

Aus der Klinik für Hämatologie und Medizinische Onkologie
(Prof. Dr. med. L. Trümper)
im Zentrum Innere Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Retrospektive Analyse der Bedeutung mikroangiopathischer
Veränderungen bei Patienten unter extrakorporaler
Photopherese als Therapie einer GvHD**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Birte-Kristin Gerlach
aus
Hameln

Göttingen 2014

Dekan:

Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

I. Berichterstatter:

Prof. Dr. med. G. Wulf

II. Berichterstatter:

PD Dr. med. J. Riggert

III. Berichterstatter:

Prof. Dr. med. R. Dressel

Tag der mündlichen Prüfung:

22.10.2014

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|------------------------------|--|------------|
| Abbildungsverzeichnis | | III |
| Tabellenverzeichnis | | IV |
| Abkürzungsverzeichnis | | V |
| 1 | Einleitung | 1 |
| 2 | Fragestellung | 11 |
| 3 | Patientenkollektiv und Methodik | 12 |
| 3.1 | Auswahl des Patientenkollektivs | 12 |
| 3.2 | Methodik: Datenerfassung | 13 |
| 3.3 | Methodik: Schweregrad mikroangiopathischer Veränderungen | 13 |
| 3.4 | Methodik: Schweregrad der GvHD | 14 |
| 3.4 | Methodik: Abbildungen, Statistik | 15 |
| 4 | Ergebnisse | 16 |
| 4.1 | Beobachtungszeitraum | 16 |
| 4.2 | Patientencharakteristika | 16 |
| 4.3 | Daten zu besonderen Ereignissen im Langzeitverlauf | 18 |
| 4.4 | Zeichen mikroangiopathischer Veränderungen und das Auftreten einer transplantationsassoziierten Mikroangiopathie nach EBMT-Diagnosekriterien | 18 |
| 4.5 | Häufigkeiten subklinischer mikroangiopathischer Veränderungen im Verlauf nach der Transplantation | 19 |
| 4.6 | Gesamtüberleben in der ECP- und der Kontrollgruppe | 21 |
| 4.7 | Subklinische mikroangiopathische Veränderungen und Gesamtüberleben | 23 |
| 4.8 | Auftretenszeitraum mikroangiopathischer Veränderungen | 26 |
| 4.9 | Risikofaktoren für das Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen | 28 |
| 4.9.1 | Transplantationsmodalitäten | 28 |
| 4.9.2 | Akute GvHD | 31 |
| 4.10 | Analyse der Wirksamkeit extrakorporaler Photopheresen | 32 |
| 4.10.1 | Steroiddosis | 33 |
| 4.10.2 | GvHD-Manifestationen | 35 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 4.11 | Fallberichte zum Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen nach Initiation extrakorporaler Photopheresen | 36 |
| 4.12 | Mikroangiopathische Veränderungen im Zeitraum der ECP-Therapie .. | 38 |
| 5 | Diskussion | 41 |
| 6 | Zusammenfassung | 53 |
| 7 | Literaturverzeichnis | 55 |

Abbildungsverzeichnis

| | | |
|------------------------|--|----|
| <u>Abbildung 1-1:</u> | 8-Methoxypsoralen | 9 |
| <u>Abbildung 1-2:</u> | Prinzip der extrakorporalen Photopherese | 10 |
| <u>Abbildung 4-1:</u> | Verteilung der maximalen Endothelschädigung im gesamten Nachbeobachtungszeitraum | 20 |
| <u>Abbildung 4-2:</u> | Kaplan-Meier-Analyse: Gesamtüberleben in der ECP- und der Kontrollgruppe | 22 |
| <u>Abbildung 4-3:</u> | Kaplan-Meier-Analyse: Gesamtüberleben der Patienten der ECP- und der Kontrollgruppe, Einteilung nach dem höchsten erfassten Schweregrad mikroangiopathischer Veränderungen | 24 |
| <u>Abbildung 4-4:</u> | Zeitpunkt und Häufigkeit der Messung mikroangiopathischer Veränderungen | 27 |
| <u>Abbildung 4-5:</u> | Verteilung der Schweregrade mikroangiopathischer Veränderungen bei verschiedenen Transplantationsmodalitäten | 30 |
| <u>Abbildung 4-6:</u> | Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer akuten GvHD und mikroangiopathischen Veränderungen in der ECP-Gruppe | 31 |
| <u>Abbildung 4-7:</u> | Mittelwert der Steroiddosis im Zeitverlauf der ECP-Behandlung bei allen Patienten und bei Patienten mit längerfristiger Photopherese-Therapie (≥ 6 ECP-Zyklen) | 34 |
| <u>Abbildung 4-8:</u> | Verteilung der Gesamtschweregrade (schwer, mittelgradig und mild) bei Patienten mit chronischer GvHD im Verlauf der Photopherese-Behandlung | 36 |
| <u>Abbildung 4-9:</u> | Fallbericht einer Patientin mit transplantationsassoziiertes TMA nach Initiation der ECP-Therapie | 37 |
| <u>Abbildung 4-10:</u> | Fallbericht eines Patienten mit ausgeprägten mikroangiopathischen Veränderungen nach Initiation der ECP-Therapie ... | 37 |
| <u>Abbildung 4-11:</u> | Verteilung der höchsten aufgetretenen Schweregrade mikroangiopathischer Veränderungen im Verlauf der ECP-Behandlung | 39 |

