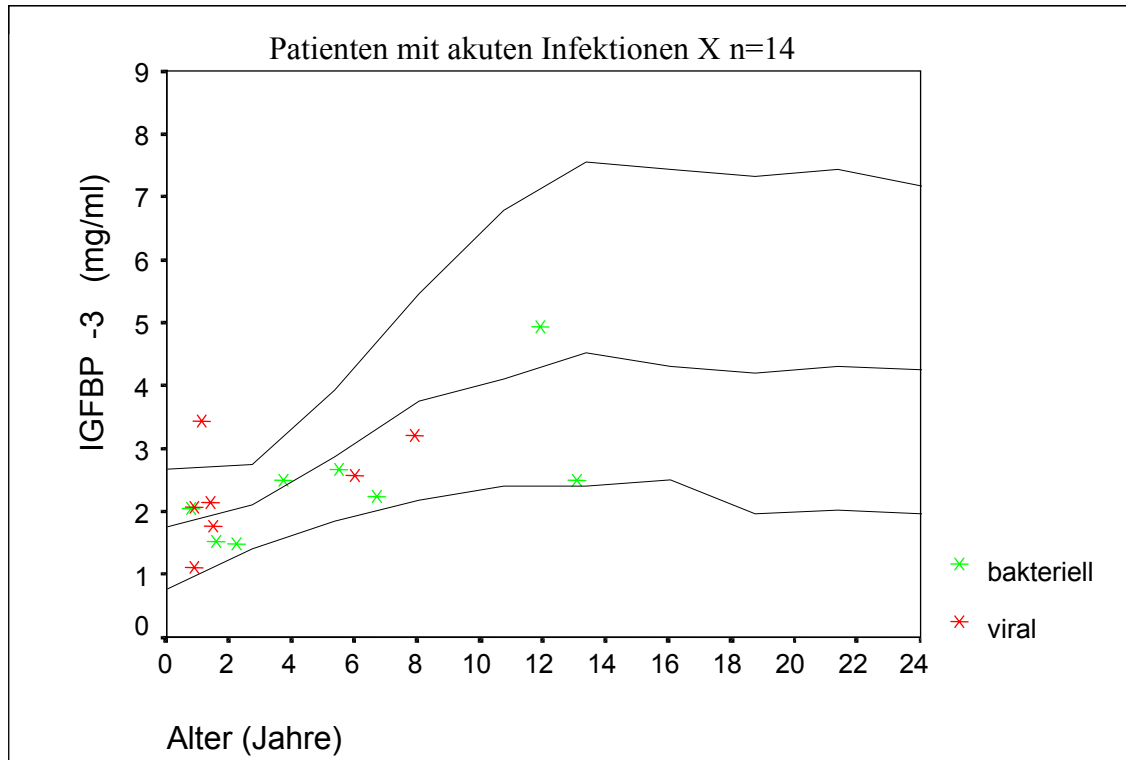


Abb.42: Serumkonzentrationen von IGFBP-3 in Abhängigkeit vom Alter (Infektionspatienten; weibliche Patienten). Die Linien stellen die 5., 50. und 95. Perzentile der gesunden Kontrollen dar.

4.3.2 SDS-Darstellungen der Infektionspatienten

Die absoluten Serumkonzentrationen der Wachstumsfaktoren (IGF-I,-II) und deren Bindungsproteine (IGFBP-2,-3) wurden in die altersunabhängigen SDS-Werte umgewandelt und in den folgenden Abbildungen 43 bis 46 dargestellt. Die Blutentnahme erfolgte zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme. Die viralen Infektionen setzten sich aus Rotaviren und Varicella-zoster Viren (VZV) zusammen, während die bakteriellen Infektionen Salmonellen und Streptokokken einschlossen.

Der Referenzbereich gesunder Kontrollkinder wurde mit Hilfe von Linien gekennzeichnet. Er entspricht dem Median (Nulllinie) und der zweifachpositiven und zweifachnegativen Standardabweichung (± 2 SD) des Normwertes der entsprechenden Altersgruppe. Für die Auswertung wurde sowohl die Abweichung vom Normbereich als auch die einzelnen Erkrankungen miteinander verglichen.

Die Faktoren IGF-I, IGF-II und IGFBP-3 der Infektionspatienten zeigten ähnliche Veränderungen wie bei Kindern mit malignen Erkrankungen. Die Serumkonzentrationen dieser Faktoren lagen sowohl bei viralen als auch bei bakteriellen Infektionen im mittleren bis unteren Normbereich. Die Rotaviren zeigten im Vergleich zu den VZV signifikant niedrigere IGF-I und IGFBP-3-Werte ($p=0,04$; $p=0,02$).

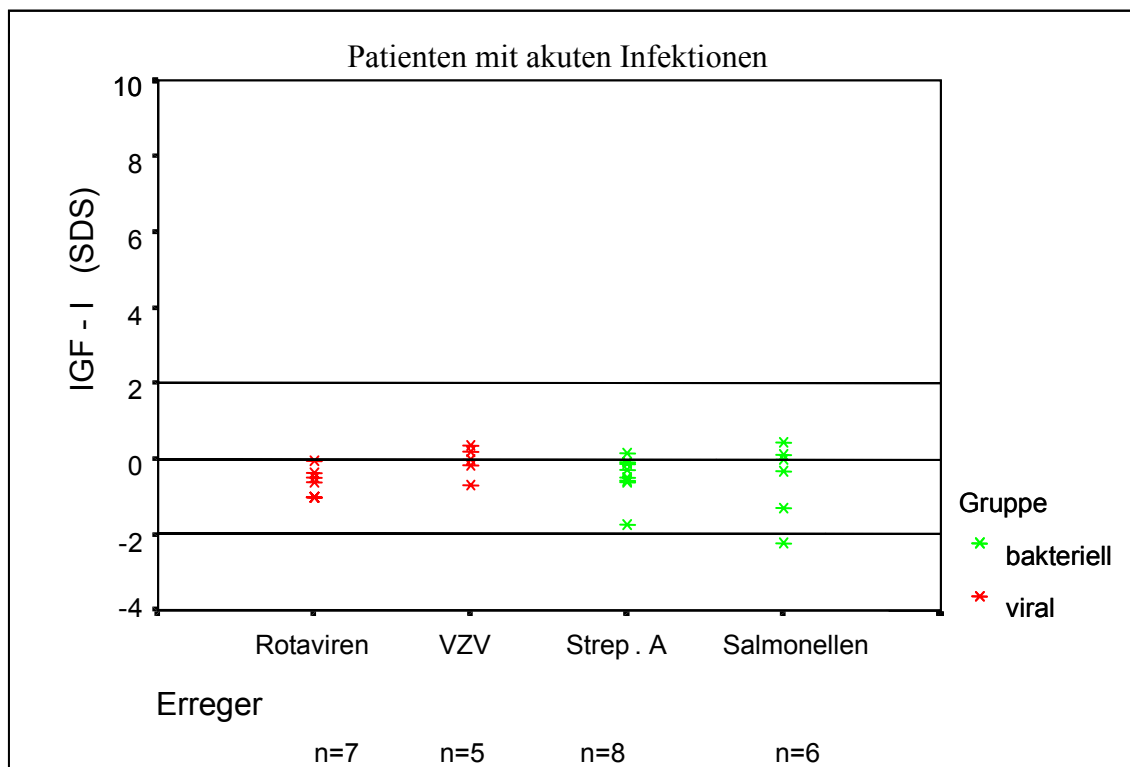


Abb.43: IGF-I-Serumkonzentrationen (in SDS) von Patienten mit Infektionserkrankungen. Linien stellen den Referenzbereich gesunder Kontrollkinder dar (± 2 SD).

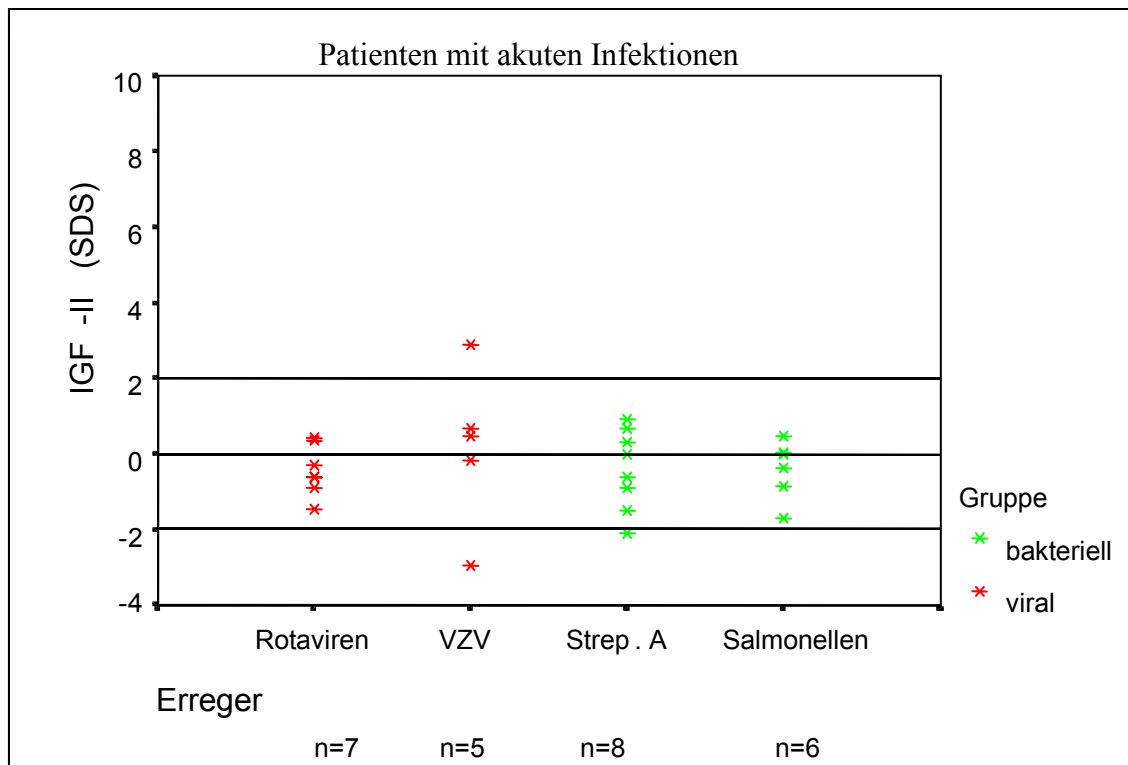


Abb.44: IGF-II-Serumkonzentrationen (in SDS) von Patienten mit Infektionserkrankungen. Linien stellen den Referenzbereich gesunder Kontrollkinder dar (± 2 SD).

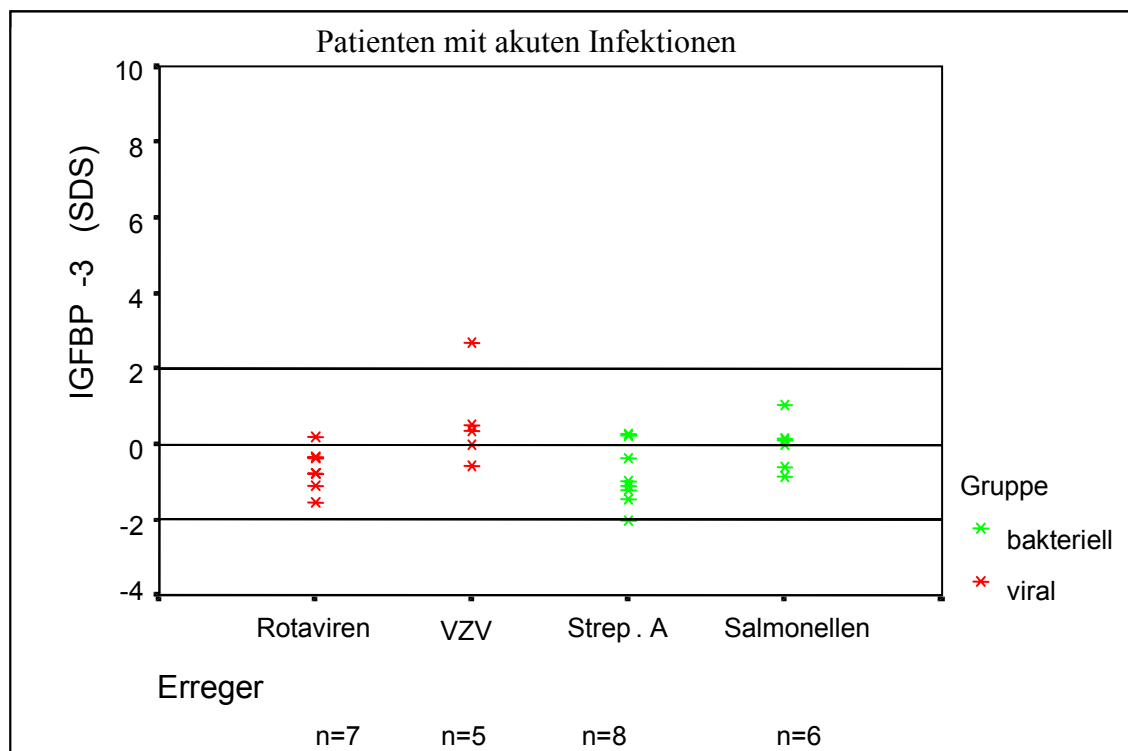


Abb.45: IGFBP-3-Serumkonzentrationen (in SDS) von Patienten mit Infektionserkrankungen. Linien stellen den Referenzbereich gesunder Kontrollkinder dar (± 2 SD).

Im Gegensatz zu den bereits erwähnten insulinähnlichen Wachstumsfaktoren (IGF-I,-II und IGFBP-3) wiesen einige Patienten beim IGFBP-2, Serumkonzentrationen deutlich oberhalb des Normbereichs auf. Dies konnte sowohl für virale als auch für bakterielle Infektionen gezeigt werden. Die Patienten die an Rotaviren und Salmonellen erkrankt waren, lagen mit ihren die IGFBP-2-Mittelwerten deutlich über dem Referenzbereich gesunder Kontrollkinder von +2 SDS. Unter Berücksichtigung der geringen Fallzahl konnte eine statistisch signifikante Abweichung vom Normbereich nicht gezeigt werden. Kein Patient lag mit seinen IGFBP-2-Werten unterhalb des Referenzbereichs von -2 SDS. Signifikante Unterschiede im Vergleich der Erreger untereinander waren nicht nachzuweisen.

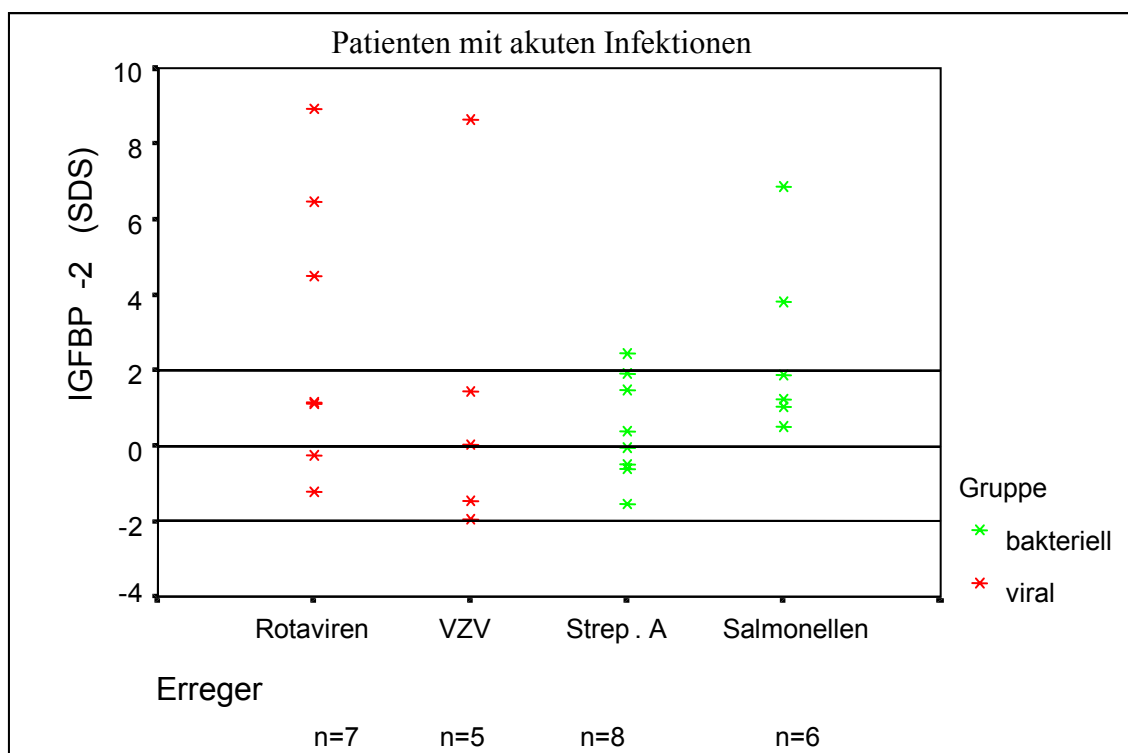


Abb.46: IGFBP-2-Serumkonzentrationen (in SDS) von Patienten mit Infektionserkrankungen. Linien stellen den Referenzbereich gesunder Kontrollkinder dar (± 2 SD).

Tab.20: IGFBP-2-SDS-Werte der Infektionspatienten

| | Rotaviren n=7 | VZV n=5 | Strep. A n=8 | Salmonellen n=6 |
|-------------------|-------------------------|-------------------|------------------------|---------------------------|
| Mittelwert | 2,95 | 1,33 | 0,43 | 2,54 |
| Median | 1,16 | 0,02 | 0,15 | 1,55 |
| Minimum | -1,24 | -1,94 | -1,53 | 0,49 |
| Maximum | 8,91 | 8,64 | 2,43 | 6,85 |

5. Diskussion

Die wachstumsfördernde Wirkung des IGF-Systems kann zum heutigen Zeitpunkt als gesichert gelten. Über die Wirkungen des IGF-Systems in der Peripherie existieren verschiedene Modellvorstellungen. Es wird neben einer endokrinen und parakrinen Wirkung auch eine autokrine sowie intrakrine Teilwirkung diskutiert [51]. Dabei erfassen die Messungen im Serum die endokrine Teilkomponente. Ein Teil der IGF-Regulation ist wachstumshormonabhängig. So führen Veränderungen der Wachstumshormone zu einer Beeinflussung der IGF- und IGFBP-Konzentration in der Peripherie.

Weiterhin konnte in den letzten Jahren auch eine zunehmende Bedeutung des IGF-Systems bei malignen Erkrankungen aufgezeigt werden. Bei einer Reihe von soliden Tumoren, wie z.B. Mammakarzinom [32,130], Prostatakarzinom [79], Ovarialkarinom [59] und ZNS-Tumoren [126] konnte ein Zusammenhang zwischen dem IGF-Regulationssystem und der Tumorphathogenese gefunden werden [72,189]. Auch im Kindesalter wurden die IGF-Faktoren im Zusammenhang mit malignen Erkrankungen untersucht [121,193,194]. Neben embryonalen und soliden Tumoren zeigten auch Kinder mit Leukämien veränderte Konzentrationen des IGF-Systems [14, 117, 127].

In der vorliegenden Studie wurde das IGF-I und -II sowie das IGFBP-2 und -3 in einer Gruppe bei Diagnosestellung und in einer weiteren Gruppe nach KMT untersucht. Es zeigte sich, dass sowohl bei Diagnosestellung als auch nach KMT verminderte IGF-I und IGFBP-3-Serumkonzentrationen bei deutlich über dem Normbereich liegenden IGFBP-2-Serumkonzentrationen nachgewiesen werden konnten. Das IGF-II wies eine große Streubreite auf, zeigte jedoch keine signifikante Abweichung vom Normbereich.

Die vorliegende Arbeit bietet, neben den erfassten Daten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung, erstmals einen komplexen Überblick über das Verhalten der IGF-Faktoren und deren Bindungsproteine bei leukämiekranken Kindern nach KMT. Die Untersuchungen erfolgten longitudinal bis zum 18. Monat nach Transplantation unter der besonderen Berücksichtigung der Entstehung eines Rezidivs und mögliche Einflussfaktoren, wie medikamentöse Therapie und Infektionen im Beobachtungszeitraum.

Die Ergebnisse der verschiedenen Gruppen zu den entsprechenden Zeitpunkten werden in den folgenden Abschnitten im einzelnen diskutiert.