Tabellenverzeichnis

| | | |
|---------------------|---|----|
| <u>Tabelle 1-1:</u> | Therapie der transplantationsassoziierten thrombotischen Mikroangiopathie | 3 |
| <u>Tabelle 1-2:</u> | Kriterien zur Diagnosestellung einer transplantationsassoziierten TMA | 3 |
| <u>Tabelle 1-3:</u> | Symptomatik der chronischen Graft-versus-Host Disease | 7 |
| <u>Tabelle 1-4:</u> | Gesamtschweregrad der chronischen Graft-versus-Host Disease | 7 |
| <u>Tabelle 1-5:</u> | Therapie der chronischen Graft-versus-Host Disease | 8 |
| <u>Tabelle 3-1:</u> | Bewertungsschema zur Einteilung von Zeichen mikroangiopathischer Veränderungen | 14 |
| <u>Tabelle 4-1:</u> | Patientencharakteristika | 17 |
| <u>Tabelle 4-2:</u> | Daten zu besonderen Ereignissen im Langzeitverlauf | 18 |
| <u>Tabelle 4-3:</u> | Häufigkeiten mikroangiopathischer Veränderungen sowie transplantationsassoziiertes thrombotischer Mikroangiopathien entsprechend den EBMT-Diagnosekriterien | 19 |
| <u>Tabelle 4-4:</u> | Daten zur Anwendung der extrakorporalen Photopherese-Therapie in der ECP-Gruppe des untersuchten Patientenkollektivs | 32 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------------|--|
| ALL | akute lymphatische Leukämie |
| ALT | Alanin-Aminotransferase |
| AML | akute myeloische Leukämie |
| ANOVA | <u>A</u> Nalysis <u>O</u> f <u>V</u> Ariance: Varianzanalyse |
| AP | alkalische Phosphatase |
| aPTT | aktivierte partielle Thromboplastinzeit |
| AST | Aspartat-Aminotransferase |
| cALL | common-ALL: häufige Subgruppe der akuten lymphatischen Leukämie |
| CD | Cluster of Differentiation: Oberflächenmerkmale auf Zellen, z.B. CD52 |
| CLL | chronische lymphatische Leukämie |
| CML | chronische myeloische Leukämie |
| CMV | Zytomegalievirus |
| CNI | Calcineurininhibitor |
| CR | complete remission: Vollremission |
| CRP | C-reaktives Protein |
| CsA | Ciclosporin A |
| DLI | Donorlymphozyteninfusion |
| EBMT | <u>E</u> uropean Group for <u>B</u> lood and <u>M</u> arrow <u>T</u> ransplantation |
| ECP | extracorporeal photopheresis: extrakorporale Photopherese |
| ED | Erstdiagnose |
| GvH(D) | Graft-versus-Host (Disease) |
| HELLP-Syndrom | <u>H</u> aemolysis <u>E</u> levated <u>L</u> iver enzymes <u>L</u> ow <u>P</u> latelets-Syndrom: schwerwiegende, in der Schwangerschaft auftretende Erkrankung |
| HHV-6 | humanes Herpesvirus 6 |

| | |
|----------|--|
| HLA | human leukocyte antigen: Hauptgewebemerkmale |
| HUS | hämolytisch-urämisches Syndrom |
| KG | Körpergewicht z. B. mg/kg KG/Tag |
| LDH | Laktatdehydrogenase |
| MDS | myelodysplastisches Syndrom |
| MM | multiples Myelom |
| MMF | Mycophenolatmofetil |
| MRD | matched related donor: Familienspender |
| MRSA | Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus |
| mTOR | <u>M</u> ammalian <u>T</u> arget <u>O</u> f <u>R</u> apamycin“: bestimmtes Enzym |
| (m)MUD | (mis)matched unrelated donor: Fremdspender |
| NHL | Non-Hodgkin-Lymphom, z. B. T-NHL |
| NIH | National Institutes of Health (of the USA) |
| NK | natürliche Killerzellen |
| PD | progressive disease: Progress |
| PR | partial remission: partielle Remission |
| SZT | Stammzelltransplantation |
| (ta-)TMA | (transplantationsassoziierte) thrombotische Mikroangiopathie |
| TTP | thrombotisch-thrombozytopenische Purpura |
| UVA | ultraviolettes Licht im Wellenlängenbereich von 315 bis 380 nm |
| VOD | veno-occlusive Disease |

1 Einleitung

Die transplantationsassoziierte thrombotische Mikroangiopathie (ta-TMA) gehört zu den thrombotischen Mikroangiopathien, zu denen auch die TTP und das HUS gehören (Besbas et al. 2006). Sie zeichnen sich pathomechanistisch durch eine gemeinsame Endstrecke aus: Es kommt zum thrombotischen Verschluss kleinerer Gefäße bei gleichzeitiger hämolytischer Anämie durch die mechanische Zerstörung von Erythrozyten. Dies führt zum vermehrten Auftreten von Fragmentozyten. Durch den Verbrauch von Blutplättchen zeigt sich im Blutausschlag meistens eine Thrombozytopenie. Die Aktivität der Laktatdehydrogenase (LDH) im Plasma ist zudem häufig erhöht. Die aPTT und die Thromboplastinzeit (Quick) liegen in der Regel im Normbereich. Der Verschluss kleinerer Gefäße führt zur Ischämie und daraus resultierend zur Funktionseinschränkung der betroffenen nachgeschalteten Organe, beispielsweise zu einem Anstieg des Kreatinins als laborchemischer Hinweis auf Funktionsausfälle der Nieren oder zu einer neurologischen Symptomatik als Zeichen von Verschlüssen in den kleinen Gefäßen des zentralen Nervensystems. Diese gemeinsame Endstrecke ist allerdings, dem Krankheitsbild entsprechend, die Folge eines jeweils anderen Auslösers (Studt 2008).

Eine transplantationsassoziierte TMA steht in zeitlichem Zusammenhang mit einer allogenen Stammzelltransplantation (Martinez et al. 2005), einem Verfahren, das zur Therapie von einigen malignen und nicht-malignen Erkrankungen des blutbildenden Systems indiziert sein kann, beispielsweise bei akuten oder chronischen Leukämien, myelodysplastischen Syndromen, bei multiplen Myelomen, Lymphomen sowie der schweren aplastischen Anämie (Aschan 2006).

Durch Konditionierung des Empfängers mittels Chemotherapie, Immuntherapie und/oder Bestrahlung wird neben der Behandlung der malignen Erkrankung das blutbildende System bzw. das Immunsystem des Empfängers auf die Transplantation vorbereitet. Als Transplantat dient stammzellangereichertes peripheres Blut oder Knochenmarkblut von einem Familienspender (MRD [*matched related donor*]) oder einem nicht-verwandten Fremdspender (MUD [*matched unrelated donor*]), das bezüglich der Hauptgewebemerkmale (HLA [*human leukocyte antigen*]-Merkmale) mit dem Spender kompatibel ist. Nach der Infusion siedeln sich die darin enthaltenen Stammzellen im Knochenmark an, proliferieren und übernehmen die Blutbildung (Aschan 2006, Dreger und Ho 2006).

Die allogene Stammzelltransplantation ist für eine Reihe maligner Erkrankungen der Hämatopoese die einzige potenziell kurative Therapieoption. Sie ist jedoch mit einem hohen Mortalitäts- und Morbiditätsrisiko behaftet. Zu den Therapie-assoziierten Komplikationen gehört auch die ta-TMA (Copelan 2006, Batts und Lazarus 2007).