5.1 Das Verhalten der IGFs zum Zeitpunkt der Diagnosestellung

In dieser Studie wurden zum Zeitpunkt der Diagnosestellung 44 Patienten untersucht. Um die IGF-Regulation bei verschiedenen malignen Erkrankungen im Kindesalter zu erfassen, wurden neben den Patienten mit Leukämien auch Kinder mit soliden Tumoren und Lymphomen untersucht. In der Literatur wurden bisher vor allem bei Patienten mit akuten Leukämien Veränderungen im IGF-System beschrieben. Im Folgendem sollte diskutiert werden, in wie weit das IGF-System sowohl bei akuten Leukämien als auch bei soliden Tumoren und Lymphomen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung Veränderungen aufzeigt.

5.1.1. Die IGF-I-Serumkonzentrationen bei Diagnosestellung

IGF-I ist ein entscheidender Faktor für das Wachstum und die Zellproliferation. Neben dem Einfluss auf das physiologische Wachstum wird dem IGF-I auch eine wichtige Rolle bei der Tumorphiliferation zugeschrieben. Studien zeigen, dass hohe IGF-I-Serumkonzentrationen mit einem erhöhten Malignitätsrisiko in Verbindung stehen können [31,79]. So fand sich in einer großen prospektiven Fallkontrollstudie unter Hankinson et al. vor allem bei prämenopausalen Frauen ein signifikanter Zusammenhang zwischen hohen IGF-I-Serumkonzentrationen und einem erhöhten Brustkrebsrisiko. Dies konnte jedoch in selbiger Studie bei postmenopausalen Frauen nicht bestätigt werden [72].

In unseren Untersuchungen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung konnten im Gegensatz dazu eher niedrige IGF-I-Serumkonzentrationen gefunden werden. Diese Konstellationen findet sich typischerweise bei einer katabolen Stoffwechsellage, bei einem IGF-I-Mangel oder einer Leberzirrose [7,8,157]. Über 70% der von uns untersuchten der Manifestationsgruppe lagen im unteren Normbereich. Vor allem Kinder mit einer Leukämie oder einem Lymphom zeigten erniedrigte IGF-I-Werte. Aufgrund des großen Referenzbereiches der IGF-I-Werte lag ein Großteil der Patienten mit niedrigen IGF-I-Serumkonzentrationen noch im Normbereich von ± 2 SDS. Anders verhielten sich die Patienten, die an einem soliden Tumor erkrankt waren. Diese zeigten zum Teil erhöhte IGF-I-Werte.

Unsere Ergebnisse stimmen im wesentlichen mit den Untersuchungen von Mohnike et al. überein [117]. Über 50% dieser Patienten hatten bei Diagnosestellung pathologisch verminderte IGF-I-Serumkonzentrationen [118]. Eine weitere Arbeitsgruppe unter Crofton et al. untersuchten ebenfalls Kinder mit einer ALL zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bis zur

27. Woche unter Therapie. Auch hier konnten noch vor Therapiebeginn niedrige IGF-I SDS-Werte im Median von $-1,71$ gefunden werden [44].

Die zum Teil erhöhten IGF-I-Konzentrationen bei einigen soliden Tumoren und die erniedrigten IGF-I-Konzentrationen bei Leukämien, lassen auf eine tumorspezifische Regulation insulinähnlicher Wachstumsfaktoren schließen. Eine exakte Erklärung für die Veränderung der IGF-I-Werte bleibt bis zu heutigen Zeitpunkt noch offen. Einige Autoren gehen davon aus, dass z.B. Prostatakarzinomzellen in der Lage sind IGF-I in erhöhten Maße zu exprimieren [31]. Andere Autoren setzen dem entgegen, dass auch bei einer benignen Prostatahyperplasie erhöhte IGF-I-Serumkonzentrationen nachgewiesen werden konnten [79]. Eine weitere Hypothese besagt, dass das IGF-I nicht direkt das maligne Wachstum stimuliert, sondern als Mediator eine entscheidende Rolle zu spielen scheint und somit in hohen Konzentrationen im Serum zu finden ist [41].

Im Vergleich zu den Ergebnissen von Erwachsenen zeigten die von uns untersuchten Kinder mit soliden Tumoren ein differenzierteres Bild. Unter Berücksichtigung der geringen Fallzahlen konnten für die jeweiligen soliden Tumoren recht unterschiedliche IGF-I-Konzentrationen nachgewiesen werden. Während Kinder mit einem Neuroblastom eine geringe IGF-I-Serumkonzentrationen nahe der 5. Perzentile aufwiesen, waren bei Patienten mit Osteosarkom bzw. Rhabdomyosarkom keine wesentlichen Abweichungen vom Normbereich ersichtlich. Vergleichbare Befunde wurden in der Literatur auch bei anderen soliden Tumoren des Kindesalters wie zum Beispiel bei Wilmstumoren bzw. ebenfalls auch bei Osteosarkom beschrieben [156,193]. In einer aktuellen Studie aus den Jahre 2001 wurden von Rodriguez-Galindo et al. Kinder mit Osteosarkom untersucht. In dieser Studie zeigte sich, dass sowohl die IGF-I- als auch IGFBP-3-Serumkonzentrationen keinen Vorhersagewert für das Auftreten oder den klinischen Verlauf von pädiatrischen Osteosarkomen besitzen. Dabei konnten bei den 37 untersuchten Patienten keine signifikanten Unterschiede der IGF-I- und IGFBP-3-Konzentration im Vergleich zur Normalpopulation gefunden werden. Weiterhin bestand keine Korrelation zum Vorhandensein von Metastasen oder zum Ansprechen auf die Chemotherapie [156]. Die von uns ermittelten Ergebnisse bezüglich des unterschiedlichen Verhaltens der IGF-I-Konzentrationen bei Leukämie- und Lymphompatienten bzw. bei Kindern mit soliden Tumoren zum Zeitpunkt der Diagnose, müssen durch weitere Studien mit größeren Fallzahlen geprüft werden.

Die Bioverfügbarkeit und damit auch die Wirksamkeit der IGF-I-Werte wird durch die IGF-spezifischen Bindungsproteine beeinflusst [16]. Das IGF-I ist zu ca. 99% an Bindungsproteine gebunden [116, 146]. Nur etwa ein Prozent liegt als freie aktive Form in der Zirkulation vor

[64]. Die einzelnen Bindungsproteine besitzen zum IGF-I unterschiedliche Bindungskapazitäten. Das IGFBP-3 gehört zu den Bindungsproteinen mit einer der höchsten Bindungskapazität. Im Folgenden soll auf die Rolle des IGFBP-3 bei malignen Erkrankungen eingegangen werden.

5.1.2. Die IGFBP-3-Serumkonzentrationen bei Diagnosestellung

Die meisten Gewebe exprimieren IGFBP-3-mRNA, und eine Vielzahl von Zelltypen sezernieren IGFBP-3, darunter Endothelzellen, Bindegewebe und Osteoblasten [44]. Im Serum ist das IGFBP-3 zu dem überwiegenden Teil in gebundener Form zu finden. Die Bindung erfolgt in einem Tertiärkomplex mit 150 kDa, der aus dem IGF-I, IGFBP-3 und dem ALS-Untereinheit besteht [15]. Durch diese Komplexbildung kann die Halbwertszeit des IGFs um ein Vielfaches verlängert werden [15,68]. Eine Überwindung der Kapillarschranke ist in dieser Komplexform nicht möglich [165]. Weiter Studien konnten belegen, dass durch spezifische Proteasen eine Spaltung des Tertiärkomplexes erfolgen kann [21,85]. Auf diese Weise wird freies IGF verfügbar und kann sich mit Bindungsproteinen geringerer Affinität zu einem binären Komplex verbinden. Dieser binäre IGF-IGFBP-Komplex ist in der Lage die Kapillarschranke zu überwinden und zur Zielzelle gelangen [165]. Zelluläre Untersuchungen wiesen sowohl auf eine aktivierende als auch auf eine hemmende Wirkung der IGFBPs bezüglich der IGF-I-Bioverfügbarkeit hin. Die Bindungsproteine können somit die proliferativen Effekte der IGFs zu verstärken oder abschwächen [16]. Bisher wird eine IGFBP-3-Bestimmung in der Routinediagnostik bei Kindern mit Verdacht auf einen Wachstumshormonmangel durchgeführt. Kinder mit Kleinwuchs und Wachstumshormonmangel zeigten signifikant verminderte IGFBP-3-Konzentrationen [22,173].

In der vorliegenden Arbeit konnten neben verminderten IGF-I-Konzentrationen auch bei 74% der Jungen und 80% der Mädchen im unteren Referenzbereich liegende IGFBP-3-Serumkonzentrationen nachgewiesen werden. Die Leukämie- und Lymphompatienten wiesen die geringsten IGFBP-3-Konzentrationen auf. Dagegen zeigten Kinder mit soliden Tumoren eine breite Streuung. Keine dieser Erkrankungen wies eine signifikante Veränderungen im Sinne von pathologisch verminderten IGFBP-3-Konzentrationen auf.

Andere Autoren wie Mohnike et al. fanden bei Kindern zum Zeitpunkt der Diagnosestellung mit einer Leukämie, neben den geringen IGF-I-Serumkonzentrationen, signifikant verminderte IGFBP-3-Konzentrationen im Serum. Hierbei lag annähernd ein Drittel der

Patienten (17 von 46) unterhalb der fünften Perzentile [118]. Die Tübinger Arbeitsgruppe um Crofton et al. zeigte zum Zeitpunkt der Diagnosestellung ebenfalls verminderte IGFBP-3-Konzentrationen [44]. Andere Autoren konnten mit ihren Untersuchungen an soliden Tumoren von Erwachsenen diese Ergebnisse bestätigen [59,189]. Eine Arbeitsgruppe um Müller et al. machte die erhöhte IGFBP-3-Proteaseaktivität für die geringen IGFBP-3-Serumkonzentrationen bei Kindern mit malignen Erkrankungen verantwortlich. Da sich die proteolytische Serumaktivität bei Erreichen der kompletten Remission wieder normalisierte, wurde angenommen, dass Tumorgewebe eine Quelle von proteolytischen Enzymen sein könnte [120]. Neben dem beschriebenen möglichen Einfluss der Proteaseaktivität, stehen bis zum heutigen Zeitpunkt keine weiteren ausreichenden Erklärungsansätze für die verminderte IGFBP-3-Konzentration bei Patienten bei malignen Grunderkrankungen zur Verfügung.

In jüngster Zeit ist neben der IGF-abhängigen auch die IGF-unabhängige Wirkung beschrieben wurden [58]. So konnte an verschiedenen Krebszelllinien (bei Mamma- oder Kolonkarzinom) eine direkte wachstumshemmende Wirkung des IGFBP-3 nachgewiesen werden [130, 142]. Zum einen wurde davon ausgegangen, dass das Bindungsprotein-3 über die Aktivierung von potenten wachstumshemmenden Agenzien wie z.B. Retinolsäure, TNF- α und dem Tumorsuppressor p53 einen hemmenden Effekt auf das Zellwachstum besitzt [28,74,158]. Zum anderen deuten Studien darauf hin, dass das IGFBP-3 auch unabhängig vom IGF-I in der Lage ist die Apoptoserate zu beeinflussen. Eine Arbeitsgruppe um Rajah et al. zeigte, dass Zelllinien eines Prostatakarzinoms durch Zugabe von IGFBP-3 eine erhöhte Apoptoserate aufwiesen [67]. Dieser pro-apoptotische Effekt des IGFBP-3 könnte einen möglichen Erklärungsansatz für die wachstumsreduzierende Wirkung des IGFBP-3s liefern [142,181]. Andere Untersuchungen belegten wiederum, dass eine geringe IGFBP-3-Konzentration die Apoptoserate deutlich vermindern kann [66].

Auch in der vorliegenden Arbeit müssen die beschriebenen Mechanismen berücksichtigt werden. Eine verminderte IGFBP-3-Konzentration bei leukämiekranken Kindern könnte mit einer verminderten Apoptoserate im Zusammenhang stehen. Eine Hemmung oder Verminderung der Apoptose einer Zelle oder Zelllinie könnte folglich zu einer überschießenden Zellzahlvermehrung führen. Diese überschießende Zellzahlvermehrung wiederum könnte eine erhöhte Mutationsrate bewirken [29]. Diese bedingt letztlich ein erhöhtes Risiko für eine Karzinomentstehung.

Fraglich bleibt jedoch, ob eine verminderte IGFBP-3-Konzentration im Serum Ausdruck einer reduzierten Apoptoserate der einzelnen Zelle sein kann und sogleich einen Einfluss auf den Entstehungsprozess maligner Erkrankungen besitzt.

5.1.3. Die IGFBP-2-Serumkonzentration bei Diagnosestellung

Die IGFBP-2-Serumkonzentrationen der vorliegenden Arbeit wiesen im Vergleich zu den anderen bestimmten Wachstumsfaktoren deutlich erhöhte Werte auf. Mehr als 50% der Patienten der Manifestationsgruppe zeigten bei Diagnosestellung Serumkonzentrationen deutlich über dem Normbereich von +2 SDS. Kinder mit einer akuten Leukämie wiesen sogar in mehr als 80% der Fälle IGFBP-2-Konzentrationen über dem Referenzbereich auf. Im Median lagen die IGFBP-2-Werte bei 6,18 SDS. Diese Abweichung vom Normbereich war mit $p=0,005$ hochsignifikant. Nur zwei Patienten blieben innerhalb des Referenzbereiches gesunder Kontrollkinder. Auch einzelne Patienten mit soliden Tumoren und Lymphomen wiesen pathologische Serumkonzentrationen auf. Auch diese lagen zum Teil über einem Vielfachen der Norm. Dennoch konnten hier keine signifikanten Abweichungen aufgezeigt werden.

Bei gesunden Kindern werden die höchsten IGFBP-2-Serumkonzentrationen in der Neonatalzeit gefunden. Diese Konzentrationen fallen in den ersten Lebensjahren auf einen nahezu konstanten Level ab. Nur in der Pubertät kommt es nochmals zu einem geringgradigen Anstieg [88]. Das IGF-System scheint bereits für das fetale Wachstum eine erhebliche Bedeutung zu haben [33]. Verschiedene Studien konnten belegen, dass das IGFBP-2 in der Pränatalzeit von maternalen, plazentaren und fetalen Kompartimenten exprimiert wird [76, 93]. Chard et al. fanden heraus, dass Feten mit intrauteriner Wachstumsretardierung niedrige IGF-I-Werte und hohe IGFBP-1 sowie hohe IGFBP-2-Serumkonzentrationen im Nabelschnurblut aufweisen [33].

Andererseits konnten verschiedene Studien belegen, dass auch maligne Tumoren unterschiedlichen Ursprungs hohe IGFBP-2-Serumkonzentration sowie IGFBP-2 Expression aufzeigen [55,59,126,193]. Untersuchungen bei Patienten mit ZNS-Tumoren fanden signifikant erhöhte IGFBP-2-Konzentrationen im Liquor. Liquoruntersuchungen bei Leukämien und soliden peripheren Tumoren wiesen dagegen keinen pathologischen Anstieg der IGFBP-2-Werte auf [121]. Elmlinger et al. fanden einen Zusammenhang zwischen hoher IGFBP-2 Expression und der Zunahme des Malignitätsgrades bei Hirntumoren [56]. Weitere Studien konnten belegen, dass eine Blockierung der IGF-I-Rezeptor-mRNA eine komplette ZNS-Tumor Regression bewirken kann [194]. Auch bei anderen soliden Tumoren wie Prostatakarzinom [31,79], Ovarialkarzinom [59] Mammakarzinom [32] und bei Kindern mit Wilmstumoren [193] konnten neben niedrigen IGF-I-Serumkonzentrationen auch erhöhte IGFBP-2-Konzentrationen im Serum gefunden werden.

Weitere Untersuchungen im Kindesalter zeigen, dass auch Patienten mit Leukämien erhöhte IGFBP-2-Serumkonzentrationen aufweisen. Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung waren signifikante erhöhte Konzentrationen vor allem bei ALL-Patienten nachweisbar. Mit dem Erreichen der Remission kehrten diese erhöhten IGFBP-2-Konzentrationen wieder in den Normalbereich zurück [118]. Patienten, die ein Rezidiv entwickelten, wiesen im Vergleich zu Nicht-Rezidivpatienten signifikant höhere IGFBP-2-Serumkonzentrationen auf [118].

Weiterhin wurde beschrieben, dass auch Lymphoblasten als mögliche Quelle für eine hohe IGFBP-2-Serumkonzentration in Frage kommen [55, 60]. Es konnte gezeigt werden, dass die Leukämiezelllinien der T-Zellreihe (Typ: Molt-4) im Gegensatz zu Zelllinien der B-Zellreihe (Typ: Raji) eine hohe IGFBP-2-Expression aufweisen [55]. Trotz dieser Ergebnisse sind die genauen Regulationsmechanismen des IGFBP-2 bis heute noch nicht ausreichend aufgeklärt.

Einen möglichen Einflussfaktor stellen die spezifischen Proteasen dar. Diese bewirken eine proteolytische Spaltung des IGFBP-2 und vermindern damit deutlich die Affinität zu den Liganden. Somit liegt ein größerer Teil des IGF-I in freier Form vor. Die Bioverfügbarkeit des IGF-I ist damit erhöht [148]. Untersuchungen an Zelllinien deuten auf weitere Mechanismen hin. Diese geben Hinweise, dass Zellen mit reguliertem Wachstum (z.B. Astrogliazellen) in der Lage sind, viel IGFBP-2 zu exprimieren, während bei Zellen mit unreguliertem Wachstum (z.B. Gliomzellen) eine geringe Expression von IGFBP-2 zu verzeichnen war. Weitere Untersuchungen dieser Zellklone zeigten, dass erhöhte Wachstumsraten nur bei Zellklonen auftraten, die neben dem IGFBP-2, auch hohe IGF-I mRNA-Konzentrationen auswiesen. Dagegen zeigten Zelllinien, die neben hohen IGFBP-2 nur niedrige IGF-I-Konzentrationen aufwiesen, ein reduziertes Wachstum. Auch diese Ergebnisse lassen vermuten, dass das Wachstum dieser Zelllinien durch die Interaktion von IGF-I und IGFBP-2 beeinflusst wird [26].

In jüngster Zeit wurden von Elminger et al. Leukämiezelllinien untersucht. Hierbei stellte sich heraus, dass synthetische IGF-I-Analoga mit einer erhöhten biologischen Aktivität in der Lage waren, die IGFBP-2 mRNA-Expression um 25% zu steigern. Gleichzeitig führten diese IGF-I-Analoga zu einem Abfall der IGFBP-3-mRNA um 45%. Weiterhin lag die IGFBP-2-Produktion, die mittels RIA bestimmt wurde, um ein 15-faches höher als die IGFBP-3-Konzentration. Somit wurde deutlich, dass eine lokale IGF-I-Produktion einen Einfluss auf die IGFBP-2-Expression haben kann. Von dieser Arbeitsgruppe wurde vermutet, dass eine reduzierte Fähigkeit der IGF-Analoga, sich an lokal produzierten IGFBP-Komplexe zu

binden, zu einer Überproduktion von IGFBP-2 führt, um letztlich doch noch eine IGF/IGFBP Komplexbildung zu ermöglichen.

5.1.4 Die IGF-II-Serumkonzentrationen bei Diagnosestellung

Das IGF-II verhielt sich anders als die bereits beschriebenen Faktoren des IGF-Systems. Alle untersuchten Patienten zeigten IGF-II-Werte, die im Referenzbereich gesunder Kontrollkinder zu finden waren. Patienten mit Leukämien und soliden Tumoren lagen im oberen Normbereich. Hingegen zeigten Lymphompatienten IGF-II-Werte im unteren Normbereich (mit einem Medianwert von -0,28 SDS).

Bisher gibt es nur unvollständige Erklärungsansätze über die Bedeutung des IGF-IIs im Zellzyklus. Dabei zeigten verschiedenen Studien zum Teil widersprüchliche Ergebnisse. Eine Arbeitsgruppe um Yu et al. konnte bezüglich des IGF-IIs bei Lungenkarzinompatienten keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe aufzeigen [189]. Auch Untersuchungen an Wilmstumoren ergaben keine pathologischen IGF-II-Konzentrationen [193]. DNA-Untersuchungen zur IGF-II-Genexpression bei Leukämie- und Neuroblastomzelllinien wiesen im Vergleich zur Kontrollgruppe ebenfalls keine signifikanten Unterschiede auf [73].

Dagegen deuteten andere Studien darauf hin, dass das IGF-II einen positiven Effekt auf das Tumorwachstum besitzt. Vor allem bei Tumoren des Zentralnervensystems war eine erhöhte IGF-II Expression zu finden [54, 193, 194]. Untersuchungen an Zelllinien bestätigen, dass ein Zellwachstum durch eine autokrine Stimulation vom IGF-II möglich ist. [54,107]. Des weiteren konnte mit dem Verlust des Mannose-6-Phosphat-Rezeptors (IGF-II-Rezeptor) ein erhöhtes Risiko für Mamma- und Leberzellkarzinom beschrieben werden [32,139].

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass von den untersuchten Faktoren zum Zeitpunkt der Diagnosestellung vor allem das IGFBP-2 deutliche Veränderungen aufwies, während IGF-I und IGFBP-3 zum überwiegenden Teil im unteren Normbereich lagen. Keine signifikanten Abweichungen konnten für das IGF-II nachgewiesen werden. Das IGFBP-2 zeigte vor allem bei Leukämiepatienten signifikant erhöhte Werte. Deshalb wurden in den folgenden Untersuchungen ausschließlich Leukämiepatienten auf ihre IGFs und IGFBPs zu verschiedenen Zeitpunkten nach KMT untersucht, um einen eventuellen Zusammenhang zwischen den genannten Faktoren und den Langzeitergebnissen, beziehungsweise dem Rezidivrisiko festzustellen.

5.2. Die IGFs und IGFBPs nach KMT

Die eigenen sowie die in der Literatur beschriebenen Untersuchungen des IGF-Systems zum Zeitpunkt der Diagnosestellung zeigten deutliche Veränderungen bei Leukämiepatienten. Dagegen liegen bis zum heutigen Zeitpunkt für das Kindesalter keine gesicherten Daten zum Verlauf der Serumkonzentrationen von IGFs und IGFBPs vor und nach KMT vor. Nur durch die longitudinale Betrachtung können Aussagen über die Wertigkeit der insulinähnlichen Wachstumsfaktoren nach Transplantation getroffen werden. Unsere Untersuchungen geben erstmalig einen komplexen Überblick über den Verlauf der Serumkonzentrationen der IGF-Faktoren im Kindesalter -zum Zeitpunkt vor der Konditionierung bis zu 18 Monaten nach KMT- wieder.

Bei unseren Untersuchungen stiegen sowohl bei Patienten mit AML als auch mit ALL im zeitlichen Verlauf die IGFBP-2-Serumkonzentration von Beginn der Untersuchung (vor Konditionierungs-Therapie) bis zum 6. Monat nach KMT kontinuierlich an und erreichten bis zum 18. Monat nach KMT annähernd wieder ihren Ausgangswert. Im Gegensatz dazu zeigten die Faktoren IGF-I und IGFBP-3 ein spiegelbildliches Verhalten. Die niedrigsten Werte wurden um den 6. Monat erreicht. Weder bei AML- noch bei ALL-Patienten waren signifikante Veränderungen für das IGF-II zu beobachten. Da die beschriebenen Veränderungen zu verschiedenen Zeitpunkten eine spezifische Aussagekraft besitzen, soll nun explizit auf die entscheidenden Zeitpunkte eingegangen werden.

Die ersten Messungen erfolgten bei allen Patienten vor der Konditionierungs-Therapie. Im Durchschnitt wurde die Blutentnahme am 18. Tag vor KMT durchgeführt. Zu diesem Zeitpunkt befand sich der überwiegende Teil der Patienten in kompletter Remission und somit in einem guten Allgemeinzustand. An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass am Tag der KMT (0.Tag) keine Bestimmung der insulinähnlichen Wachstumsfaktoren erfolgte, da zum einem die kurzfristigen Effekte der Konditionierungs-Therapie auf das IGF-System bereits in Studien ausführlich untersucht wurden [122,191] und weiterhin es uns nicht möglich war mit dem uns zur Verfügung stehendem Serummaterial am Tag der KMT (0.Tag) eine valide statistische Auswertung durchzuführen. Unser Schwerpunkt lag auf einer längerfristigen Beobachtung der IGF-Faktoren nach KMT unter besonderer Berücksichtigung der Rezidiventwicklung.

Die Arbeitsgruppe um Attard-Montalto et al. untersuchte die Veränderungen der IGF-Faktoren und deren Bindungsproteine bei Kindern mit malignen Erkrankungen vor und nach

myeloablativer Chemotherapie. Es zeigte sich, dass vor der Therapie weder das IGF-I noch das IGFBP-3 Abweichungen gegenüber gesunden Kontrollen aufwies [9]. Dagegen konnten für das IGFBP-2 während des gesamten Beobachtungszeitraums erhöhte Serumkonzentrationen gefunden werden. Munker et al. beschrieb 19 Patienten, bei denen vom Tag 0 bis zum Tag 28 nach Stammzelltransplantation Messungen von IGF-I, IGF-II und IGFBP-3 vorgenommen wurden waren. Hierbei zeigten die untersuchten Patienten am Tag 0 für die Faktoren IGF-I und IGFBP-3 keine signifikanten Abweichungen zur Kontrollgruppe [122]. Dagegen ergaben die Messungen des IGF-II etwas geringere Konzentrationen im Vergleich zu Gesunden.

Unsere Untersuchungen bestätigen im wesentlichen die genannten Ergebnisse aus der Literatur. Auch wir fanden unmittelbar vor der Konditionierungstherapie für das IGF-I, IGF-II und das IGFBP-3 keine signifikante Abweichung von Normbereich. Dagegen konnten bereits vor der Transplantation erhöhte IGFBP-2-Serumkonzentrationen gefunden werden. Mit einem Median von +2,2 SDS lagen die Leukämiepatienten über Referenzbereich gesunder Kontrollkinder. Unterschiede zwischen AML- und ALL-Patienten waren unmittelbar vor der KMT nicht nachweisbar.

Zu einem späteren Zeitpunkt (Tag 7 und 14) wiesen die Patienten der Arbeitsgruppe um Munker et al. einen kurzzeitigen Anstieg der IGF-I-Konzentrationen auf. Nachfolgende Messungen um den 28. Tag ergaben jedoch wiederum niedrige IGF-I-Serumkonzentrationen [122]. Ein Zusammenhang zwischen den IGF-I-Serumkonzentrationen und der Schwere der GvHD konnte nicht gefunden werden. In dieser Arbeit wurde spekuliert, dass der frühzeitige Anstieg des IGF-I mit der Proliferation von Progenitorzellen in Verbindung gebracht werden könnte. Aber auch eine mögliche Immunaktivierung scheint mit erhöhten IGF-I-Konzentrationen einherzugehen. Es sei jedoch anzumerken, dass aufgrund der geringen Patientenzahl, der Vielschichtigkeit der Diagnosen und der großen Altersspanne die Wertigkeit dieser Ergebnisse kritisch zu betrachten ist. Das IGFBP-3 zeigte keine signifikanten Veränderungen nach Transplantation. In einer weiteren Studie nach Stammzelltransplantation konnte eine verminderte IGF-I-Rezeptor Genexpression mittels PCR bei 16 Patienten gefunden werden. Die geringste IGF-I-Rezeptor Expression zeigte sich zwischen dem 60. und 100. Tag nach Transplantation [134]. Veränderungen der IGF-I-Serumkonzentrationen waren bei diesen Patienten allerdings nicht zu finden. Die IGF-I-Werte lagen zu allen Zeitpunkten im Normbereich.

Unsere Untersuchungen bestätigen auch im weiteren zeitlichen Verlauf die Ergebnisse von Munker et al. Auch wir konnten um den Tag 30 nach Transplantation verminderte IGF-I-

Serumkonzentrationen nachweisen. Weiterhin zeigten auch die IGFBP-3-Serumkonzentrationen ab dem 30. Tag nach KMT eine fallende Tendenz. Etwa 8 % aller AML-Patienten lagen um dem Tag 30 unterhalb der 5. Perzentile.

An dieser Stelle sei angemerkt, dass AML-Patienten im Vergleich zu ALL-Patienten ab dem 30. Tag nach KMT niedrigere IGF-I- und IGFBP-3-Werte sowie höhere IGFBP-2-Werte aufwiesen. Studien zeigten jedoch, dass sowohl die Zellproliferation von lymphatischen als auch myeloischen Zellreihen durch das IGF-System stimuliert werden [133,138,192]. Die unterschiedlichen Konzentrationen der Wachstumsfaktoren bei AML- und ALL-Patienten sind mit dem bisher zur Verfügung stehendem Datenmaterial kaum zu begründen.

Studien, die im weiteren Verlauf IGFs und IGFBP3 untersuchten, fanden auch nach dem 100. Tag nach KMT niedrige IGF-I- und IGFBP-3-Konzentrationen. So konnte eine Arbeitsgruppe um Cicognani et al. bei Kindern mit einer malignen Grunderkrankung einen Abfall der IGF-I und IGFBP-3-Werte um 2 Standardabweichung nachweisen [38]. Diese Veränderungen des IGF-Systems zeigten einen signifikanten Zusammenhang zum Auftreten eines Wachstumshormondefizits (GHD). Somit wurden die beschriebenen Veränderungen als ein Indikator für einen eingeschränkten Wachstumsverlauf nach KMT interpretiert und nicht alleine auf die maligne Grunderkrankung zurückgeführt. In unserer Klinik wurden 1998 im Rahmen einer Promotionsarbeit von S. Zintl die wachstumshormonabhängigen Parameter (IGF-I und IGFBP-3) bei Kindern nach KMT über einen Zeitraum von 5 Jahren bezüglich ihrer Wachstumsraten untersucht [154]. Aus diesen Ergebnissen ergab sich kein direkter Zusammenhang zwischen den bestimmten Faktoren und dem verminderten Längenwachstum der Patienten. Erst im dritten Jahr nach KMT wurden die niedrigsten Werte bei Patienten mit Ganzkörperbestrahlung gemessen. Diesen Untersuchungen zufolge scheint der relativ kurze Zeitraum von 6 Monaten keinen direkten Einfluss auf den Wachstumsverlauf der KMT-Patienten zu haben.

Mit zunehmendem zeitlichen Abstand von der KMT bis hin zum 6. Monat nach KMT konnten stetig abnehmende IGF-I-Konzentrationen festgestellt werden. Im Vergleich zum Ausgangswert (vor Konditionierungstherapie) zeigten sich am 60. und 100. Tag sowie im 6. Monat nach KMT hochsignifikant niedrigere IGF-I-Konzentrationen. Die niedrigsten Konzentrationen für IGF-I und IGFBP-3 konnten etwa ein halbes Jahr nach der KMT nachgewiesen werden. In der Literatur wurden Kinder mit Medulloblastomen beschrieben, bei denen nach kraniospinaler Bestrahlung und Chemotherapie eine Bestimmung von IGF-I, IGFBP-3 und Wachstumshormon-Bindungsproteine (WH-BP) vorgenommen wurde. Dabei

stellte sich heraus, dass ebenfalls sechs Monate nach KMT das WH-BP, IGF-I und IGFBP-3 die niedrigsten Konzentrationen erreichten. Dennoch lag eine unveränderte Wachstumshormon-Antwort nach Stimulation vor, was von dieser Arbeitsgruppe als Beweis für eine vorübergehende Resistenz gegenüber Wachstumshormon (WH) interpretiert wurde [125]. Eine weitere Arbeitsgruppe um Rappaport et al. beschrieb ebenfalls einen synchronen Abfall von IGF-I und IGFBP-3 bei normaler WH-Sekretion, als eine Wachstumshormonresistenz [144]. Diese metabolischen Veränderungen, erkennbar an einer vorübergehenden WH-Resistenz, könnten Folge einer intensiven Konditionierungs-Therapie sein. Indessen konnte eine Arbeitsgruppe um Attard-Montalto et al. sechs Monate nach einer alleinigen Chemotherapie an Kindern mit ALL und NHL zeigen, dass nach kurzzeitigem Abfall während der Phase der febrilen Neutropenie um den sechsten Monat wieder normale IGF-I und IGFBP-3-Serumkonzentrationen erreicht wurden [38]. Es wird vermutet, dass die alleinige Chemotherapie nach etwa einem halben Jahr keinen entschiedenen Einfluss mehr auf die IGF-I- und IGFBP-3-Werte besitzt. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass diese Veränderungen der IGF-I und IGFBP-3-Werte bei malignen Erkrankungen nicht ausschließlich auf einen therapeutischen Effekt zurückzuführen sind. Auch andere Faktoren besitzen einen Einfluss auf die IGF-I und IGFBP-3-Konzentrationen. Eine katabole Stoffwechsellage geht wie in der Literatur beschrieben mit erhöhtem STH sowie niedrigen IGF-I und IGFBP-3-Konzentrationen einher [38]. Auch Leberfunktionsstörungen [8], Anorexia nervosa [6], Verbrennungen [98], Azidose [19], aber auch Infektionen sind mit niedrigen IGF-I und IGFBP-3-Werten assoziiert [103,161]. Diese Einflussfaktoren sollten bei der Interpretation der IGF-I und IGFBP-3-Konzentrationen nach KMT berücksichtigt werden. Die verminderten IGF-I und IGFBP-3-Serumkonzentrationen im zeitlichen Verlauf nach KMT -mit Tiefstwerten um den 6. Monat nach KMT- waren mit hohen IGFBP-2-Konzentrationen assoziiert. Über 88% der AML- und annähernd 70% der ALL-Patienten lagen ein halbes Jahr nach KMT mit ihren IGFBP-2-Werten oberhalb des Normbereichs. Es sei anzumerken, dass bereits zu Beginn unserer Untersuchung sowohl bei AML als auch bei ALL-Patienten erhöhte IGFBP-2-Serumkonzentrationen gefunden wurden.

Erhöhte IGFBP-2-Konzentrationen konnten, wie in der Literatur beschrieben, in verschiedenen Tumorgeweben nachgewiesen werden [55,59,126,193]. Eine Zunahme der Zellproliferationsrate könnte sich in erhöhten IGFBP-2-Konzentrationen widerspiegeln. Ein in vitro Experiment zeigte, dass Tumoren ,die IGFBP-2 exprimierten, eine höhere Proliferationsrate aufwiesen als Tumoren ohne nachweisbare IGFBP-2-Expression [111]. Zelllinien eines Kolonkarzinoms zeigten eine erhöhte IGFBP-2 Sekretion. Dabei wurde eine vermehrte

IGFBP-2 Anreicherung vor allem im Zytoplasma der Epithelzellen nachgewiesen. Diese Hypothese stimmt mit den bereits beschriebenen Ergebnissen der Arbeitsgruppe um Mohnike et al. überein [118]. Bei Kindern mit einer ALL waren zur Manifestation neben deutlich erhöhten IGFBP-2-Konzentrationen auch erniedrigte IGF-I- und IGFBP-3-Konzentrationen zu finden. Mit dem Erreichen der Remission kam es zu einer Normalisierung der Serumkonzentrationen. Diese Ergebnisse deuten auf einen direkten Zusammenhang des IGF-Systems und der Lymphoblastenproliferation hin.

Es wird vermutet, dass eine erhöhte IGFBP-2 Expression einen regulierenden Effekt auf die lokale IGF-Bioverfügbarkeit besitzt [115]. Die IGFBPs besitzen neben ihrer Speicherfunktion auch eine Transportfunktion für die IGFs. Die binären Komplexe (IGF-IGFBP-Komplexe) können ungehindert die Kapillarschranke überwinden und das IGF zur Zielzelle transportieren [165, 173]. Eine hohe IGFBP-Konzentration in der Zirkulation ermöglicht somit einen verstärkten IGF-Transport zur Zielzelle. Andererseits können die IGFBP die biologische Wirkung der IGFs unmittelbar an den Zielzellen regulieren, indem sie mit den IGFs um die Bindung am Rezeptor konkurrieren [46,86,107].

Bisher steht bezüglich des IGF-Systems und der KMT bei Leukämiepatienten nur wenig Datenmaterial zu Verfügung. Es existieren nur einzelne Untersuchungen an verschiedenen Zelllinien. In wie weit deren Ergebnisse die komplexe Situation im gesamten Knochenmark widerspiegeln und letztlich über Serumbestimmungen erfassbar sind, ist bis zum heutigen Tag noch nicht abschließend geklärt. Menschliche Stromazellen des Knochenmarks zeigen eine Expression der IGF-Faktoren und der Bindungsproteine-1 bis -6 [117]. In humanen Lymphozyten konnte eine hohe IGFBP-2 Expression gefunden werden [60, 118]. Dabei wiesen Zelllinien der B- und T-Zellreihe eine unterschiedliche IGFBP-2 Expression auf [60]. Eine Stimulation der peripheren mononukleären Blutzellen bewirkte neben einem Anstieg der IGFBP-2 mRNA Expression auch einen intrazellulären IGFBP-2 Anstieg [60]. Eine weitere Arbeitsgruppe fand heraus, dass die mononukleären Blutzellen von ALL-Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe einen deutlich höheren Anteil an IGFBP-2 besitzen [185]. Mit Erreichen der Remission erfolgte eine Normalisierung der IGFBP-2-Serumkonzentrationen der ALL-Patienten. Andere Studien zeigen jedoch, dass auch in kompletter Remission bis zu 10^4 Leukämiezellen persistieren können [155].

Dies könnte ein Erklärungsansatz für die von uns bestimmten erhöhten IGFBP-2-Werte bei Leukämiepatienten unmittelbar vor Konditionierungs-Therapie sein. Weiterhin konnte in unserer Studie im zeitlichen Verlauf nach KMT ein Anstieg der IGFBP-2-Konzentrationen im

Serum bei ALL- und AML-Patienten gefunden werden. Zugleich war auch eine Verminderung der IGF-I und IGFBP-3-Konzentrationen nachweisbar.

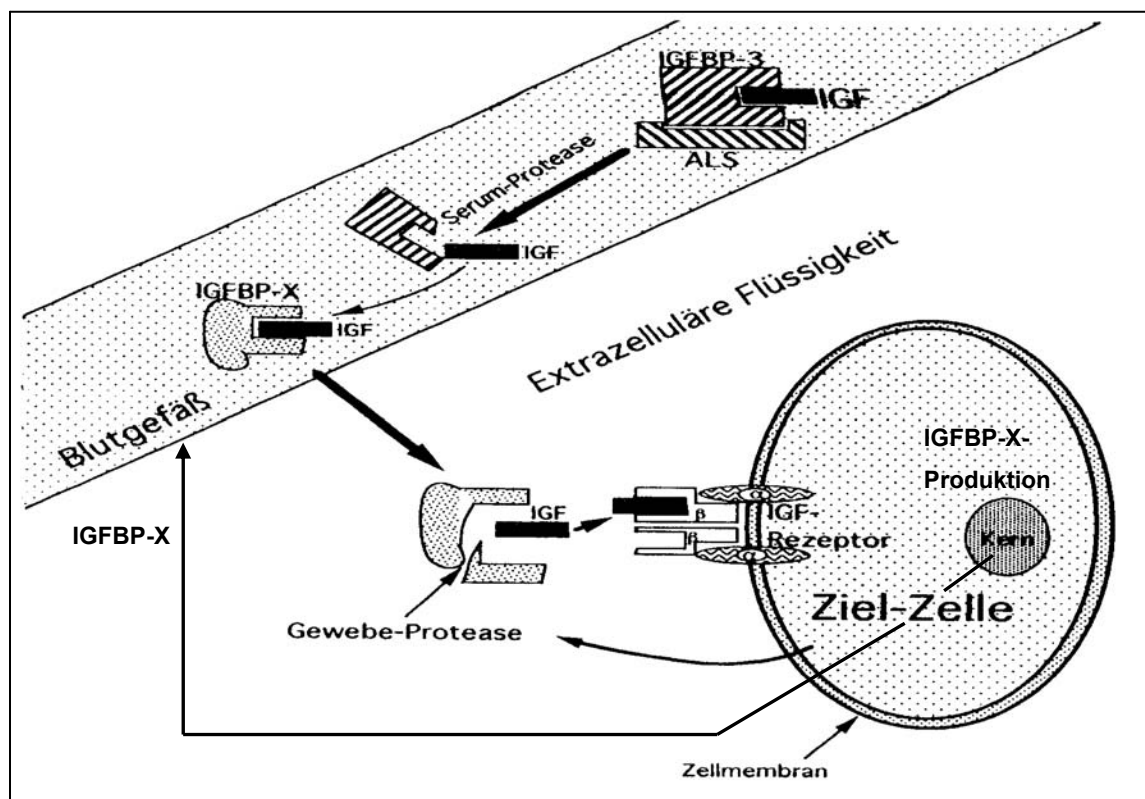
Der Anstieg der IGFBP-2-Werte nach KMT könnte mit der zunehmenden Funktion des transplantierten Knochenmarks in Verbindung stehen. Dabei scheint sich vor allem eine allmählich zunehmende Zellproliferationsrate nach KMT in den erhöhten IGFBP-2-Serumkonzentrationen widerzuspiegeln [172]. Des Weiteren ist anzunehmen, dass die Entwicklung eines neuen Immunsystems sowie die Reifung einer unspezifischen Immunabwehr in den ersten Monaten nach KMT sich in Veränderungen des IGF-Systems widerspiegeln könnte. Aufgrund der beschriebenen Wechselwirkungen zwischen dem IGF-I und den Bindungsproteinen könnte sich diese Aktivierung in einem Anstieg des IGFBP-2 im Serum zeigen. Über die Wertigkeit dieser Einflussfaktoren kann bis zum heutigen Zeitpunkt noch keine abschließende Aussage getroffen werden.