Für die transplantationsassoziierte thrombotische Mikroangiopathie wird eine multifaktorielle Genese angenommen, wobei der genaue Pathomechanismus nicht im Detail bekannt ist. Es sollen folgende Faktoren zur Entstehung beitragen:

- Immunsuppression mit Calcineurininhibitoren (CNI): Ciclosporin A (Holler et al. 1989) oder Tacrolimus (Nakamae et al. 2006),
- intensive Konditionierungsschemata (Hahn et al. 2004), insbesondere mit dem Einsatz hochdosierter Chemotherapie (z. B. Nakamae et al. 2006 (für hochdosiertes Busulfan)) und/oder ionisierender Strahlung (z. B. Uderzo et al. 2006),
- systemische Infektion mit opportunistischen Erregern, insbesondere mit Pilzen oder dem Zytomegalievirus (CMV) (Roy et al. 2001), und
- Graft-versus-Host Disease (GvHD) (Fuge et al. 2001).

Sie führen direkt oder indirekt zu einer Endothelschädigung und -dysfunktion sowie zu einem prokoagulatorischen und proinflammatorischen Zustand, infolgedessen sich die bereits beschriebenen mikroangiopathischen Veränderungen manifestieren können. Das jeweilige Ausmaß der ta-TMA wird durch die Lokalisation sowie das Ausmaß der Endothelschädigung und den Grad der prothrombotischen Tendenz bestimmt (Pettitt und Clark 1994, Stavrou und Lazarus 2010).

Als zusätzliche Risikofaktoren werden unter anderem ein Transplantatempfänger weiblichen Geschlechts (Fuge et al. 2001) sowie die HLA-Mismatch- und Fremdspendertransplantation (Roy et al. 2001) genannt.

Die Therapieoptionen beim Auftreten einer ta-TMA werden in Tabelle 1-1 vorgestellt.

Nicht zuletzt wegen der unspezifischen klinischen und laborchemischen Symptomatik gelten bis heute für die transplantationsassoziierte TMA keine allgemein anerkannten Diagnosekriterien. In einer Übersicht von George et al. aus dem Jahr 2004 wurden 35 Arbeiten mit Primärdaten zur ta-TMA untersucht, in denen 28 verschiedene diagnostische Kriterien verwendet worden waren, was mit ausgeprägten Unterschieden in den Auftretens- und Überlebensraten verbunden war (George et al. 2004, und Kojouri und George 2007).

| Therapieoption | Nähere Beschreibung der Therapieoption |
|---|--|
| 1) Beseitigung aller potenziell ursächlichen Faktoren | - Absetzen bzw. Dosisreduktion von CNI - Behandlung von Infektionen - Kontrolle einer GvHD mit Alternativpräparaten zu CNI, z. B. mit Steroiden oder Mycophenolatmofetil |
| 2) Plasmapherese | = Plasmaaustauschverfahren (keine generelle Empfehlung, da häufig unwirksam und hohe Wahrscheinlichkeit relevanter Komplikationen) |
| 3) Defibratide | = Polydeoxyribonukleotidsalz mit <i>in vitro</i> antithrombotischer und thrombolytischer Wirkung, Protektion von Endothelzellen (bisher nur experimentell eingesetzt) |

Tabelle 1-1: Therapie der transplantationsassoziierten thrombotischen Mikroangiopathie

(basierend auf: Batts und Lazarus 2007 sowie Stavrou und Lazarus 2010)

Einer Studie der European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) zufolge liegt die Inzidenz der ta-TMA bei etwa 6,7 % im Verlauf von 2 Jahren nach der allogenen Stammzelltransplantation (Ruutu et al. 2002).

In letzter Zeit wurden mit dem Ziel der Vereinheitlichung von mehreren unabhängigen Arbeitsgruppen Vorschläge für diagnostische Kriterien publiziert. Derjenige der EBMT-Working Group wird in Tabelle 1-2 beschrieben. Die dort aufgeführten Kriterien wurden in dieser Arbeit zur Diagnosestellung einer manifesten ta-TMA herangezogen.