5.2.1 Modell für die Veränderungen der IGFs und IGFBPs nach KMT

Im Serum liegen die IGFs fast vollständig in gebundener Form vor, wobei ein IGF-Molekül jeweils mit einem IGFBP-3 und einer säurelabilen Untereinheit (ALS) einen Komplex von 150 kDa bildet [15]. Es konnte gezeigt werden, dass spezifische Serumproteasen diesen Komplex spalten und somit sich das freigesetzte IGF an kleinere IGFBPs binden kann (in der Abb. 47 als IGFBP-X bezeichnet). Diese binären Komplexe können die Kapillarschranke überwinden und zur Zielzelle gelangen [143, 165]. Diese Zellen sezernieren wiederum eigene Proteasen [85,110], welche IGFBPs spalten und IGF freisetzen, das sich nun an den spezifischen IGF-Rezeptor binden kann [119,180]. Die Bioverfügbarkeit der IGFs wird unter anderem durch diese Proteasen reguliert. Neuroblastomzellen sezernieren neben IGF-II, IGFBP-2 auch IGFBP-2-Proteasen und fördern somit die Proliferation dieser Zellen [111].

Neuere Untersuchungen konnten zeigen, dass auch die binären Komplexe sich an die Extrazellulärmatrix binden können [5]. Weiterhin sind die Zielzellen selbst in der Lage IGFBPs zu sezernieren [55,60,67,110]. Eine IGF-unabhängige Wirkung wurde bereits für das IGFBP-3 beschrieben [184]. Durch in vivo Messungen konnte die Verlagerung von IGFBP-2 und IGF-I aus dem Plasmaraum in das Gewebe bestätigt werden [96]. Eine Aufnahme von IGF-I in das betroffene Gewebe konnte sowohl bei Wundheilungsprozessen als auch bei Verbrennungen nachgewiesen werden. Patienten mit Verbrennungen zeigten neben niedrigen IGF-I- und IGFBP-3-Serumkonzentrationen auch erhöhte IGFBP-1 und -2-Werte [96,98].

Hautveränderungen, die eine Ähnlichkeit mit Verbrennungs-Läsionen haben, sind bei Patienten mit einer akuten GvHD zu finden. Ein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein einer akuten GvHD und den von uns gemessenen Veränderungen des IGF-Systems nach KMT konnte nicht gefunden werden.



Modifiziert nach: Scharla SH et al.[165]

Abb.47 : Modell für das IGF-System und die Rolle der IGFBPs.

5.2.2 Die IGFs und IGFBPs und das Rezidivrisiko nach KMT

Ein Wiederauftreten der leukämischen Grundkrankheit nach Knochenmarktransplantation wird in erster Linie vom Krankheitsstadium zum Zeitpunkt der Transplantation determiniert und spiegelt eine unzureichende Zerstörung der malignen Zellen durch die radiochemotherapeutischen Konditionierungsbehandlung wieder [94,140]. Bisher liegen keine umfassenden Analysen vor, inwieweit prognostische Kriterien bei Diagnosestellung (initiale Leukozytenzahl, LDH-Serumkonzentration, Blastenzahl am Tag 8), welche die Rezidiv-

wahrscheinlichkeit unter konventioneller Chemotherapie bei Patienten mit akuter Leukämie beeinflussen, auch nach einer Knochenmarkstransplantation Gültigkeit haben könnten. Neueste Untersuchungen lassen auch einen Zusammenhang zwischen einem Anstieg der „minimal residual leukemia and lymphoma cells“, der sogenannten MRD (minimal residual disease) und der Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Rezidivs vermuten [52,162]. Allerdings werden einige der genannten prognostischen Faktoren nicht einhellig akzeptiert, da ihre Gültigkeit von den jeweiligen Chemotherapie-Protokollen abzuhängen scheint und nicht ohne weiteres auf andere Protokolle übertragbar sind. Es wäre deshalb wünschenswert speziell für KMT-Patienten taugliche prognostische Faktoren zu finden, mit deren Hilfe die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines leukämischen Rezidivs nach KMT abschätzbar wäre. Die insulinähnlichen Wachstumsfaktoren und ihre Bindungsproteine, darunter vor allem das IGFBP-2, zeigten nicht nur beim gesunden Organismus einen Effekt auf das Zellwachstum und die Proliferation, sondern auch in malignen Zelllinien und Geweben entsprechende wachstumsfördernde Wirkungen. In Studien konnte beobachtet werden, dass hohe IGFBP-2 Serumspiegel mit den malignen Eigenschaften von Tumoren positiv korrelieren [80]. Eine Überexpression von IGFBP-2 in adrenocorticalen Tumorzellen führte zu einem malignen Wachstum und zu einer veränderten Morphologie.

Weiterhin ist aus der Literatur bekannt, dass eine über der Norm liegende IGFBP-2-Serumkonzentration zum Zeitpunkt der Diagnose bei Kindern mit akuter Leukämie als negativer prognostischer Faktor zu sehen ist [118].

In der vorliegenden Arbeit wurde das Verhalten der IGF-Faktoren und der Bindungsproteine (IGFBP-2, IGFBP-3) bei Kinder mit akuten Leukämien nach der Knochenmarkstransplantation überprüft. Es stellte sich die Frage, ob die Entwicklung eines leukämischen Rezidivs nach KMT mit Hilfe der IGF-Faktoren und deren Bindungsproteine vorhersagbar ist. Tendenziell zeigten die IGFs und IGFBPs der ALL-Patienten einen ähnlichen Verlauf wie die der AML-Patienten. AML-Patienten wiesen im Vergleich zu ALL-Patienten aber höhere IGFBP-2-Werte und niedrigere IGF-I und IGFBP-3-Werte auf. Unter Berücksichtigung der geringen Fallzahlen konnten jedoch nur bei der AML signifikante Unterschiede zwischen Rezidiv und Nicht-Rezidivpatienten gefunden werden.

Es zeigte sich, dass Leukämiepatienten mit einem Rezidiv einen kontinuierlichen Anstieg der IGFBP-2-Konzentrationen bis hin zur Diagnosestellung des Rezidivs aufwiesen. Nicht-Rezidivpatienten zeigten hingegen nach einem kurzzeitigen Anstieg um den 6. Monat nach KMT einen kontinuierlichen Abfall der IGFBP-2-Serumkonzentrationen. Mit dem 18. Monat nach KMT wurde annähernd der Ausgangswert wieder erreicht.

Im Gegensatz dazu, zeigten die Faktoren IGF-I und IGFBP-3 ein spiegelbildliches Verhalten. Bei Rezidivpatienten konnten nach der Transplantation kontinuierlich abfallende IGF-I- und IGFBP-3-Werte bis hin zum Auftreten des Rezidivs nachgewiesen werden. Nicht-Rezidivpatienten erreichten hingegen um den 6. Monat die niedrigsten Serumkonzentrationen von IGF-I und IGFBP-3. Diese normalisierten sich jedoch bis zum 18. Monat nach KMT. Der kontinuierlicher Konzentrationsanstieg des IGFBP-2 sowie der Konzentrationsabfall von IGF-I und IGFBP-3 könnte Ausdruck eines typischen Rezidiv-Reaktionsmusters sein.

Auch einen möglichen Einfluss der medikamentösen Therapie nach KMT auf das IGF-System sollte diskutiert werden. Ein einheitliches Therapieregime nach KMT stellt die GvHD-Prophylaxe dar. Das Ciclosporin A ist neben dem MTX und dem Prednisolon, ein wichtiger Bestandteil in der GvHD-Prophylaxe. Die Ciclosporin A-Therapie wurde bei einem überwiegenden Teil unserer Patienten vom 0. Tag zum 100.Tag nach KMT durchgeführt. Es stellte sich die Frage, ob das Ciclosporin A mit den beschriebenen Veränderungen des IGF-Systems nach KMT im Zusammenhang stehen könnte. Studien zeigten, dass Ciclosporin A eine spezifische Inhibition der T-Zell-Proliferation und der Interleukin-2-Produktion bewirkt [138]. Weiterhin wurde auch eine verminderte Expression von Interleukin-2-Rezeptoren auf T-Zellen gefunden. Ferner konnte gezeigt werden, dass die Differenzierung zytotoxischer T-Zellen durch Ciclosporin A gehemmt werden kann [27]. Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse der Arbeitsgruppe um Elmlinger et al., die eine erhöhte IGFBP-2-Expression in Leukämiezellen der T-Zellreihe aufzeigten [55]. Da wir ebenfalls erhöhte IGFBP-2-Konzentrationen – trotz Ciclosporin A-Gabe – finden konnten, scheint das Ciclosporin A bei unseren Patienten keinen Einfluss auf die IGFBP-2 Konzentration im Sinne der oben beschriebenen Mechanismen zu haben.

In der vorliegenden Arbeit zeigte nahezu 87% der Nicht-Rezidivpatienten mit einer AML am 100.Tag nach KMT IGFBP-2-Serumkonzentrationen unterhalb eines Wertes von +5 SDS. Nur zwei Patienten wiesen IGFBP-2-Werte oberhalb der +5-SDS-Marke auf. Dagegen zeigten Rezidivpatienten am 100.Tag nach KMT IGFBP-2-Konzentrationen, die weit über der +5-SDS-Marke lagen. Ein Median von +7,2 SDS zeigt, wie deutlich diese Patienten am 100. Tag über dem Referenzbereich gesunder Kontrollkinder lagen. Allein 50% wiesen IGFBP-2-Konzentrationen oberhalb eines Wertes von +9 SDS auf.

Da dieser Unterschied zwischen Rezidiv- und Nicht-Rezidivpatienten statistisch signifikant ist, scheint die 5-SDS-Marke am 100.Tag nach KMT für die IGFBP-2-Serumkonzentrationen

ein wichtiger Grenzwert zu sein. Patienten, die am 100.Tag nach KMT einen SDS-Wert über +5 aufweisen, besitzen somit ein wesentlich höheres Rezidivrisiko.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass AML-Patienten mit IGFBP-2-Werten über +5 SDS am 100.Tag nach KMT ein höheres Risiko für das Auftreten eines Rezidivs nach Transplantation besitzen. Im Gegensatz dazu scheinen Patienten die am 100.Tag nach KMT unterhalb der +5-SDS-Marke zu finden sind, ein geringeres Rezidivrisiko zu haben. Ist aber möglich, dass Patienten mit IGFBP-2-Werten unterhalb der 5-SDS-Marke an einem Rezidiv erkranken können.

Auch andere Studien konnten belegen, dass verschiedene maligne Tumoren und Zelllinien unterschiedlichen Ursprungs eine hohe IGFBP-2-Serumkonzentration sowie IGFBP-2-Expression aufzeigen [55, 59, 126, 193]. Vor allem bei Leukämiepatienten konnte mit Hilfe IGFBP-2-Serumkonzentrationen bereits zum Zeitpunkt der Diagnosestellung eine Prognose für die Entstehung eines leukämischen Rezidives abgegeben werden [118]. Der Parameter – IGFBP-2 bei Diagnose – war in dieser Studie mit den etablierten Prognosefaktoren vergleichbar. Eine vermehrte IGFBP-2-Sekretion konnte auch in verschiedenen malignen Geweben, wie z.B. bei Mammakarzinom, Prostatakarzinom sowie bei ZNS-Tumoren gefunden werden. Untersuchungen an ZNS-Tumoren zeigten, dass ein Anstieg der IGFBP-2-Konzentration positiv mit dem Malignitätsgrad korreliert [56]. Rajah et al. fanden bei Patienten mit einem Prostatakarzinom neben der erhöhten IGFBP-2-Konzentration im Serum auch verminderte IGFBP-3-Werte. Auch die Arbeitsgruppe um Mohnike et al. konnte bei leukämiekranken Kindern eine ähnliche Konstellation zum Zeitpunkt der Diagnosestellung finden.

Diese Ergebnisse stimmen mit denen von uns ermittelten Serumkonzentration für das IGFBP-2 und das IGFBP-3 bei Kinder mit einer AML überein. Auch wir fanden neben hohen IGFBP-2-Werten, wie im Kontext beschrieben, vergleichsweise niedrige (im unteren Normbereich liegende) IGFBP-3-Konzentrationen, wobei wiederum der 100. Tag nach KMT einen entscheidenden Wendepunkt darzustellen scheint. Am Tag 100 nach KMT wiesen annähernd 70 % aller Rezidivpatienten IGFBP-3-Serumkonzentrationen unterhalb eines Wertes von –1 SDS auf. Dagegen konnte dieser Sachverhalt nur für 26 % der Nicht-Rezidivpatienten gefunden werden. Die –1-SDS-Marke des IGFBP-3 ist am 100.Tag nach KMT für die Einschätzung der Rezidivwahrscheinlichkeit von Bedeutung. Patienten, die nach einer KMT am 100.Tag einen SDS-Wert unter –1 aufwiesen, hatten eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Rezidivs. Der Unterschied zwischen Rezidiv- und Nicht-Rezidivpatienten bezüglich der –1-SDS-Marke war statistisch signifikant. Für das IGF-I konnten diese

Veränderungen zwischen Rezidiv und Nicht-Rezidivpatienten nicht gefunden werden. Obwohl bei den Rezidivpatienten im Median niedrigere IGF-I-Konzentrationen erkennbar waren, konnten aufgrund der großen Überlappung der Einzelwerte, keine signifikanten Unterschiede zwischen Rezidiv und Nicht-Rezidivpatienten nachgewiesen werden. In unseren Untersuchungen zeigten die IGF-I-Werte keinen prädikativen Wert für die Wahrscheinlichkeit der Rezidiventstehung nach KMT.

Abschließend lässt sich feststellen, dass AML-Patienten, die am Tag 100 nach KMT erhöhte IGFBP-2-Serumkonzentrationen ($< +5$ SDS) und im unteren Normbereich liegende IGFBP-3-Konzentrationen (> -1 SDS) aufweisen, ein erhöhtes Risiko für ein leukämisches Rezidiv nach KMT besitzen.

5.3. Einflussfaktoren auf das IGF-System nach der KMT

5.3.1 Lebererkrankung und Leberschädigung

Die KMT ist eine etablierte Behandlungsmethode für maligne Erkrankungen im Kindesalter und die Liste der Indikationen nimmt immer weiter zu. Eine erfolgreiche Transplantation setzt eine wirksame Konditionierung voraus. Diese bringt jedoch eine Reihe von Nebenwirkungen mit sich wie zum Beispiel Nieren- und Lebertoxizität.

Das IGF-I wird zum übererwiegenden Teil in der Leber gebildet [47]. Tierexperimentelle Studien belegen, dass neben dem IGF-I auch andere IGF-Faktoren wie z.B. das Bindungsprotein-2 von der Leber exprimiert werden [25]. Neben der Leber sind auch weitere mesenchymale Organe sowie Fibroblasten und Kupfersche-Sternzellen in der Lage IGF-Faktoren zu produzieren [35, 46, 57, 178]. Treten Lebererkrankungen auf, so können diese zu Konzentrationsveränderungen der IGF-Faktoren führen. Patienten mit chronischen Lebererkrankungen zeigen erniedrigte IGF-I-, IGF-II- und IGFBP-3-Konzentrationen, die positiv mit der Leberfunktion korrelieren [135]. Dagegen wiesen Patienten mit einer Hepatitis erhöhte IGF-I-Serumkonzentrationen auf [131]. Bei ethyltoxisch verursachten Proteinsynthesestörungen der Leber konnten in einer aktuellen Studie signifikant verminderte IGF-I- und IGF-II-Konzentrationen gefunden werden [123]. Weiterhin ist bekannt, dass eine Chemotherapie neben der Verbesserung der Prognose maligner Erkrankungen auch eine hepatotoxische Wirkung besitzt. Unter diesem Gesichtspunkt ist zu berücksichtigen, dass jedes einzelne eingesetzte Chemotherapeutikum eine ganz spezifische lebertoxische Wirkung

aufweist. Auch nach erfolgter KMT kann durch eine erforderliche GvHD-Prophylaxe eine Hepatotoxizität ausgelöst werden. So besitzt das häufig eingesetzt Ciclosporin A neben einer ausgeprägten Nephrotoxizität auch eine Lebertoxizität als charakteristische Nebenwirkung. Untersuchungen der Kinderklinik in Essen konnten bestätigen, dass eine hepatozelluläre Schädigung eine häufige Komplikation nach Chemotherapie ist [11]. Bei 86% der untersuchten Kinder war eine Erhöhung der Leberenzyme zu finden. In einer weiteren Studie zeigten Kinder mit einem Osteosarkom im Vergleich zu Leukämiepatienten nach einer Methotrexattherapie eine höhere Leberfunktionseinschränkung [151]. Nach einer Hochdosismethotherapie mit Busulfan, Cyclophosphamid und Etoposid als ein Konditionierungsregime vor einer allogenen KMT traten bei den Patienten neben der hämatologischen Toxizität als häufigste Nebenwirkungen auch eine Mukositis und Leberzellschädigung auf [190].

In unseren Untersuchungen erhielten 31 von 51 KMT-Patienten bei Konditionierung eine Kombination der Zytostatika: Busulfan und Cyclophosphamid. Die oben genannten Studien geben Hinweise darauf, dass auch bei unseren Untersuchungen durch eine sekundäre Leberzellschädigung Konzentrationsveränderungen der IGF-Faktoren und deren Bindungsproteine möglich sein können. Offen bleibt jedoch zu welchem der untersuchten Zeitpunkte nach KMT eine mögliche Lebertoxizität unsere Ergebnisse beeinflusst haben könnte, da jeder Patient nach der KMT einen ganz individuellen Verlauf zeigte. Weitere umfangreichere Untersuchungen mit größeren Patientenzahlen sind nötig, um einen möglichen Einfluss der medikamentös verursachten Hepatotoxizität auf die IGF-Faktoren und deren Bindungsproteine zu sichern.

5.3.2 Einfluss der Nierenerkrankung auf die IGF-Faktoren

Patzer et al. untersuchten verschiedene spezifische Nierenparameter bei 137 knochenmarktransplantierten Patienten aus unserem Hause. Hierbei zeigte sich, dass bereits 50-60% aller Patienten vor der Konditionierung einen proximal tubulären Nierenschaden aufwiesen. Wobei nach der Konditionierung nahezu alle Patienten betroffen waren [136]. Erstaunlicherweise korrelierte die Schwere der Nephrotoxizität nach der Konditionierung nicht mit dem Ausmaß der Schädigung vor Konditionierung. Dies deutet auf eine individuelle Therapieempfindlichkeit des einzelnen Patienten hin.

Ein bis zwei Jahre nach Stammzelltransplantation war noch in 14-45% aller Fälle eine tubuläre Dysfunktion zu finden [137]. Einige Parameter, wie zum Beispiel die tubuläre Phosphat-Reabsorption (Tp/Cl(cr)), wiesen zwei Jahre nach Transplantation signifikant niedrigere Werte im Vergleich zum ersten Jahr nach Transplantation auf. Eine durch Konditionierung verursachte glomeruläre Schädigung konnte in keiner dieser Untersuchungen aufgezeigt werden.