| EBMT-Kriterien zur Diagnosestellung einer ta-TMA | |
|--|--|
| 1) | erhöhter Anteil von Fragmentozyten im peripheren Blutausschlag: > 4 % |
| <u>und</u> 2) | neu aufgetretene, anhaltende oder zunehmende Thrombozytopenie: < 50.000 μL^{-1} oder < 50 % von vorherigen Auszählungen |
| <u>und</u> 3) | plötzlicher und anhaltender Anstieg der LDH-Aktivität im Plasma |
| <u>und</u> 4) | Erniedrigung der Hämoglobinkonzentration oder erhöhter Bedarf an Erythrozytentransfusionen |
| <u>und</u> 5) | Absinken der Serum-Haptoglobinkonzentration |

Tabelle 1-2: Kriterien zur Diagnosestellung einer transplantationsassoziierten TMA nach den Kriterien der International Working Group of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) (aus: Ruutu et al. 2007)

Anhand dieser diagnostischen Kriterien, insbesondere der ausgeprägten Fragmentozytose mit Werten über 40 ‰, werden nur Patienten mit einem ausgeprägten klinischen Verlauf erfasst. Milde und subklinische Verläufe, die häufig vorkommen, werden nicht registriert. Für diese im Folgenden als „mikroangiopathische Veränderungen“ bezeichneten Verlaufsformen wurde für diese Arbeit ein separates Bewertungsschema konzipiert. Da bei Gesunden in der Regel kein oder ein nur sehr geringer Anteil an Fragmentozyten im mikroskopischen Blutbild zu finden ist (0,8 ‰ mit einer Spanne von 0,2 - 2,7 ‰ (Kanamori et al. 2003)), wurde ein Schwellenwert von ≥ 3 ‰ für auffällige Fragmentozytenwerte in diesem Bewertungssystem gewählt. Zudem wurden die Parameter Thrombozytenzahl und LDH-Aktivität im Serum berücksichtigt. Dies wird im Methodenteil (Abschnitt 3.3) genauer vorgestellt.

Eine weitere unerwünschte Folgeerscheinung einer allogenen Stammzelltransplantation ist die Manifestation einer Graft-versus-Host-Erkrankung. Dabei handelt es sich um eine Reaktion von Lymphozyten des Spenders, die für sie unbekannte Haupt- und Nebengewebemerkmale im Empfängermechanismus angreifen (Ferrara et al. 2009). Die Manifestation einer Graft-versus-Host Disease ist eine der häufigsten und am stärksten den ‚Erfolg‘ der Transplantation limitierenden Komplikationen. Sie führt häufig zu Funktionseinschränkungen verschiedener Organe sowie durch die langfristige und hochdosierte Immunsuppression zu einem gesteigerten Infektionsrisiko. Neben der Beeinträchtigung der Lebensqualität der Betroffenen führt sie somit auch zu einer erhöhten Morbiditäts- sowie Mortalitätsrate (Pidala 2011).

Bei allen Patienten, welche in der nachfolgenden Analyse in die ECP-Gruppe eingeschlossen werden konnten, manifestierte sich nach der Stammzelltransplantation eine Graft-versus-Host-Erkrankung. Für die Kontrollgruppe waren hingegen nur Patienten ausgewählt worden, bei denen diese Komplikation nicht oder nur in klinisch nicht relevanten Ausprägungen aufgetreten war.

Es wird zwischen akuter und chronischer Graft-versus-Host Disease unterschieden. Ursprünglich waren zwischen dem Tag +0 und dem Tag +100 nach der Transplantation auftretende Symptome als Ausdruck einer akuten GvHD und nach dem Tag +100 persistierende oder neu auftretende Symptome als Ausdruck einer chronischen GvHD definiert worden. Da sich die Symptomatik der beiden Formen jedoch deutlich voneinander unterscheidet – wobei die akute Form einen hohen Anteil in-

flammatorischer Komponenten aufweist, während die chronische GvHD eher an eine autoimmunologisch bedingte Erkrankung erinnert – und zudem auch nach dem Tag +100 noch Symptome einer akuten und bereits vor Tag +100 Symptome der chronischen GvHD auftreten können, erwies sich diese Einteilung als unzureichend. Nach aktuellem Konsens ist die Diagnose aufgrund klinischer Kriterien und nicht gemäß der Auftretenszeit zu stellen (Filipovich et al. 2005).