Die Niere ist ein Ziel für zirkulierende und für lokal produzierte IGF-Faktoren [36,57]. Beide Typen der IGF-Rezeptoren konnten in der Niere nachgewiesen werden [71]. In weiteren Untersuchungen konnten neben dem Einfluss der IGF-Faktoren auf die glomeruläre Filtrationsrate auch eine Wirkung auf den proximal tubulären Transportprozess beschrieben werden [78,141]. Bei chronischen Nierenerkrankungen sowie beim nephrotischen Syndrom finden sich erhöhte IGFBP-Werte [69,178]. Als Ursache werden eine verminderte renale Filtration und eine erhöhte hepatische Produktion angesehen. Es wird vermutet, dass die erhöhten IGFBP-Serumkonzentrationen die IGF-Aktivität an den Zielzellen durch Konkurrenz um den IGF-I-Rezeptor hemmen können.

Somit scheint sich durch den bereits beschriebenen tubulären Schädigungsmechanismus der Konditionierung ein möglicher Erklärungsansatz für die Veränderungen der IGF-Faktoren bei KMT-Patienten zu ergeben.

5.3.3 Einfluss der Glukokortikoidtherapie auf die IGFs und die IGFbps

Im folgendem sollte der Einfluss der Medikation nach KMT auf das IGF-System unter der besonderen Berücksichtigung der Glukokortikoidtherapie diskutiert werden. Die Kortikoide wurden in dieser Arbeit unter einem besonderen Gesichtspunkt hervorgehoben, da alle Patienten nach KMT eine Glukokortikoidtherapie erhalten hatten. Hingegen unterschieden sich z.B. die angewandten Konditionierungs-Therapien über dem Erfassungszeitraum von etwa 10 Jahren (1990-2000) hinsichtlich ihrer Chemotherapeutika und Bestrahlungsintensität. Auch die GvHD-Prophylaxe zeigte bei den einzelnen Patienten zum Teil deutliche Unterschiede hinsichtlich der Kortikoidtherapiedauer. Aufgrund dieser Differenz der eingesetzten Protokolle war ein Bezug der einzelnen Chemotherapeutika auf die IGFs und IGFbps nur schwer möglich.

Die Glukokortikoide hemmen das Zellwachstum und die Zellproliferation. Gleichzeitig induzieren sie auch die Zelldifferenzierung, wie z.B. die von Knochenmarkzellen und Osteoblasten [132]. Der exakte Wirkmechanismus ist bis heute noch nicht geklärt.

Im Gegensatz dazu ist auch bekannt, dass die IGF-I- und IGF-II-Serumproteine unter anderem das Wachstum von Osteoblasten und anderen Zelllinien stimulieren und die Expression von Matrixproteinen fördern [34, 104]. Somit ist es wahrscheinlich, dass sich die Glukokortikoide und die IGF-Faktoren sich wechselseitig beeinflussen. So konnte von Cheng et al. mittels Untersuchungen an humanen preosteoblastischen Zelllinien des Knochenmarks gezeigt werden, dass durch die Verabreichung von Dexamethason die Konzentration von IGF-I vermindert und die des IGF-II sich deutlich erhöht wird [34]. Da neben den IGFs auch die Bindungsproteine eine entscheidende Rolle für das Zellwachstum und -differenzierung einnehmen, war auch deren mögliche Beteiligung, Ziel klinischer Studien. Dabei zeigten sich erhöhte Konzentrationen von IGFBP-2 und von IGF-II nach Dexamethasonsubstitution [34]. Auch in tierexperimentellen Studien an Ratten konnte eine Verminderung der IGF-I-Freisetzung aus der Leber nach Kortikoidtherapie bestätigt werden [65]. Andererseits konnte von Jonsson et al. gezeigt werden, dass die wachstumsfördernde Wirkung des IGF-I trotz Hydrokortisonbehandlung von Osteoblasten überwiegt [86]. Auch bei den von uns untersuchten Patienten könnte sich durch eine Glukokortikoidtherapie ein vermindertes Zellwachstum in den ersten Wochen nach KMT in erniedrigten IGF-I-Konzentrationen und erhöhten IGFBP-2-Konzentrationen widerspiegeln. Der Abfall des IGF-I bzw. der Anstieg des IGFBP-2 bis zum 6. Monat nach KMT lässt sich mit diesen Mechanismen nur schwer erklären, da die Kortikoidtherapie z.B. im Rahmen der GvHD-Prophylaxe bereits zu einem früheren Zeitpunkt beendet wurde.

All diese Ergebnisse legen nahe, dass neben den bereits erwähnten Einflussfaktoren wie z.B. Nieren- und Lebererkrankungen auch die Kortikoidtherapie mit in die Interpretation der Ergebnisse einfließen sollten. Zu berücksichtigen ist hierbei, dass das untersuchte Patientenkollektiv kein einheitliches Kortikoidtherapieschema aufwies, da die individuellen Indikation verschiedene Therapieansätze zur Folge hatten. In wieweit eine Kortikoidtherapie nach KMT die Serumkonzentrationen der IGFs und IGFBPs nach KMT beeinflusst konnte bis heute noch nicht abschließend geklärt werden. Offen bleibt auch, ob nach dem Ausschleichen der Kortikoidtherapie das zuvor unterdrückte Zellwachstum in einen Proliferationsüberschuss der neugebildeten Blutzellen umschlägt und somit einem Erklärungsansatz für die Veränderungen des IGF-Systems bietet.

5.3.4 Einfluss der Infektionserkrankung auf die IGFs und die IGFBPs

Infektionen führen ebenso wie maligne Erkrankungen zu einer katabolen Stoffwechsellage. Dabei kommt es zu erhöhtem Protein und Energieverbrauch, sowie zu Veränderungen der Mobilisation der Fettspeicher und der Glukoneogenese [91]. Studien konnten einen Zusammenhang zwischen kataboler Stoffwechsellage und Veränderungen der IGF-Serumkonzentrationen feststellen [7]. So fanden Argente et al. bei Untersuchungen an Kindern mit Katabolie bei Anorexia nervosa deutlich erniedrigte IGF-I-Serumkonzentrationen. Gleichzeitig waren die IGFBP-2-Werte im Vergleich zu gesunden Kontrollkindern erhöht [6]. Schwere Infektionen –bei denen es häufig zu einer katabolen Stoffwechsellage kommt– zeigen vergleichbare Veränderungen der insulinähnlichen Wachstumsfaktoren. Patienten mit einer Sepsis wiesen eine deutliche IGF-I Verminderung auf [128]. Patienten mit ausgeprägten Verbrennungen zeigten ebenso eine IGF-I Verminderung [98]. Als Ursache wird vor allen von einer erhöhten proteolytischen Aktivität des IGFBP-3 ausgegangen [2]. In einer Studie um Lang et al. zeigten gesunde Versuchspersonen nach einer Endotoxininjektion (E.coli-Lipopolysaccharide) bereits zwei Stunden nach Injektion eine Verminderung der IGF-I-Konzentrationen um bis zu 20%. Gleichzeitig konnte eine Erhöhung der IGFBP-1- und IGFBP-2-Serumkonzentrationen nachgewiesen werden [99]. Diese Veränderungen waren von Konzentrationserhöhungen der Faktoren TNF- α , Interleukin-6 und Glukokortikoiden begleitet. Dagegen zeigte das IGFBP-3 keine Veränderung.

Die ausgeprägte Immunsuppression, die nachhaltige Störung der Barrierefunktion der gastrointestinalen Mukosa und die Graft-versus-Host-Reaktion machen Patienten nach KMT in der unmittelbaren Posttransplantationsphase überaus anfällig für Infektionen. In circa einem Drittel der Fälle treten unmittelbar nach KMT septische Komplikationen auf. Das Risiko für ein Sepsissyndrom scheint nach der Überwindung der vollständigen Knochenmarks-Aplasie – um den 10.-19. Tag – am Höchsten zu sein [164].

In unseren Untersuchungen wurden als Modell neben den bereits erwähnten Leukämiepatienten auch Kinder ohne maligne Erkrankungen, aber mit akuten Infektionserkrankungen auf ihre Wachstumsfaktoren hin untersucht. Sowohl die Kinder mit Virusinfektionen als auch Patienten, die an einer bakteriellen Infektion erkrankt waren, lagen mit ihren IGF-I, IGF-II und IGFBP-3-Serumkonzentrationen im unteren Normbereich. Im Gegensatz dazu konnten deutlich erhöhte IGFBP-2- Serumkonzentrationen aufgezeigt werden. Vor allem Patienten mit Rotaviren- oder Salmonelleninfektion wiesen um ein

Vielfaches über der Norm liegende IGFBP-2-Konzentrationen auf. Im Gegensatz dazu scheint eine Streptokokkeninfektion -laut unseren Untersuchungen- keinen unmittelbaren Einfluss auf die IGF-Faktoren und deren Bindungsproteine zu besitzen. Weiterhin scheinen virale Infektionen noch zu deutlich höheren IGFBP-2-Serumkonzentrationen im Vergleich zu bakteriellen Infektionen zu führen. Allerdings reichen die relativ geringen Fallzahlen noch nicht für eine definitive Aussage aus.

Die ausgeprägtesten Veränderungen der IGFBP-2-Werte zeigten sich bei gastrointestinalen Infektionen. Eine experimentelle Studie an intestinalen Epithelzellen um Corkins et al. konnte zeigen, dass eine Zunahme der Zellzahl mit einer erhöhten IGF-II und IGFBP-2-Produktion einhergeht [42]. Die intestinalen Epithelzellen könnten bei Infektionen des Gastrointestinaltraktes reaktiv mit einer erhöhten IGFBP-2-Produktion auf die Entzündung antworten. Damit wäre ein möglicher Erklärungsansatz für den IGFBP-2-Konzentrationsanstieg bei Infektionen des Gastrointestinaltraktes gegeben.

Allerdings sind gastrointestinale Infektionen wie zum Beispiel Rotavireninfektionen nicht spezifisch für Kinder mit onkologischer Grunderkrankung. Dagegen zählen die Infektionen mit Varicella zoster Viren neben den Herpes simplex Viren und Cytomegalie Viren zu den häufigsten und gefürchteten Erkrankungen in der Phase der Immunsuppression. Da die Infektionen mit HSV und CMV bei nicht immunsupprimierten Patienten meist klinisch inapparent verlaufen, ist es schwierig zum Zeitpunkt der Infektion Untersuchungen an einer hohen Patientenzahl durchzuführen.

Der genaue Entstehungsmechanismus für die Veränderungen der IGFs und IGFBP-2 im Zusammenhang mit Infektionen ist bis zu heutigen Zeitpunkt noch nicht exakt aufgeklärt. Am Ehesten scheint dieser multifaktoriell zu sein. Eine Immunaktivierung könnte einen möglichen Erklärungsansatz bieten [97]. Insbesondere ist bisher nicht geklärt, ob die IGF-Veränderungen bei viralen bzw. bakteriellen Infektionen durch die gleichen Mechanismen verursacht werden oder ob Viren bzw. Bakterien über jeweils einen eigenen Aktivierungsmechanismus verfügen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Veränderungen des IGF-Systems (vor allem des IGFBP-2) bei Leukämiepatienten nicht nur allein auf das maligne Wachstum und metabolischen Effekte zurückzuführen sind, sondern auch andere Einflüsse wie opportunistische Infektion bei der Interpretation dieser Faktoren mit berücksichtigt werden sollten. Bei der Bewertung der Ergebnisse der IGF-Faktoren und deren Bindungsproteine am 100.Tag nach KMT im Hinblick auf eine Rezidiventstehung müsste auch eine gegebenenfalls vorhandene Infektionserkrankungen zu diesem Zeitpunkt berücksichtigt werden.

6. Zusammenfassung

Das GH/IGF-System spielt eine wichtige Rolle für das Wachstum, sowie für die Organentwicklung und Gewebedifferenzierung. Neben den IGFs sind auch IGF-Bindungsproteine, spezifische Proteasen und membranassoziierte Rezeptoren mit in die Regulation des IGF-Systems integriert. In der Zirkulation sind die IGFs zum überwiegenden Teil an spezifische Bindungsproteine gebunden. Die Wirkung und Bioverfügbarkeit der IGFs wird durch die Bindungsproteine moduliert. Sowohl in der Fetalzeit als auch während des malignen Wachstums konnte eine vermehrte Expression von IGF-Faktoren sowie von IGF-Bindungsproteinen nachgewiesen werden.

In dieser Arbeit wurde ein komplexer Überblick über die Rolle der IGF und IGFBP im Serum bei Kindern mit malignen Erkrankungen gegeben. Dafür wurden die Faktoren zum einen bei Diagnosestellung (Manifestationsgruppe) und zum anderen nach KMT (KMT-Gruppe) untersucht. Ein besonderes Augenmerk wurde auf das Verhalten des IGF-Systems nach KMT gelegt. Auf der Grundlage der untersuchten Parameter wurden die Unterschiede zwischen Rezidiv- und Nicht-Rezidivpatienten herausgearbeitet, um so eine mögliche Aussage hinsichtlich des Rezidivrisikos treffen zu können.

In dieser Studie wurden insgesamt 95 Kinder mit einer malignen Erkrankung (44 Patienten bei Diagnosestellung; 51 Patienten nach KMT) untersucht. Die Serumkonzentrationen von IGF-I, IGF-II sowie IGFBP-3 und IGFBP-2 wurden radioimmunologisch bestimmt.

Bei der Auswertung der Daten der Manifestationsgruppe, in der sich neben Leukämiepatienten auch Patienten mit soliden Tumoren und Lymphomen befanden, zeigte sich, dass von den untersuchten Faktoren zum Zeitpunkt der Diagnosestellung vor allem das IGFBP-2 deutliche Veränderungen aufwies. Insbesondere bei Leukämiepatienten zeigten sich signifikant erhöhte IGFBP-2-Werte, die zum Teil deutlich über dem Referenzbereich von +2 SDS lagen, während das IGF-I und IGFBP-3 zum überwiegenden Teil im unteren Normbereich zu finden war. Keine signifikanten Abweichungen konnten für das IGF-II nachgewiesen werden. Patienten mit soliden Tumoren (vor allem mit einem Rhabdomyosarkom und Osteosarkom) zeigten neben den erhöhten IGFBP-2-Konzentrationen auch über dem Normbereich liegende IGF-II-Serumkonzentrationen. Für Lymphompatienten konnten bis auf erhöhte IGFBP-2-Werte keine weiteren Abweichungen gefunden werden.

Aus diesem Grunde wurden in den folgenden Untersuchungen der KMT-Gruppe ausschließlich Leukämiepatienten (mit AML und ALL) auf ihre IGF und IGFBP zu verschiedenen Zeitpunkten nach KMT über einen Zeitraum von 18. Monaten untersucht, um

einen eventuellen Zusammenhang zwischen den genannten Faktoren und den Langzeitergebnissen, beziehungsweise dem Rezidivrisiko festzustellen.

In der Gruppe der KMT-Patienten konnte sowohl für AML- als auch für ALL-Patienten im zeitlichen Verlauf bis zum 100.Tag ein Anstieg der IGFBP-2-Serumkonzentrationen mit einem Maximum am 100.Tag und zugleich ein Abfall der IGF-I und IGFBP-3-Konzentrationen mit einem Minimum am 100.Tag gefunden werden. Kinder mit einer AML erreichten im Median höhere IGFBP-2- und niedrigere IGF-I- und IGFBP-3-Konzentrationen im Vergleich zu ALL-Patienten. Bei den Untersuchungen der IGF-Faktoren hinsichtlich des Rezidivrisikos nach KMT zeigten sich bei AML-Patienten am 100. Tag für das IGFBP-2 und das IGFBP-3 signifikante Unterschiede zwischen Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten. Im zeitlichen Verlauf wurde deutlich, dass während die IGFBP-2-Serumkonzentrationen bei Rezidivpatienten kontinuierlich bis zum Rezidiv anstiegen, die entsprechenden Werte der Nicht-Rezidivpatienten nach dem 6. Monat kontinuierlich abfielen und um den 18.Monat wieder ihren Ausgangswert erreichten. Die IGF-I und IGFBP-3-Werte ergaben ein entgegengesetztes Bild. ALL-Patienten wiesen im Vergleich zu AML-Patienten im zeitlichen Verlauf geringere Unterschiede zwischen Rezidiv und Nicht-Rezidivpatienten auf. Signifikante Unterschiede konnten für Kinder mit akuter lymphatischer Leukämie nicht gefunden werden.

In der Literatur wurden verschiedene Einflussfaktoren auf das IGF-System beschrieben. Neben der GvHD gehören Infektionen zu den häufigsten Komplikationen nach KMT. Exemplarisch wurden 26 Patienten ohne maligne Grunderkrankung die ausschließlich an akuten Infektionen erkrankt waren bezüglich ihrer IGF-Parameter untersucht. Sowohl bakterielle als auch virale Infektionen wiesen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung erhöhte IGFBP-2-Serumkonzentrationen und im unteren Normbereich liegende IGF-I- und IGFBP-3-Konzentrationen auf. Vor allem bei Infektionen des Gastrointestinaltraktes zeigten sich IGFBP-2-Werte die ein Vielfaches über der Norm lagen. Signifikante Abweichungen vom Referenzbereich konnten aufgrund der relativ geringen Fallzahlen nicht nachgewiesen werden.

Abschließend lässt sich sagen, dass Veränderungen des IGF-Systems bei den verschiedenen malignen Erkrankungen im Kindesalter eine Rolle spielen. Insbesondere bei Kindern mit akuten Leukämien finden sich zum Teil sehr deutliche Veränderungen, wobei es besonders beim IGFBP-2 zu den stärksten Veränderungen kommt. Anhand dieser Ergebnisse lässt sich sagen, dass Kinder mit einer akuten Leukämie, speziell mit einer AML, die am 100.Tag nach KMT deutlich erhöhte IGFBP-2-Serumkonzentration (über 5 SDS) aufweisen und gleichzeitig

im unteren Normbereich liegende IGFBP-3-Serumkonzentrationen zeigen, ein erhöhtes Rezidivrisiko besitzen. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass Infektionserkrankungen ebenfalls einen Einfluss auf die Konzentrationen der IGF-Faktoren und IGF-Bindungsproteine im Serum besitzen. Bei der Bewertung der Ergebnisse der IGF- und IGFBP-Serumkonzentrationen bei malignen Erkrankungen sollte eine mögliche Infektion ausgeschlossen werden. In wie weit diese Ergebnisse Rückschlüsse auf die Langzeitprognose von kindlichen Malignomen zulassen bzw. ob Aussagen hinsichtlich des Zeitpunkts einer eventuellen Rezidiventwicklung möglich sind, kann zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht abschließend beurteilt werden und sollte in weiteren Untersuchungen weiter verfolgt werden.

Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1 Verteilung der Diagnosen und die Anzahl der Patienten der Manifestations-Gruppe
- Abb. 2 Verteilung der Diagnosen und die Anzahl der Patienten der KMT-Gruppe
- Abb. 3 Verteilung der Diagnosen und die Anzahl der Patienten der Infektionsgruppe-Gruppe
- Abb. 4 Untersuchungszeitpunkte der KMT-Gruppe im zeitlichen Verlauf
- Abb. 5 Serumkonzentrationen von IGF-I zum Zeitpunkt der Diagnosestellung (männliche Patienten)
- Abb. 6 Serumkonzentrationen von IGF-I zum Zeitpunkt der Diagnosestellung (weibliche Patienten)
- Abb. 7 Serumkonzentrationen von IGF-II zum Zeitpunkt der Diagnosestellung
- Abb. 8 Serumkonzentrationen von IGFBP-2 zum Zeitpunkt der Diagnosestellung
- Abb. 9 Serumkonzentrationen von IGFBP-3 zum Zeitpunkt der Diagnosestellung (männliche Patienten)
- Abb. 10 Serumkonzentrationen von IGFBP-3 zum Zeitpunkt der Diagnosestellung (weibliche Patienten)
- Abb. 11 IGF-I-Serumkonzentrationen (in SDS) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung
- Abb. 12 IGF-II-Serumkonzentrationen (in SDS) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung
- Abb. 13 IGFBP-2-Serumkonzentrationen (SDS) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung
- Abb. 14 IGFBP-3-Serumkonzentrationen (in SDS) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung
- Abb. 15 Serumkonzentrationen von IGF-I zum Zeitpunkt vor der KMT (männliche Patienten)
- Abb. 16 Serumkonzentrationen von IGF-I zum Zeitpunkt vor der KMT (weibliche Patienten)
- Abb. 17 Serumkonzentrationen von IGF-II zum Zeitpunkt vor der KMT
- Abb. 18 Serumkonzentrationen von IGFBP-2 zum Zeitpunkt vor der KMT
- Abb. 19 Serumkonzentrationen von IGFBP-3 zum Zeitpunkt vor der KMT (männliche Patienten)
- Abb. 20 Serumkonzentrationen von IGFBP-3 zum Zeitpunkt vor der KMT (weibliche Patienten)
- Abb. 21 Verlauf der Serumkonzentrationen (in SDS) von IGF-I nach der KMT
- Abb. 22 Verlauf der Serumkonzentrationen (in SDS) von IGF-II nach der KMT
- Abb. 23 Verlauf der Serumkonzentrationen (in SDS) von IGFBP-2 nach der KMT
- Abb. 24 Verlauf der Serumkonzentrationen (in SDS) von IGFBP-3 nach der KMT
- Abb. 25 Die IGF-I Serumkonzentrationen (in SDS) der AML-Patienten im zeitlichen Verlauf bei Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten

- Abb. 26 Die IGF-II Serumkonzentrationen (in SDS) der AML-Patienten im zeitlichen Verlauf bei Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten
- Abb. 27 Die IGFBP-2 Serumkonzentrationen (in SDS) der AML-Patienten im zeitlichen Verlauf bei Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten
- Abb. 28 Die IGFBP-3 Serumkonzentrationen (in SDS) der AML-Patienten im zeitlichen Verlauf bei Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten
- Abb. 29 Die IGF-I Serumkonzentrationen (in SDS) der ALL-Patienten im zeitlichen Verlauf bei Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten.
- Abb. 30 Die IGF-II Serumkonzentrationen (in SDS) der ALL-Patienten im zeitlichen Verlauf bei Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten
- Abb. 31 Die IGFBP-2 Serumkonzentrationen (in SDS) der ALL-Patienten im zeitlichen Verlauf bei Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten
- Abb. 32 Die IGFBP-3 Serumkonzentrationen (in SDS) der ALL-Patienten im zeitlichen Verlauf bei Rezidivpatienten und Nicht-Rezidivpatienten
- Abb. 33 Zusammenhang der Serumkonzentrationen von IGF-I und IGF-II der KMT-Gruppe
- Abb. 34 Zusammenhang der Serumkonzentrationen von IGF-I und IGFBP-3 der KMT-Gruppe
- Abb. 35 Zusammenhang der Serumkonzentrationen von IGF-II und IGFBP-3 der KMT-Gruppe
- Abb. 36 Zusammenhang der Serumkonzentrationen von IGF-I und IGFBP-2 der KMT-Gruppe
- Abb. 37 Serumkonzentrationen von IGF-I in Abhängigkeit zum Alter (Infektionsgruppe; männliche Patienten)
- Abb. 38 Serumkonzentrationen von IGF-I in Abhängigkeit vom Alter (Infektionsgruppe; weibliche Patienten)
- Abb. 39 Serumkonzentrationen von IGF-II in Abhängigkeit vom Alter (Infektionsgruppe)
- Abb. 40 Serumkonzentrationen von IGFBP-2 in Abhängigkeit vom Alter (Infektionsgruppe)
- Abb. 41 Serumkonzentrationen von IGFBP-3 in Abhängigkeit vom Alter (Infektionsgruppe; männliche Patienten)
- Abb. 42 Serumkonzentrationen von IGFBP-3 in Abhängigkeit vom Alter (Infektionsgruppe; weibliche Patienten)
- Abb. 43 IGF-I-Serumkonzentrationen (in SDS) von Patienten mit Infektionserkrankungen
- Abb. 44 IGF-II-Serumkonzentrationen (in SDS) von Patienten mit Infektionserkrankungen

Abb. 45 IGFBP-3-Serumkonzentrationen (in SDS) von Patienten mit Infektionserkrankungen

Abb. 46 IGFBP-2-Serumkonzentrationen (in SDS) von Patienten mit Infektionserkrankungen

Abb. 47 Modell für das IGF-System und die Rolle der IGF-BPs

Tab. 1: Charakteristika der IGF-BPs (modifiziert nach Kiess et al.) [4]

Tab. 2: Patientencharakteristik der Gruppe 1

Tab. 3: Patientencharakteristik der Gruppe 2

Tab. 4: Patientencharakteristik der Infektionspatienten

Tab. 5: Untersuchungszeitpunkte der KMT-Gruppe

Tab. 6: Übersicht über die Konditionierung

Tab. 7: IGF-I-SDS-Werte der Manifestationsgruppe

Tab. 8: IGF-II-SDS-Werte der Manifestationsgruppe

Tab. 9: Signifikanzprüfung (p-Werte, IGF-II-SDS-Werte der Manifestationsgruppe)

Tab.10: IGFBP-2-SDS-Werte der Manifestationsgruppe

Tab.11: Signifikanzprüfung (p-Werte, IGFBP-2-SDS-Werte der Manifestationsgruppe)

Tab.12: IGFBP-3-SDS-Werte der Manifestationsgruppe

Tab.13: Signifikanzprüfung (p-Werte, IGFBP-3-SDS-Werte der Manifestationsgruppe)

Tab.14: Mittelwertsvergleich von IGF-I,-II sowie IGFBP-2,-3 zum Ausgangswert zu verschiedenen Zeitpunkten nach KMT bei **AML**-Patienten

Tab.15: Abweichung des IGFBP-2 vom Normbereich (± 2 SDS) zu verschiedenen Zeitpunkten.

Tab.16: Vierfeldertafel: IGFBP-2-SDS Werte: Anzahl der AML-Patienten am 100.Tag nach KMT

Tab.17: Vierfeldertafel: IGFBP-3-SDS Werte: Anzahl der AML-Patienten am 100.Tag nach KMT

Tab.18: Vergleich der SDS-Werte im Median bei AML-Patienten mit Rezidiv / ohne Rezidiv

Tab.19: Abweichung des IGFBP-2 von 2 (SDS) zu verschiedenen Zeitpunkten

Tab.20: IGFBP-2-SDS-Werte der Infektionspatienten

Literaturverzeichnis

1. Aaronson S: Growth factors and cancer, *Science* 254: 1146-1153; 1991
2. Abribat T, Nedelec B, Jobin N, Garrel DR: Decreased serum insulin-like growth factor-I in burn patients: relationship with serum insulin-like growth factor binding protein-3 proteolysis and the influence of lipid composition in nutritional support, *Crit Care Med* 28: 2366-2372; 2000
3. Adan L, Souberbielle JC, Bpauner R: Diagnostic markers of permanent growth hormone deficiency, *J Clin Endocrinol Metab* 78: 353-358; 1994
4. Alter CA, Thornton PS, Willi SM, Bunin N, Bunin T, Moshang J: Growth in Children after Bone marrow transplantation for Acute Myelogenous Leukemia as compared to Acute Lymphocytic Leukemia, *J Pediatr Endocrinol Metab* 9: 51-57; 1996
5. Arai T, Bushy WH, Clemmons DR: Binding of insulin-like growth factors (IGF)-I or-II to IGF-binding protein-2 enables it to bind to heparin and extracellular matrix, *Endocrinology* 137: 4571-4575; 1996
6. Argente J, Caballo N, Barrios V, Munoz MT, Pozo J, Chowen JA, Hernandez M: Disturbances un growth hormone-insulin-like growth factor axis in children and adolescents with different eating disorders, *Horm Res* 48: 16-18; 1997
7. Argente J, Caballo N, Barrios V, Pozo J, Munoz MT, Chowen JA, Hernandez M: Multiple endocrine abnormalities of the growth hormone and insulin-like growth factor axis in prepubertal children with exogenous obesity: effect of short- and long-term weight reduction, *J Clin Endocrinol Metab* 82: 2076-2083; 1997
8. Assy N, Hochberg Z, Amit T: growth hormone-stimulated insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3 in liver cirrhosis, *J Hepatol* 27: 796-802; 1997
9. Attard-Montalo SP, Camacho-Hubner C, Cotterill AM, D'Souza-Li L, Daley S, Bartett K, Halliday D, Eden OB: Changes in proteinturnover, IGF-I and IGF binding proteins in children with cancer, *Acta Paediatr* 87: 54-60; 1998
10. Ballard F, Baxter R, Binoux M: On the nomenclature of the IGF binding proteins, *Acta Endocrinol Copenh* 121: 751-752; 1989
11. Ballauff A, Krahe J, Jansen B, Ross RS, Roggendorf H, Harvers W: Chronic liver disease after treatment of malignancies in children, *Klin Padiatr* 211: 49-52; 1999

12. Ban P, Eriksion U, Sara V, Wivall I, Hall K: Comparison of acid ethanol extraction and gel filtration prior to IGF-1 and IGF-2 radioimmunoassays: Improvement of determination in acid ethanol extracts by the use of truncated IGF as radioligand, *Acta Endocrin* 124: 620-629; 1991
13. Barreca A, Minuto F: Somatomedins: Chemical and functional characteristics of the different molecular forms, *J Endocrinol Invest* 12: 279-283; 1989
14. Barrios V, Buno M, Pozo J, Munoz MT, Argente J : Insulin-like growth factor binding protein-2 levels in pediatric patients with growth hormone deficiency, eating disorders and acute lymphoblastic leucemia, *Horm Res* 53: 221-227; 2000
15. Baxter RC: Insulin-like growth factor binding proteins in the human circulation, a review. *Horm Res* 42: 140-144; 1994
16. Baxter RC: Molecular aspects of insulin-like growth factor binding proteins. In Le Roith D, ed. *Advances in Molecular and Cellular Endocrinology*. Greenwich, JAI Press : 123-159; 1997
17. Baxter RC: The somatomedins; Insulin-like growth factors, *Avd Clin Chem* 25: 49-115; 1986
18. Bennett AE, Wahner HW, Rigg BL: Insulin-like growth factor-II and -II: ageing and bone density in women, *J Clin Endocrinol Metab* 59: 701-704; 1984
19. Bereket A, Wilson TA, Kolasa AJ, Fan J, Lang CH: Regulation of insulin-like growth factor system by acute acidosis, *J Endocrinol* 137: 2238-2245; 1996
20. Blum WF, Beier: Radioimmunoassays for IGFs and IGFBPs, Third International Symposium on Insulin-like Growth Factors Sydney, Australia, February, 1994
21. Blum WF, Horn N, Kratzsch J, Jorgensen JO, Juul A, Teale D, Mohnike K, Ranke MB: Clinical studies of IGFBP-2 by Radioimmunoassay, *Growth Regul.* 3: 100-104; 1993
22. Blum WF, Ranke MB, Kietzmann K, Gauggel E, Zeisel HJ, Bierich JR: A specific radioimmunoassay for the growth hormone (GH)-dependent somatomedin-binding protein, its use for diagnosis of GH-deficiency, *J Clin Endocrinol Metab* 70: 1292-1298; 1990
23. Blum WF, Ranke MB, Kietzmann K: Growth hormone resistance and inhibition of somatomedin activity by excess of insulin-like growth factor binding protein in uremia, *Pediatr Nephrol* 5: 539-544; 1991
24. Blum WF: Insulin-like growth factors and their binding protein. IN *Functional endocrinologic diagnostics in children and adolescents*, edited by Ranke MB, J&J Verlag Mannheim, pp. 102118; 1992

25. Bramani S, Allan GJ, Beattie J: Characterisation of the IGF axis in a rat liver-derived epithelial cell line, *Growth Horm IGF Res* 9: 425-433; 1999
26. Brandshaw SL, D'Ecrole JA, Han VKM: Overexpression of Insulin-like growth factor-binding protein-2 in C6 glioma cells results in conditional alteration of cellular growth, *Endocrinol* 140: 575-584; 1999
27. Briggs WA, Han SH, Miyakawa H, Burdick JF, Kwon HM: Effects of glucocorticoids and cyclosporine on IL-2 and IL2 kappa B alpha mRNA expression in human peripheral blood mononuclear cells, *J Clin Pharmacol* 39: 119-124; 1999
28. Buckbinder L, Talbott R, Velasco-Miguel S: Induction of the growth inhibitor IGF-binding protein-3 by p53, *Nature* 377: 646-512; 1995
29. Cahill DP, Lengauer C, Yu J, Riggins GJ, Willson JKV, Markowitz SD, Kinzler KW and Vogelstein B: Mutations of mitotic checkpoint genes in human cancer, *Nature* 392: 300-303; 1998
30. Carlens S, Aschn J, Remberger M, Dilber MS, Ringden O: Low-dose cyclosporin of short duration increases the risk of mild and moderate GvHD and reduces the risk of relapse in HLA-identical sibling marrow transplant recipient with leukaemia, *Bone Marrow Transplant* 24: 629-635; 1999
31. Chan JM, Stamper MJ, Giovannucci E, Gann PH, Ma G; Wilkinson P; Hennekens CH, Pollak M: Plasma Insulin-like Growth factor-I and prostate cancer risk: A prospective study, *Science* 279: 563-566; 1998
32. Chappell SA, Walsh T, Walker RA, Shaw JA: Loss of heterozygosity at the mannose 6-phosphate insulin-like growth factor 2 receptor gene correlates with poor differentiation in early breast carcinomas, *Br J Cancer* 76: 1558-1561; 1997
33. Chard T: Insulin-like growth factor and their binding proteins in normal and abnormal human fetal growth, *Growth Regul* 4: 91-100; 1994
34. Cheng SL, Zhang SF, Mohan S, Lecanda F, Fausto A, Hunt AH, Canalis E, Avioli LV: Regulation of Insulin-like growth factors-I and -II and their binding proteins in human bone marrow stromal cells by Dexamethasone, *J Cell Biochem* 71: 449-458; 1998
35. Chin E, Michels K, Bondy C: Partition of Insulin-like growth factor (IGF) binding between the IGF-I and IGF-II receptors and IGF-binding proteins in the human kidney, *J Clin Endocrinol Metab* 78: 156-164; 1994
36. Chin E, Zhou J, Baxter RC, Bondy CA: Cellular localisation and regulation of gene expression for components of Insulin-like growth factor ternary binding protein complex, *Endocrinology* 134: 2498-2504; 1994

37. Christofori G, Naik P, Hanahan D: A second signal supplies by insulin-like growth factor II in oncogene-induced tumorigenesis, *Nature* 369: 414-417 ;1994
38. Cicognani A, Cacciari E, Pession A, Pasini A, De Iasio R, Gennari M, Alvisi P, Pirazzoli P: Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein-3 (IGFBP-3) concentration compared to stimulated growth hormone (GH) in the evaluation of children treated for malignancy, *J Pediatr Endocrinol Metab* 12: 629-638; 1999
39. Clemmons DR, Jones JJ, Busby WH: Role of Insulin-like growth factor binding protein in modifying IGF actions, *Ann N Y Acad Sci* 692: 10-21; 1993
40. Clemmons DR: Insulin-like growth factor binding proteins: role in regulating IGF physiology, *J Dev Physiol* 15: 105-110; 1991
41. Cohen P: Serum Insulin-like growth factor-I levels and prostate cancer risk-interpreting the evidence, *J Nat Cancer Inst* 90: 876-879; 1998
42. Corkins MR, Park JH, Davis DV, Slentz DH, MacDonald RG: Regulation of insulin-like growth factor axis by increase cell number in intestinal epithelial (IEC-6) cells, *Growth Horm IGF Res* 9: 414-424; 1999
43. Creutzig U, Zimmermann M, Ritter J, Henze G, Graf N, Löffler H, Schellong G: Definition of a standard risk group in children with AML, *Br J Hematol* 104: 630-639; 1999
44. Crofton PM, Ahmed SF, Wade JC, Stephen R, Elmlinger MW, Ranke MB, Kelnar CJH, Wallace WHB: Effects of intensive chemotherapy on bone and collagen turnover and the growth hormone axis in children with acute lymphoblastic leukemia, *J Clin Endocrinol and Metab* 83: 3121-3129; 1998
45. Czech MP: Signal transmission by the insulin-like growth factors, *Cell* 59: 235-240; 1989
46. D'Ecrole AJ, Insulin-like growth factor and their receptors in growth, *Endocrinol Metab Clin* 25: 573-590; 1996
47. D'Ecrole AJ, Stiles AD, Underwood LE: Tissue concentration of somatomedin C: future evidence for multiple sites of synthesis and paracrine or autocrine mechanisms of action, *Proc Nat Acad Sci USA* 81: 935-939; 1984
48. Daughaday WH, Deufel TF: Tumor secretion of growth factors, *J Endocrinol Metab Clin North Am* 20: 539-563; 1991
49. Daughaday WH, Hall K, Raben MS, Salmon WD, Brande JL, Wyk JJ van: Somatomedin: proposed for sulphation factor, *Nature* 235:107; 1972

50. Daughaday WH, Maritz IK, Blethen SL: Inhibition of access of bound somatomedin to membrane and immunobinding sites: a comparison of radioreceptor and radioimmunoassay of somatomedin in native and acid-ethanol-extracted serum, *J Clin Endocrinol Metab* 51:781-788; 1980
51. Daughaday WH, Rotwein P: Insulin-like growth factor-I and -II peptide messenger ribonucleic acid and gene structures, serum and tissue concentration, *Endocr Rev* 10: 68-90; 1989
52. Dolken G: Detection of minimal residual disease, *Adv Cancer Res* 82: 133-185; 2001
53. Dulak NC, Tewmin HM: A partially purified polypeptide fraction from rat liver cell conditioned medium with multiplication-stimulating activity for embryo fibroblasts, *J Cell Physiol* 81: 153-160; 1973
54. El-Bardy OM, Romanus JA, Helman LJ: Autonomous growth of a human neuroblastoma cell line is mediated by insulin-like growth factor II, *J Clin Invest* 84: 829-839; 1989
55. Elmlinger M, Wimmer K, Biemer E, Blum WF, Ranke MB, Dannecker GE: Insulin-like growth factor binding protein-2 is differentially expressed in Leukaemic B- and T-cell lines, *Growth Regul.* 6: 152-157; 1996
56. Elmlinger MW, Deininger MH, Schuett BS, Meyermann R, Duffner F, Grote EH, Ranke MB: In vivo expression of Insulin-like growth factor-binding protein-2 in human gliomas increases with the tumor grade, *Endocrinol* 142:1652-1658; 2001
57. Evan AP, Henry DP, Connors BA, Summerlin P, Lee WH: Analysis of insulin-like growth factors (IGF)-I and -II, Type-II IGF-receptor and IGFBP-2 mRNA and peptide levels in normal and nephrectomized rat kidney, *Kidney Int* 48: 1517-1529; 1995
58. Ferry RJ, Liu B, Cohen P: New Roles for IGF binding proteins, *Endocrine* 9: 438-450; 1999
59. Flyvbjerg A, Morgensen O, Morgensen Nielsen OS: Elevated serum insulin-like growth factor-binding protein-2 (IGFBP-2) and decreased IGFBP-3 in epithelial ovarian cancer: correlation with cancer antigen 125 and tumor-associated trypsin inhibitor, *J Clin Endocrinol Metab* 82: 2308-2313; 1997
60. Föll JL, Dannecker L, Zehrer C, Hettmer S, Berger J, Elmlinger M, Niethammer D, Ranke MB, Dannecker GE: Activation-dependent expression of the Insulin-like growth factor-binding protein-2 in human lymphocytes, *Immunology* 94: 173-180; 1998
61. Forbes BE, Hartfield P, Surinya K, Mc Neil KA, Wallace JC, Milner SJ, Francis GL, Occidoro F, Cosgove LJ: Analysis of IGF-I and -II analogue binding to the Type-1-Rezeptor and correlation to ability to inhibit apoptosis, *Internat. Symposium "IGFs and Cancer"* in Halle, (Abstract); 2000