Eine akute GvHD tritt bei etwa 40-60 % aller Patienten nach einer allogenen Stammzelltransplantation auf. Die Hauptmanifestationsorte sind die Haut, der Gastrointestinaltrakt und die Leber. Die jeweilige Symptomatik ist vielfältig und bedarf daher vor der Diagnosestellung der Abklärung einer Reihe von Differentialdiagnosen, insbesondere infektiöser oder medikamentös-toxischer Genese. Auch wenn weitere Organsysteme betroffen sein können, basiert die Festlegung des Schweregrads gemäß dem modifizierten Glucksberg Grading System (Przepiorka et al. 1995) lediglich auf der Ausprägung der dermalen, gastrointestinalen und hepatischen Manifestationen, entsprechend dem Anteil der betroffenen Körperoberfläche, dem Stuhlvolumen sowie der Höhe des Serum-Bilirubins. Je nach Anzahl der Manifestationsorte und dem jeweiligen Schweregrad wird eine Gesamtausprägung von Grad I bis IV bestimmt (Sung und Chao 2013).

In aller Regel wird in der Frühphase nach der Transplantation eine GvHD-Prophylaxe durchgeführt, die zumeist aus zwei immunsuppressiv wirkenden Substanzen besteht, beispielsweise aus der Kombination eines Calcineurininhibitors mit Methotrexat oder Mycophenolatmofetil. Treten im weiteren Verlauf keine Zeichen einer GvHD auf, können die Substanzen nach etwa 2 bis 4 Monaten abgesetzt werden (Ferrara et al. 2009). Tritt trotz adäquater Prophylaxe eine relevante akute GvHD (Grad II-IV) auf, so besteht die Erstlinientherapie aus der systemischen Verabreichung von Methylprednisolon mit einer hohen Startdosierung (z.B. 2 mg/kg KG/Tag). Es kommt allerdings nur bei weniger als der Hälfte der Fälle innerhalb von 3 bis 5 Tagen zu einer adäquaten Verbesserung der Symptomatik. Erweist sich die GvHD als steroidrefraktär, ist die Form der Zweitlinientherapie derzeit noch nicht definiert. Eine Vielzahl von Substanzen und Verfahren steht zur Verfügung, beispielsweise Calcineurininhibitoren, Mycophenolatmofetil, Antikörper (z.B. gegen CD52 oder Tumornekrosefaktor) oder die extrakorporale Photopherese (Ferrara et al. 2009 sowie Sung und Chao 2013).

Angaben zur Inzidenz der chronischen GvHD nach einer allogenen Stammzelltransplantation variierten in verschiedenen Analysen zwischen 30-65 %. Abgesehen vom Wiederauftreten der Grunderkrankung ist die chronische GvHD die Hauptursache für Spätmortalität, vornehmlich verursacht durch opportunistische Infektionen, die sich auf den Einsatz langfristiger medikamentöser Immunsuppression sowie eine generelle Dysregulation des Immunsystems zurückführen lassen, und durch fortschreitendes Organversagen bei langfristiger GvH-Schädigung (Blazar et al. 2012 und Lee et al. 2003).

Die Symptomatik der chronischen Graft-versus-Host Disease ist vergleichbar mit Autoimmunphänomenen wie beispielsweise der Sklerodermie oder dem Sjögren-Syndrom (Pidala 2011). Sie kann sich nur an einem Organ manifestieren oder mehrere Organsysteme betreffen. Eine Übersicht über die Symptomatik der chronischen GvHD wird in Tabelle 1-3 vorgestellt.

| Manifestationsort | Symptomatik |
|--------------------------|--|
| Haut | u. a. Poikilodermie, Lichen planus- und Lichen sclerosus-ähnliche Läsionen, sklerotische Veränderungen, De- oder Dyspigmentation, Erythem und/oder Pruritus (unspezifisch) |
| Haare | v. a. narbige oder nicht-narbige Alopezie |
| Nägel | Dystrophie, Onycholyse und weitere Veränderungen |
| Mund | u. a. lichenoide Veränderungen, Hyperkeratosen oder Atrophie der Mundschleimhaut, verminderte Mundöffnungsfähigkeit, Xerostomie |
| Augen | Keratokonjunktivitis sicca, narbige Konjunktivitis und weitere, CAVE: Visusverlust möglich |
| Genitalien (v. a. ♀) | vaginale Vernarbungen/Stenosen, Erosionen/Ulzerationen |
| Gastrointestinaltrakt | spezifisch: Ösophagusstrikturen, unspezifisch: Anorexie/Gewichtsverlust, Übelkeit/Erbrechen, Diarrhöen |
| Leber | Leberschädigung und Cholestase äußern sich als AST ↑, ALT ↑ und Bilirubin ↑, AP ↑ |
| Lunge | v. a. Bronchiolitis obliterans, CAVE: terminale Lungeninsuffizienz möglich |
| Bewegungsapparat | Fasziitis, unspezifisch: Myositis, Arthralgien |