62. Froesch T, Burgi H, Ramseier BD: Antibody-suppressible and nonsuppressible insulin-like activities in human serum and their physiologic significance. An insulin assay with adipose tissue of increased precision and specificity, *J Clin Invest* 42: 1816-1834; 1963
63. Frostad S, Bruserud O: In vitro effects of insulin-like growth factor-1 (IGF-I) on proliferation and constitutive cytokine secretion by acute myelogenous leukemia blasts, *Eur J Haematol* 62: 191-198; 1999
64. Frystyk J, Skjaerbaek C, Dinensen: Free Insulin-like growth factors (IGF-I and IGF-II) in human serum, *FEBS Lett* 348: 185-191; 1994
65. Gayan-Ramirez G, Vanderhoydonc F, Verhoeven G, Decramer M: Acute Treatment with corticosteroids decreases IGF-I and IGF-II expression in rat diaphragm and gastrocnemius, *Am J Respir Crit Care Med* 159: 283-289; 1999
66. Giovannucci E: Insulin-like growth factor-I and binding protein-3 and risk of cancer, *Horm Res* 51: 34-41; 1999
67. Gucev ZS, Oh Y, Kelly KM, Rosenfeld RG: Insulin-like growth factor binding protein-3 mediates retinoic acid-and transforming growth factor beta2-induced growth inhibition in human breast cancer cells, *Cancer Res* 56: 1545-1550; 1996
68. Guler HP, Zapf J, Schmid C, Froesch ER: Insulin-like growth factors-I and -II in healthy man. Estimations of half-life and production rates. *Acta Endocrinol Copenh* 121: 753-758; 1989
69. Haffner D, Tönshoff B, Blum WF, Vickers M, Siebler T, Cronin MJ, Baxter RC, Mehls O: Insulin-like growth factors (IGFs) and IGF binding proteins, serum acid-labile subunit and hormone binding protein in nephrotic children, *Kindney Int* 52: 802-810; 1997
70. Hall K: Quantitative determination of sulphation factor activity in human serum, *Acta Endocrinol Copenh* 63: 338-350; 1970
71. Hammerman MR, Rogers SA: Distribution of IGF receptors in the plasma membrane of proximal tubular cells, *Am J Physiol* 253: 841-847; 1987
72. Hankinson SE, Willett WC, Colditz GA, Hunter DJ, Michaud DS, Deroo B, Rosner B, Speizer FE, Pollak M: Circulating concentration of insulin-like growth factor-I and risk of breast cancer, *Lancet* 315:1393 – 1396; 1998
73. Hattori H, Matasuzaki A, Suminoe A, Ihara K, Eguchi M, Tajiri T, Suita S, Ishii E, Hara T: Genomic Imprinting of Insulin-like growth factor-2 in infant Leukemia and childhood neuroblastoma, *Cancer* 88: 2372-2377; 2000

74. Hembree JR, Agarwal C, Beard RL, Chandraratna RA, Eckert R: Retinoid X receptor-specific retinoids inhibit the ability of retinoic acid receptor-specific retinoids to increase the level of insulin-like growth factor binding protein-3 in human ectocervical epithelial cells, *Cancer Res* 56: 1794-1799; 1996
75. Henze G: Leukämien; In: *Krebs bei Kindern und Jugendlichen*, Gutjahr (Hrsg), Deutscher Ärzte Verlag Köln 199-233; 1993
76. Hill DJ, Clemmons DR, Riley SC: Immunohistochemical localisation of Insulin-like growth factors (IGFs) and IGF-binding proteins-1, -2, -3 in human placenta and fetal membranes, *Placenta* 14:1-12; 1993
77. Hintz RL: The somatomedins, *Adv. Pediatr* 28: 293-317; 1981
78. Hirschberg R, Kopple JD: Evidence that IGF-I increases renal plasma flow and glomerular filtration rate in fasted rats. *J Clin Invest* 83: 326-330; 1989
79. Ho PJ, Baxter RC: Insulin-like growth faktor-binding protein-2 in patients with prostate carcinoma and benign prostatic hyperplasia, *Clin Endocrinol* 46: 333-342; 1997
80. Hoeflich A, Fettscher O, Lahm H, Wolf E, Weber MM: Overexpression of IGFBP-2 enhances the tumorigenic potential in adrenocortical tumor cells. Identification of target genes, *Internat. Symposium "IGFs and Cancer"* in Halle a. d. Saale, (Abstract), 2000
81. Holt RIG, Crossey PA, Jones JS, Baker AJ, Portmann B, Miell JP: Hepatic growth hormone receptor, insulin-like growth factor -I, and insulin like growth factor binding protein messenger RNA expression in paediatric liver disease, *Hepatology* 26: 1600-1606; 1997
82. Hossenlopp P, Seurin D, Segovia-Quinson B: Analysis of Insulin-like growth factor binding proteins using western blotting: use of the method of titration of the binding proteins and competitive studies, *Anal Biochem* 154: 138; 1986
83. Hwa V, Oh Y, Rosenfeld RG: The Insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) Superfamily, *Endocrine Reviews* 20: 761-787; 1999
84. Johnson EW, Jones LA, Kozak RW,: Expression and function of insulin-like growth factor receptors on anti-CD3-activated human T-lymphocyte, *J Immunol* 148: 63-66; 1992
85. Jones J, Clemmons D: Insulin-like growth factors and their binding proteins; biological actions, *Endocr Rev* 16: 3-34; 1995

86. Jonsson KB, Ljunghall S, Karlström O, Johansson AG, Mallmin H, Ljunggren Ö: Insulin-like growth factors-I enhance the formation of type I collagen in hydrocortisone treated human osteoblasts, *Biosci Rep* 13: 297-302; 1993
87. Jorgenson JO, Müller N, Moller J: Insulin-like growth (IGF)-I and -II and IGF binding protein -1, -2, -3 in patients with acromegaly before and after adenoectomy, *Metabolism* 43: 583-590; 1994
88. Juul A, Dalgaard P, Blum WF, Bang P, Hall K, Michaelsen KF, Müller J, Skakkebaek NE: Serum levels of Insulin-like growth factors (IGF)- binding protein-3 in healthy infants, children and adolescents: The relation to IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-2, age, sex, Body Mass Index and pubertal malnutrition, *J Clin Endocrinol Metab* 80: 2534-2542; 1995
89. Kaatsch P, Kaletsch U, Michaelis J: Jahresbericht 1996 des Deutschen Kinderkrebsregisters, Technischer Bericht des ISMD, Universität Mainz, 1993
90. Kennedy HF, Morrison D, Kaufmann ME, Jackson MS, Bagg J, Gibson BE, Gemmell CG, Michie JR: Origins of staphylococcus epidermidis and streptococcus oralis causing bacteraemia in a bone marrow transplant patient, *J Med Microbiol* 49: 367-370; 2000
91. Kien CI and Camitta BM, Close association of accelerated rates of whole body protein turnover (synthesis and breakdown) and energy expenditure in children with newly diagnosed acute lymphocytic leukemia, *J Parenter Enteral Nutr* 11: 129-134; 1987
92. Klapper DG, Svoboda ME, Wyk JJ: Sequence analysis of somatomedine C: confirmation of identity with insulin-like growth factor-I, *Endocrinol* 112: 2215; 1983
93. Klempt M, Hutchins AM, Gluckman PD, Skinner SJM: Insulin-like growth factor binding protein-2 gene expression and the location of IGF-I and IGF-II in fetal rat lung, *Development* 115: 765-772; 1992
94. Knechtli CJ, Goulden NJ, Hancock JH, Harris EL, Garland RJ, Jones CG, Grandage VL, Potter MN: Minimal residual disease status as a predictor of relapse after allogenic bone marrow transplantation for children with acute lymphoblastic leukaemia, *Brit J Haematol* 102: 860-871; 1998
95. Kogut MD, Kaplan SD, Shimizu CS: Growth retardation: use of sulfation factor as a bioassay for growth hormones, *Pediatrics* 31: 538-551; 1999
96. Lang CH, Fan J, Frost RA, Gelato MC, Sakurai Y, Herndon DN, Wolfe RR: Regulation of the insulin-like growth factor system by insulin in burn patients, *J Clin Endocrinol Metab* 81: 2474-2480; 1996
97. Lang Ch, Fan J, Wojnar MM, Vary TC, Cooney R: Role of central IL-1 in regulating peripheral IGF-I during endotoxemia and sepsis, *Am J Physiol* 274: 956-962; 1998

98. Lang CH, Liu X, Nystrom GJ, Frost RA: Acute response of IGF-I and IGF binding proteins induced by thermal injury, *Am J Physiol Endocrinol Metab* 278: E 1087-1096; 2000
99. Lang CH, Pollard V, Fan J, Traber LD, Traber DL, Forst RA, Gelato MC, Prough DS: Acute alteration in growth hormone-insulin-like growth factor axis in human injected with endotoxin, *Am J Physiol* 273:R 371-8; 1997
100. Leal SM, Liu O, Huang SS, Huang JS: The type V transforming growth factor beta receptor is the putative Insulin-like growth factor binding protein-3 receptor, *J Biol Chem* 272: 20572-20576; 1997
101. Lee PD, Rosenfeld RG, Wilson DM, Hintz RL: Insulin-like growth factors I and II in evaluation of growth retardation, *J Pediatr* 109: 428-433; 1986
102. Lee PD, Rosenfeld RG: Clinical utility of Insulin-like growth factor assays, *Pediatrician* 14: 154-161; 1987
103. Legrand F, Berrebi D, Houhou N, Freymuth F, Faye A, Duval M, Mougenot JF, Peuchmaur M, Vilmer E: Early diagnosis of adenovirus infection and treatment with cidofovir after bone marrow transplantation in children, *Bone Marrow Transplant* 27: 621-626; 2001
104. Linkhart TA, Mohan S, Baylink DJ: Growth factors for bone and repair: IGF, TGF β and BMP, *Bone* 19: 1-12; 1996
105. Mac Donald RG, Pfeffer SR, Coussens L: A single receptor binds Insulin-like growth factor-II and insulin mannose phosphat, *Science* 239: 1134-1136; 1988
106. Marron A, Carratala J, Gonzalez-Barca E, Fernandez-Sevilla A, Alcaide F, Gudiol F: Serious complications caused by viridans streptococci in neutropenic patients with cancer, *Clin Infect Dis* 31: 1126-1130; 2000
107. Martin DM, Singelton JR, Meghani MA: IGF-receptor function and regulation in autocrine human neuroblastom cell growth, *Regul Peptides* 48: 225-232; 1993
108. Meldgaard Knudsen L, Jensen L, Gaarsdal E, Nikolaisen K, Johnson HE: A comparative study of sequential priming and mobilisation of progenitor with rhG-CSF alone and high-dose cyclophosphamide plus rhG-CSF. *Bone Marrow Transplant* 26: 717-722; 2000
109. Melino G, Knight RA, Thielen CJ: New insight on the biology of neuroektodermal tumor, *Cancer Res* 43: 926-928; 1993
110. Menouny M, Binoux M, Babajako S: IGFBP-2 expression in a human cell line is associated with increased IGFBP-3 proteolysis, decreased IGFBP-1 expression and increased tumorigenicity, *Int J Cancer* 77: 874-879; 1998

111. Menouny M, Binoux M, Bajako S: Role of insulin-like growth factor binding protein-2 and its limited proteolysis in neuroblastoma cell proliferation: modulation by transforming growth factor- β and retinoic acid, *Endocrinology* 138: 683-90; 1997
112. Miell JP, Zini M, Quin JD: Reversible effects of cessation and recommencement of thyroxine treatment on insulin-like growth factors (IGFs) and binding proteins in patients with total thyroidectomy, *J Clin Endocrinol Metab* 79 : 1507-1512; 1994
113. Miles L, Lipschitz D, Bilber C, Cook J: Measurement of Ferritin by a Two-Site-Immunoradiometric-Assay, *Ann Biochem* 61: 209-224; 1974
114. Minniti CP, Kohn EC, Grubb JH, Sly WS, Oh Y, Muller HL, Rosenfeld RG, Helman LJ: The Insulin-like growth factor II (IGF-II)/mannose 6-phosphate receptor mediates IGF-II induced mortality in human rhabdomyosarcoma cells, *J Biol Chem* 267: 9000-9004; 1992
115. Miraki-Mound F, Jenkins PJ, Fairclough PD, Jordan S, Bustin SA, Jones AM, Lowe DG, Monson JP, Grossman AB, Besser GM, Camacho-Hubner C: Increased levels of insulin-like growth factor binding protein-2 in sera and tumours from patients with colonic neoplasia with and without acromegaly, *Clin Endocrinol* 54: 499-508; 2001
116. Mohan S, Baylink DJ: Insulin-like growth factors (IGF) –binding proteins in serum – Do they additional roles beside modulating the endocrine IGF actions, *J Clin Endocrinol Metab* 81: 3817-3820; 1996
117. Mohnike K, Kluba U, Mittler U, Aumann V, Vorwerk P, Blum WF: Serum concentration of insulin-like growth factors (IGF)-I and -II and insulin-like growth factor binding proteins (IGFBP)-2 and IGFBP-3 in 49 children with ALL, NHL or solid tumors, *Klin Pädiatr* 207-225; 1995
118. Mohnike KL, Kluba U, Mittler U: Serum levels of insulin-like growth factor-I, -II and insulin-like growth factor binding proteins-2 and -3 in children with acute lymphoblastic leucemia, *Eur J Pediatr* 155: 81-86; 1996
119. Morgan DO, Gray A, Tam AW: Insulin-like growth factor-II receptor as a multifunctional binding protein, *Nature* 329: 301-309; 1987
120. Müller HL, Oh Y, Gargaowsky SE, Lernbecher T, Hintz RL, Rosenfeld RG: Insulin-like growth factor binding protein-3 concentration and Insulin-like growth factor binding protein-3 protease activity in sera of patients with malignant solid tumors or leukaemia, *Pediatr Res* 35:720-724; 1994
121. Müller HL, Oh Y, Lernbecher T: Insulin-like growth binding protein-2 concentration in cerebrospinal fluid and serum of children with malignant solid tumors or acute leucemia, *J Clin Endocrinol Metab* 79: 428-434; 1994

122. Munker R, Salat C, Pihusch R, Diem H, Hiller E, Glass J, Kolb HJ, Yu H: Levels of insulin-like growth factor after stem cell transplantation, *Eur J Med Res* 6: 181-184; 2001
123. Nedic O, Nikolic JA, Hajdukovic-Dragojlovic L, Todorovic V, Masnikosa R: Alterations of IGF-binding proteins in patients with alcoholic liver cirrhosis, *Alcohol* 21:223-9; 2000
124. Nissley P, Kiess W: Reciprocal modulation of binding of lysosomal enzymes and insulin-like growth factor-II (IGF-II) to the mannose-6-phosphate/IGF-II receptor. In: *Molecular biology and physiology of insulin and insulin-like growth factors*, Raizeka (ed) 311-326; Plenum Press New York
125. Nivolet S, Benelli C, Clot JP, Sauce C, Adan L, Souberbielle JC, Zucker JM, Rappaport R, Brauner R: Nonparallel changes of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor binding protein-3 and GH-binding protein after craniospinal irradiation and chemotherapy, *J Clin Endocrinol Metab* 78: 597-601; 1994
126. Nordquist AC, Peyrard M, Peyrard M, Pettersson H, Mathiesen T, Collins VP, Dumanski JP, Schalling M: A high ratio of insulin-like growth factor binding protein 2 messenger RNA as a marker for anaplasia in meningiomas, *J Cancer Res* 57: 2611-2614; 1997
127. O'Conner R: Survival factors and apoptosis, *Adv Biochem Eng Biotechnol* 62: 137-166; 1998
128. O'Lary MJ, Quinton N, Ferguson CN, Preedy VR, Ross RJ, Hinds CJ: In rats with sepsis, the acute fall in IGF-I is associated with an increase in circulating growth hormone-binding protein levels, *Int Care Med* 26: 1547-1552; 2000
129. Oberghen E: Signaling through the insulin receptor and the insulin-like growth factor-I receptor, *Diabetologia* 37: 125-134; 1994
130. Oh Y, Müller HL, Lamson G, Rosenfeld GR: Insulin-like growth factor (IGF)-independent action of IGFBP-3 in Hs578T human breast cancer cells: cell surface binding and growth inhibition, *J Biol Chem* 268: 14964-14971; 1993
131. Okan A, Comlekci A, Akpınar H, Okan I, Yesil S, Tankurt E, Simsek I: Serum concentration of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 in patients with chronic hepatitis, *Scand J Gastroenterol* 35: 1212-1215; 2000
132. Okazaki R, Riggs BL, Conover CA : Glucocorticoid regulation of insulin-like growth factor-binding protein expression in normal human osteoblast-like cells, *Endocrinology* 134: 126-132; 1994
133. Oksenberg D, Diekmann BS, Greenberg PL: Functional interaction between colony-stimulating factors and the insulin family hormones for human myeloid leukemic cells, *Cancer Res* 50: 6471-6474; 1990

134. Omazic B, Nasman-Bjork I, Johansson J, Hentschke P, Mattsson J, Lundkvist I: Altered expression of receptors for thyroid hormone and insulin-like growth factor-I during reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, *Bone Marrow Transplant* 27: 1163-1171; 2001
135. Ormarsdottir S, Ljunggren O, Mallmin H, Olofsson H, Blum WF, Loof L: Circulating levels of insulin-like growth factors and their binding proteins in patients with chronic liver disease: lack of correlation with bone mineral density, *Liver* 21: 123-128; 2001
136. Patzer L, Hempel L, Ringelmann F, Misselwitz J, Fuchs D, Zintl F, Brandis M, deBroe ME, Zimmerhackl LB: Renal function after conditioning therapies for bone marrow transplantation in childhood, *Med Pediatr Oncol* 28:247-263; 1997
137. Patzer L, Ringelmann F, Kentoche K, Fuchs D, Zintl F, Brandis M, Zimmerhackl LB, Misselwitz J: Renal function in long-term survivors of stem cell transplantation in childhood. A prospective trial, *Bone Marrow Transplant* 27: 319-327; 2001
138. Perry SS, Kim M, Spangrude GJ: Direct effects of cyclosporin A on proliferation of hematopoietic stem and progenitor cells, *Cell Transplant* 8: 339-344; 1999
139. Pia Z, Choi Y, Park C, Lee WJ, Park JH, Ki, H: Deletion of the M6P/IGF2r gene in primary hepatocellular carcinoma, *Cancer Letters* 120: 39-43; 1997
140. Podraza W and Podraza: Childhood leukaemia relapse risk factors. A rough sets approach, *Med. Inform* 24: 91-108; 1999
141. Quigley R, Baum M: Effects of growth hormone and Insulin-like growth factor-I on rabbit proximal convoluted tubule transport, *J Clin Invest* 88: 368-374; 1991
142. Rajah R, Khare A, Lee PDK, Cohen P: Insulin-like growth factor binding protein-3 is partially responsible for high-serum-induced apoptosis in PC-3 prostate cancer cells, *J Endocrinol* 163: 487-494; 1999
143. Ranke MB, Elmlinger M: Functional role of Insulin-like growth factor binding proteins, *Horm Res* 48: 9-15; 1997
144. Rappaport R, Souberbielle JC, Benelli C: Growth hormone/ insulin like growth factor-I axis in children treated for brain tumours: relationship to chemotherapy and nutrition, *Acta Paediatr* 411: 37-39; 1995
145. Rechler MM, Nissley SP: Insulin-like growth factor somatomedin subtypes: structure, function and relationships to insulin receptors and IGF carrier proteins, *Hormone Res* 24: 152-156; 1986
146. Rechler MM: Insulin-like growth factor binding proteins, *Vit Horm* 47: 112-114; 1993

147. Reeve JG, Brinkmann A, Hughes S: Expression of Insulin-like growth factor (IGF) and Insulin-like growth factor binding protein genes in human tumor cell lines, *J Natl Cancer Inst* 84: 628-634; 1992
148. Rehault S, Monget P, Mazerbourg S, Tremblay R, Gutman N, Gauthier F, Moreau T: Insulin-like growth factor-binding proteins (IGFBPs) as potential physiological substrates for human kallikreins hK2 and hK3, *Eur J Biochem* 268: 2960-2968; 2001
149. Reiter A, Schrappe M, Parwresch, Henze G, Müller-Weihrich S, Suater S, Sykora KW, Ludwi WD, Gadner H, Riehm H: Non-Hodgkin's Lymphomas of childhood and adolescence: results of a treatment stratified for biologic subtypes and stage - a report of Berlin-Frankfurt-Munster Group, *J Clin Oncol* 13: 359-372, 1995
150. Ren-Qui Q, Ruelicke T, Hassam S: Systemic effects of insulin-like growth factor-II produced and released from Wilm's tumor tissue, *Eur J Pediatr* 152: 102-106; 1993
151. Ridolfi L, Barisone E, Vivenza C, Prever A, Leone L, Miniero R: Toxicity of high dose methotrexate repeated infusions in children treated for acute lymphoblastic leukaemia and osteosarcoma, *Minerva Pediatr* 48: 193-200; 1996
152. Rinderknecht E, Humbel RE: Polypeptide with nonsuppressible insulin-like and cell-growthpromoting activities in human serum: isolation, chemical characterisation and some biological properties of I and II, *Proc Nat Acad Sci USA* 73: 2365-2369; 1976
153. Rinderknecht E, Humbel RE: Primary structure of human Insulin-like growth factor-II, *FEBS Lett* 89: 283-286; 1978
154. Rinderknecht E, Hummel RE: The aminoacid sequence of human Insulin-like growth factor-I and the structural homology with proinsulin, *J Biol Chem* 253: 2769-2776; 1978
155. Roberts WM, Estrov Z, Oupenskaia MV, Johnston DA, McClain KL, Zipf TF: Measurement of residual leukemia during remission in childhood acute lymphoblastic leukemia, *N Engl J Med* 336: 317-323; 1997
156. Rodriguez-Galindo C, Poquette CA, Daw NC, Than M, Meyer WH, Cleveland JL: Circulation Concentration of IGF-I and IGFBP-3 are not predictive of incidence or clinical behavior of pediatric osteosarkoma, *Med Pediatr Oncol* 36: 605-611; 2001
157. Rosenfeld RG, Albertson-Wikland K, Casserola F, Fraiser SD, Hasegawa Y, Hintz RL, LaFranchi S, Lippe B, Loriaux L, Melmed S, Preece MA, Ranke MB, Reiter EO, Rogol AD, Underwood LE, Werther GA: Diagnostic controversy: the diagnosis of childhood growth hormone deficiency revisited, *J Clin Endocrinol Metab* 80: 1532-1540; 1995