| | |
|------------------------------------|---|
| Hämatopoiese und Immunsystem | meist unspezifisch: Thrombozytopenie, Lymphopenie und/oder Eosinophilie, Hypo- oder Hypergammaglobulinämie, insgesamt: Dysfunktion des Immunsystems |
| weitere seltene Manifestationsorte | |

Tabelle 1-3: Symptomatik der chronischen Graft-versus-Host Disease (basierend auf: Filipovich et al. 2005, modifiziert nach Lee et al. 2003)

Ursprünglich wurde die chronische GvHD mittels der Seattle-Klassifikation in die Stadien ‚limited‘ und ‚extensive‘ eingeteilt (Shulman et al. 1980). Es wurde im Auftrag der NIH ein neues Bewertungsschema etabliert, das einen Schweregrad für jedes Organ, je von ‚0‘ (keine Beteiligung) bis ‚3‘ (schwere Schädigung), festlegt. Daraus ergibt sich, je nach Anzahl und Schweregrad der betroffenen Organe, ein Gesamtschweregrad, der entsprechend dem in Tabelle 1-4 dargestellten Schema bestimmt wird (Filipovich et al. 2005).

| Grad | Symptomatik |
|--------------|--|
| mild | 1-2 Organe (außer Lunge) mit je maximal Grad 1-Symptomatik |
| mittelgradig | 3 oder mehr Organe (außer Lunge) mit je maximal Grad 1-Symptomatik oder: ≥ 1 Organ mit Grad 2-Symptomatik (keine Grad 3-Symptomatik) oder: Lunge mit Grad 1-Symptomatik |
| schwer | ≥ 1 Organ mit Grad 3-Symptomatik oder: Lunge mit Grad 2-Symptomatik |

Tabelle 1-4: Gesamtschweregrad der chronischen Graft-versus-Host Disease
(aus: Filipovich et al. 2005)

Bei der Manifestation einer chronischen GvHD ist die Behandlung mit hochdosierten Steroiden bisher die Therapie der ersten Wahl. Erweist sich die Erkrankung allerdings als steroid-refraktär, ist dies häufig mit der Notwendigkeit einer langfristigen Immunsuppression verbunden.

Gemäß der Consensus Conference on Clinical Practice in Chronic Graft-versus-Host Disease werden, je nach Gesamtschweregrad, die in Tabelle 1-5 vorgestellten Vorgehensweisen bei der Erstmanifestation einer chronischen GvHD empfohlen (Wolff et al. 2010).

| Grad | Therapie |
|--------------|---|
| mild | <ul style="list-style-type: none"> - soweit möglich: rein topische Therapie mit Steroiden oder Calcineurininhibitoren - keine topische Therapie möglich (z. B. bei hepatischer Manifestation) oder kein ausreichendes Ansprechen: systemische Applikation von Steroiden mit einer hohen Initialdosis und anschließendem Ausschleichen |
| mittelgradig | <ul style="list-style-type: none"> - systemische Therapie mit Steroiden wie oben beschrieben - evtl. + topische Therapie zur Verbesserung der einzelnen Lokalbefunde |
| schwer | <ul style="list-style-type: none"> - zunächst wie mittelgradige GvHD - ggf. + weitere immunsuppressiv wirkende Substanzen (z.B. Calcineurininhibitoren, Mycophenolatmofetil oder mTOR-Inhibitoren) - ggf. + extrakorporale Photopherese |

Tabelle 1-5: Therapie der chronischen Graft-versus-Host Disease
(basierend auf: Wolff et al. 2010)

Bei einem Teil des in dieser Analyse untersuchten Patientenkollektivs war im Verlauf nach der Stammzelltransplantation eine chronische GvHD aufgetreten, bei der die Applikation von systemischen hochdosierten Steroiden nicht zu einer adäquaten Verbesserung der Symptome geführt hatte und daher additiv eine Therapie mit extrakorporalen Photopheresen durchgeführt wurde.