158. Rozen F, Zhang J, Pollak M: Antiproliferative action of tumor necrosis factor- α on MCF-7 breast cancer cells is associated with increased insulin-like growth factor binding protein-3 accumulation, *Int J Oncol* 13: 865-869; 1998
159. Rubnitz JE, Look AT: Molecular genetics of childhood leucemias, *J Pediatr Hematol Oncol* 20: 1-11; 1998
160. Rutu T, Volin L, Parkkali T, Juvonen E, Elonen E: Cyclosporine, methotrexate and methylprednisolone compared with cyclosporine and methotrexate for the prevention of graft-versus-host disease in bone marrow transplantation from HLA-identical sibling donor: a prospective randomised study, *Blood* 96: 2391-2398; 2000
161. Saito H, Fukatsu K, Ming-Tsan L, Fukushima R, Muto T: Growth hormone and immune response to bacterial infection, *Horm Res* 45: 50-4; 1996
162. Sakatani T, Shimazaki C, Hirai H, Okano A, Hatsuse M, Okamoto A, Takahashi R, Ashihara E, Inaba T, Yokota H, Nakahara K, Hira K, Nakagawa M: Early relapse after high-dose chemotherapy rescued by tumor-free autologous peripheral blood stem cells in acute lymphoblastic leukemia: importance of monitoring of WT1 mRNA quantitatively, *Leuk Lymphoma* 42: 225-229; 2001
163. Salmon WD, Daughaday WH: A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro, *J Lab Clin Med* 49: 825-836; 1957
164. Sauer M, Tiede K, Volland R, Fuchs D, Zintl F: Procalcitonin im Vergleich zum C-reaktiven Protein als Marker für septische Krankheitsverläufe bei schweren immunsupprimierten Kindern nach Knochenmarktransplantation, *Klin Pädiatr* 21: 10-15; 2000
165. Scharla SH, Lempert UG, Ziegler R: Diagnostic significance of determining Insulin-like growth factor (IGF)-binding proteins (IGFBPs), *Klin Lab* 40: 327-332; 1994
166. Schrappe M, Reiter A, Ludwig WD, Harbott J, Zimmermann M, Hidmann W, Niemeier C, Henze G, Feldges A, Zintl F, Kornhuber B, Ritter J, Welte K, Gardner H, Riehm H: Improved outcome in childhood acute lymphoblastic leukaemia despite reduce of anthracyclines and cranial radiotherapy: results of trial ALL-BFM 95 German-Austrian-Swiss ALL-BFM-Group, *Blood* 95: 3310-3322; 2000
167. Schütz J, Kalesch U, Meinert R, Kaatsch P, Michaelis J: Association of childhood leucemia with factors related to the immune system, *Br J Cancer* 80: 585-590; 1999
168. Schwander J, Mary JL: The RIA for IGFBP-2 in man – a meagre catch? *Growth Regul* 3: 104-108; 1993

169. Schwanter JC, Hauri C, Zapf, Froesch ER: Synthesis and secretion of Insulin-like growth factor and its binding protein by perfused rat liver depends on growth hormone status, *Endocrinol* 113: 297-305; 1993
170. Severson RK, Ross JA: The causes of leukemia, *Curr Opin Onc* 11:20-24; 1999
171. Shimasaki S, Ling N: Identification and molecular characterization of Insulin-like growth factor binding proteins (IGFBP -1, -2, -3, -4, -5, -6), *Prog Growth Factor Res* 1: 243-266; 1991
172. Small TN, Papadopoulos EB, Boulad F, Young JW, O'Reilly RJ: Comparison of immune reconstitution after unrelated and related T-cell-depleted bone marrow transplantation: effect of patients age and donor leukocyte infusions, *Blood* 15: 467-480; 1999
173. Smith WJ, Nam TJ, Underwood LE, Busby WH, Celnick A, Clemons DR: Use of insulin-like growth factor binding protein-2 (IGFBP-2), IGFBP-3 and IGF-I for assessing growth hormone status in short children, *J Clin Endocrinol Metab* 77: 1294-1299; 1993
174. Stewart CEH, Rotwein P: Growth, differentiation and survival: multiple physiological functions for insulin-like growth factors, *Physiol Rev* 76: 1005-1026; 1996
175. Strasser-Vogel B, Blum WF, Past R, Kessler U, Hoeflich A, Meiler B, Kiess W: Insulin-like growth (IGF)-I and -II and IGF-binding proteins in children and adults, *J Clin Endocrinol Metab* 80: 1207-1213; 1995
176. Sulahian A, Boutboul F, Ribaud P, Leblanc T, Lacroix C, Derouin I: Value of antigen detection using an enzyme immunoassay in diagnosis and prediction of invasive aspergillosis in two adult and pediatric hematology units during a 4-year prospective study, *Cancer* 91: 311-318; 2001
177. Thomas X, Frenaux P, Dombret H, Delair S, Dreyfus F, Tilly H, Vekhoff A, Cony-Makhoul P, Leblond V, Troussard X, Cordonnier C, Stoppa AM, Janvir M, Bordessoule D, Rousselot P, Marie JP, Archimbaud E: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) to increase efficacy of intensive sequential chemotherapy with etoposide, mitoxantron, cytarabine(EMA) in previously treated acute myeloid leukaemia: a randomized placebo-controlled trial (EMA91 Trial), *Leukemia* 13:1214-1220; 1999
178. Tönshoff B, Blum WF, Mehls O: Serum insulin-like growth factors and their binding proteins in children with end-stage renal disease, *Pediatr Nephrol* 10: 269-274; 1996
179. Uderzo C: Indication and role of allogeneic bone marrow transplantation in childhood very risk acute lymphoblastic leukaemia in first complete remission, *Haematologica* 85: 9-11; 2000
180. Ullrich A, Gray A, Tam AW: Insulin-like growth factor-I receptor primary structure: comparison with insulin receptor suggest structural determinants that define functional specificity, *EMBO J* 4: 2503; 1986

181. Valentinis B, Bhala A, DeAngelis T, Baserga R, Cohen P: The human Insulin-like growth factor (IGF) inhibits the growth of fibroblasts with targeted disruption of IGF-I receptor gene, *Mol Endocrinol* 9: 361-367; 1995
182. Voigt W, Müller T, Grothey A, Dempke W, Wolf HH, Schmoll HJ: The importance of the IGF-system for cell proliferation, apoptosis and chemoresistance, *Internat. Symposium "IGFs and Cancer"* in Halle, (Abstract), 2000
183. Walton RC, Reed KL: Herpes zoster ophthalmicus following bone marrow transplantation in children, *Bone Marrow Transplant* 23: 1317-1320; 1999
184. Wetterau LA, Moore MG, Lee KW, Shim ML, Cohen P: Novel aspects of Insulin-like growth factor binding proteins, *Mol Gen and Matab* 68: 161-181; 1999
185. Wex H, Vorwerk P, Mohnike KL: Elevated serum levels of IGFBP-2 found in children suffering from acute leucaemia is accompanied by the occurrence of IGFBP-2 mRNA in the tumor clone, *Brit J Cancer* 78: 515-520; 1998
186. Woods WG, Neudorf S, Gold S, Sanders J, Buckley JD, Barnard DR, Dusenbery K, DeSwarte J, Arthur DC, Lange BJ, Kobrin N: A comparison of allogeneic bone marrow transplantation, autologous bone marrow transplantation, and aggressive chemotherapy in children with acute myeloid leukemia in remission, *Blood* 1: 56-62; 2001
187. Wyk JJ, Underwood LE: The somatomedins and their action. In: Litwak G (ed) *Biochem action of hormones*, Academic Press Inc, New York 5: 101; 1978
188. Yu H, Mistry J, Nicar MJ: Insulin-like growth factors (IGF-I, free IGF-I and IGF-II) and insulin-like growth factor binding proteins (IGFBP-2, IGFBP-3, IGFBP-6 and ALS) in blood circulation, *J Clin Lab Analy* 13: 166-172; 1999
189. Yu H, Spitz MR, Mistry J, Gu J, Hong WK, Wu X: Plasma levels of insulin-like growth factor-I and lung cancer risk: a case control analysis, *J Natl Cancer Inst* 91: 151-156; 1999
190. Zander AR, Berger C, Kroger N, Stockshlader M, Kruger W, Horstmann M, Grimm J, Zeller W, Kabisch H, Erttmann R, Schonrock P, Kuse R, Braumann D, Illinger HJ, Fiedler W, de Witt M, Hossfeld KD, Weh HJ: High dose chemotherapy with busulfan, cyclophosphamide, and etoposide as conditioning regimen for allogeneic bone marrow transplantation for patients with acute myeloid leukemia in first complete remission, *Clin Cancer Res* 3: 2671-2675; 1997
191. Zintl S: Wachstumsverlauf bei Kindern nach Knochenmarkstransplantation unter Einbeziehung der IGF-I und IGFBP-3 Analytik und Betrachtung verschiedener Therapieregime, Promotion an der FSU Jena; 1998

192. Zumkeller W, Burdach S: Insulin-like growth factor system in normal and malignant hematopoietic cells, *Blood* 94: 3653-3657; 1999
193. Zumkeller W, Schwanter J, Mitchell CD, Morell DJ, Schofield PN, Preece MA: Insulin-like growth factor (IGF)-I, -II and IGF binding protein-2 in the plasma of children with Wilm's tumor, *Eur J Cancer* 29: 173-177; 1993
194. Zumkeller W, Westphal M: The IGF/IGFBP system in CNS malignancy, *Mol Pathol* 54:227-222969; 2001

Anhang

Normwerte IGF-I (BioChem ImmunoSystems)

Tab.19: IGF-I Normwerte im Serum für männliche und weibliche Patienten

| Alter | Anzahl | Mittelwert (ng/ml) | SD |
|--------------|---------------|-------------------------------|-----------|
| 0-1 Jahre | 39 | 56,70 | 51,51 |
| 2-3 Jahre | 21 | 52,38 | 35,0 |
| 4-5 Jahre | 22 | 63,17 | 54,52 |
| 6-7 Jahre | 22 | 115,26 | 62,62 |

Tab.20: IGF-I Normwerte im Serum für weibliche Patienten

| <i>Alter</i> | Anzahl | Mittelwert (ng/ml) | SD |
|--------------|---------------|-------------------------------|-----------|
| 8-10 Jahre | 20 | 162,13 | 93,82 |
| 11-12 Jahre | 15 | 279,47 | 127,21 |
| 13-15 Jahre | 28 | 259,45 | 130,39 |
| 16-18 Jahre | 23 | 286,54 | 97,80 |
| 19-30 Jahre | 35 | 239,00 | 91,41 |

Tab.21: IGF-I Normwerte im Serum für männliche Patienten

| <i>Alter</i> | Anzahl | Mittelwert (ng/ml) | SD |
|--------------|---------------|---------------------------|-----------|
| 8-10 Jahre | 18 | 166,27 | 107,95 |
| 11-12 Jahre | 14 | 200,18 | 105,23 |
| 13-15 Jahre | 14 | 254,58 | 70,65 |
| 16-18 Jahre | 13 | 305,03 | 89,29 |

| | | | |
|-------------|----|--------|-------|
| 19-30 Jahre | 65 | 186,31 | 63,96 |
|-------------|----|--------|-------|

Normwerte IGF-II (nach Argente et al. [69])

Tab.22: IGF-II Normwerte im Serum

| Alter | Anzahl | Mittelwert (ng/ml) | SD |
|--------------|---------------|-------------------------------|-----------|
| Neugeborene | 60 | 326,35 | 123,86 |
| 0-2 Jahre | 13 | 380,40 | 112,60 |
| 2-4 Jahre | 16 | 420,50 | 101,30 |
| 4-6 Jahre | 11 | 503,09 | 102,54 |
| 6-8 Jahre | 12 | 579,50 | 132,95 |
| 8-10 Jahre | 23 | 594,08 | 119,12 |
| 10-12 Jahre | 32 | 616,87 | 121,87 |
| 12-13 Jahre | 33 | 650,42 | 136,31 |
| 13-14 Jahre | 34 | 605,17 | 117,74 |
| 14-16 Jahre | 45 | 618,42 | 126,30 |
| 16-18 Jahre | 9 | 593,00 | 126,70 |
| 18-30 Jahre | 8 | 623,50 | 111,34 |

Normwerte IGFBP-2 (nach Argente et al. [69])

Tab.23: IGFBP-2 Normwerte im Serum

| Alter | Anzahl | Mittelwert (ng/ml) | SD |
|--------------|---------------|-------------------------------|-----------|
| Neugeborene | 55 | 1621,10 | 432,70 |
| 0-2 Jahre | 16 | 988,70 | 205,81 |
| 2-4 Jahre | 12 | 783,36 | 194,60 |
| 4-6 Jahre | 11 | 408,91 | 181,31 |
| 6-8 Jahre | 13 | 387,46 | 163,30 |
| 8-10 Jahre | 23 | 290,82 | 121,75 |
| 10-12 Jahre | 34 | 249,91 | 121,75 |
| 12-13 Jahre | 33 | 279,27 | 106,14 |
| 13-14 Jahre | 37 | 287,40 | 147,47 |
| 14-16 Jahre | 47 | 263,08 | 103,51 |
| 16-18 Jahre | 10 | 264,90 | 193,41 |
| 18-30 Jahre | 8 | 197,75 | 57,07 |

Normwerte IGFBP-3 (DSL-6600)

Tab.24: IGFBP-3 Normwerte im Serum für männlich und weibliche Patienten

| <i>Alter</i> | Anzahl | Mittelwert (mg/ml) | SD |
|--------------|---------------|-------------------------------|-----------|
| 0-1 Jahre | 49 | 1,96 | 0,55 |
| 1-2 Jahre | 42 | 2,15 | 0,65 |
| 2-3 Jahre | 28 | 2,23 | 0,61 |
| 3-4 Jahre | 18 | 2,31 | 0,77 |
| 4-5 Jahre | 23 | 2,36 | 0,46 |
| 5-6 Jahre | 19 | 2,67 | 0,55 |
| 6-7 Jahre | 22 | 2,92 | 0,62 |

Tab.25: IGFBP-3 Normwerte im Serum für weibliche Patienten

| <i>Alter</i> | Anzahl | Mittelwert (mg/ml) | SD |
|--------------|---------------|-------------------------------|-----------|
| 7-8 Jahre | 21 | 4,06 | 1,11 |
| 8-9 Jahre | 17 | 3,92 | 0,83 |
| 9-10 Jahre | 25 | 4,44 | 1,02 |
| 10-11 Jahre | 24 | 4,11 | 1,11 |
| 11-12 Jahre | 20 | 4,77 | 1,44 |
| 12-13 Jahre | 23 | 4,71 | 1,66 |
| 13-14 Jahre | 32 | 4,31 | 1,23 |
| 14-15 Jahre | 24 | 4,37 | 1,09 |
| 15-16 Jahre | 23 | 4,44 | 0,94 |
| 16-18 Jahre | 24 | 4,32 | 1,08 |
| 18-20 Jahre | 21 | 4,43 | 1,53 |
| 20-23 Jahre | 28 | 4,66 | 1,44 |

Tab.26: IGFBP-3 Normwerte im Serum für männliche Patienten

| Alter | Anzahl | Mittelwert (mg/ml) | SD |
|--------------|---------------|-------------------------------|-----------|
| 7-8 Jahre | 35 | 2,50 | 1,08 |
| 8-9 Jahre | 22 | 3,54 | 0,65 |
| 9-10 Jahre | 25 | 3,69 | 0,79 |
| 10-11 Jahre | 26 | 3,38 | 1,08 |
| 11-12 Jahre | 26 | 3,50 | 0,87 |
| 12-13 Jahre | 27 | 3,78 | 0,99 |
| 13-14 Jahre | 27 | 4,46 | 1,11 |
| 14-15 Jahre | 20 | 4,65 | 1,52 |
| 15-16 Jahre | 19 | 4,61 | 1,49 |
| 16-18 Jahre | 22 | 4,65 | 1,29 |
| 18-20 Jahre | 22 | 4,93 | 1,22 |
| 20-23 Jahre | 31 | 4,65 | 1,02 |

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 meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

- Prof. Dr. F. Zintl (Klinik für Kinder und Jugendmedizin)
- Prof. Dr. E. Kauf (Klinik für Kinder und Jugendmedizin)
- Frau D. Schlenvoigt (Endokrinologisches Labor, Klinik für Kinder und Jugendmedizin)
- Dr. M. Horn (Institut für Klinische Statistik, Informatik und Dokumentation)
- Frau Dr. A. Brandstädt (Institut für Klinische Statistik, Informatik und Dokumentation)

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

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

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

Jena, den 01.02.2002

.....

(Kristin Dawczynski)

Danksagung

Für die fortwährend sehr gute und intensive Betreuung meiner Arbeit möchte ich Herrn Direktor Prof. Dr. F. Zintl und Prof. Dr. E. Kauf ganz herzlich danken.

Des weiteren möchte ich mich bei Frau D. Schlenvoigt für die Hilfe bei der Durchführung der laborchemischen Tests sowie für die vielen Anregungen bei der Erstellung der vorliegenden Arbeit bedanken.

Weiterhin bedanke ich mich bei Frau I. Schiller für die Unterstützung bei der Erstellung der Patientencharakteristik der KMT-Gruppe.

Frau Dr. A. Brandstädt und Herrn Dr. M. Horn gilt mein spezieller Dank für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Kristin Dawczynski, geb. Daneyko
Anschrift Dietrichweg 6
07749 Jena
Geburtsdatum 14. Januar 1976
Geburtsort Meiningen
Familienstand verheiratet, 2 Kinder (Zwillinge)

Schulbildung

1982 – 1989 Polytechnische Oberschule, Untermaßfeld
1989 – 1995 Kinder- u. Jugendsportschule „Werner-Seelenbinder“ in Berlin
1995 Abitur

Studium

10/1995 bis heute Medizinstudium an der Friedrich-Schiller Universität Jena
09/1997 Physikum
09/1998 1. Staatsexamen
09/2000 2. Staatsexamen
seit 10/2001 Praktisches Jahr (FSU Jena; Pädiatrie, Innere Medizin, Chirurgie)

Famulaturen

02/1998 – 03/1998 Pädiatrie (Krankenhaus am Friedrichshain, Berlin)
08/1998 – 10/1998 Chirurgie (Diakonissenkrankenhaus, Salzburg/Österreich)
02/1999 – 03/1999 Pädiatrie (Tripler Army Medical Center, Hawaii/USA)
07/1999 – 08/1999 Anästhesie (Praxis Dr. Hinsbrock / Dr. Fricke, Jena)
02/2000 – 03/2000 Pädiatrie (Brooke Army Medical Center, SanAntonio, USA)

weitere Qualifikationen/Tätigkeiten

09/1998 – 02/1999 Ausbildung zum Rettungssanitäter
seit 1998 aktive Mitarbeit im Rettungsdienst beim Arbeiter-Samariter-Bund Jena
seit 2001 Mitarbeit in der Rettungsassistentenausbildung (Fachbereich Pädiatrie)
am DRK-Bildungszentrum Jena

Promotion

seit 09/1997 Forschungsarbeit an der Universitäts-Kinderklinik Jena über die Rolle von IGFBP-2 als möglicher Verlaufsparemeter bei malignen Erkrankungen im Kindesalter (unter der Betreuung von Prof. Dr. Zintl u. Prof. Dr. Kauf)