Das Ansprechen der GvHD auf diese im folgenden Abschnitt genauer beschriebene Therapieform war ein Teil der Fragestellung dieser Arbeit.

Die extrakorporale Photopherese (ECP [*extracorporeal photopheresis*]) wird nicht nur zur Behandlung von Graft-versus-Host-Reaktionen eingesetzt, sondern auch bei anderen Erkrankungen, bei denen dysregulierte T-Lymphozyten eine entscheidende Rolle spielen, z. B. bei kutanem T-Zell-Lymphom, systemischer Sklerose oder bei Abstoßungsreaktionen nach der Transplantation solider Organe (Trautinger et al. 2012). Es werden in der Zellseparation mittels Zentrifugation des antikoagulierten Vollbluts in einem extrakorporalen Schlauchsystem im Blut zirkulierende Leukozyten, darunter auch ein Teil der im Körper befindlichen T-Lymphozyten, gewonnen. Anschließend werden diese Leukozytenpräparate außerhalb des Körpers mit der photosensibilisierenden Substanz 8-Methoxypsoralen (Abbildung 1-1) versetzt, welche im Anschluss durch die Bestrahlung mit UVA-Licht aktiviert wird. Dies induziert in den

exponierten Zellen den apoptotischen Zelltod, der nach der anschließenden Reinfusion in den Blutkreislauf innerhalb von 24 bis 48 Stunden einsetzt und über verschiedene, bis heute größtenteils noch unverstandene Mechanismen zu einer Immunmodulation im Sinne einer Toleranzentwicklung, nicht aber zu einer generellen Immunsuppression führt (Abbildung 1-2).

Die ECP gilt somit als nebenwirkungsarmes und gut verträgliches Therapieverfahren. Sie wird zusätzlich zu pharmakologischen Therapieformen wie Steroiden und Calcineurininhibitoren angewendet und birgt häufig die Chance einer Dosisreduktion dieser Medikamente, die ein ausgeprägtes Nebenwirkungsprofil aufweisen (Peritt 2006 und Lawitschka et al. 2012).

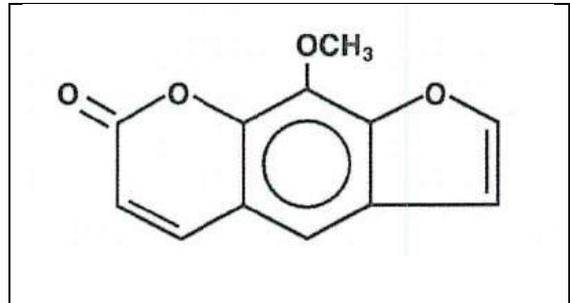


Abbildung 1-1: 8-Methoxypsoralen

Die ECP wird in mehreren Zyklen durchgeführt, die aus je zwei Sitzungen an zwei aufeinanderfolgenden Tagen bestehen. Der zeitliche Abstand zweier Zyklen ist zu Beginn der Therapie kürzer und wird bei Besserung der Symptomatik entsprechend verlängert (Trautinger et al. 2012).

Das Ansprechen auf die Photopherese geht zudem mit einer erhöhten Gesamtüberlebenszeit einher (Lawitschka et al. 2012).

Obwohl die ECP als äußerst nebenwirkungsarme Therapie beschrieben wird, fiel unter den an der Universitätsmedizin Göttingen allogenen stammzelltransplantierten Patienten einmalig der Fall einer Patientin auf, bei der in engem zeitlichen Zusammenhang mit den ersten extrakorporalen Photopheresen zur Behandlung einer langjährig bestehenden chronischen GvHD eine transplantationsassoziierte thrombotische Mikroangiopathie auftrat. Die zu diesem Zeitpunkt 53-jährige Patientin entwickelte 15 Tage nach dem dritten Photopherese-Zyklus eine ta-TMA mit ausgeprägten Organschädigungen. Im weiteren Verlauf wurde ein zweiter Fall identifiziert, bei dem ein Patient nach Initiation der ECP-Therapie deutliche mikroangiopathische Veränderungen entwickelte und kurz darauf verstarb.

Es wurde daher als Ausgangspunkt dieser Arbeit ein Zusammenhang zwischen der Initiierung einer extrakorporalen Photopherese-Therapie und dem Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen vermutet.

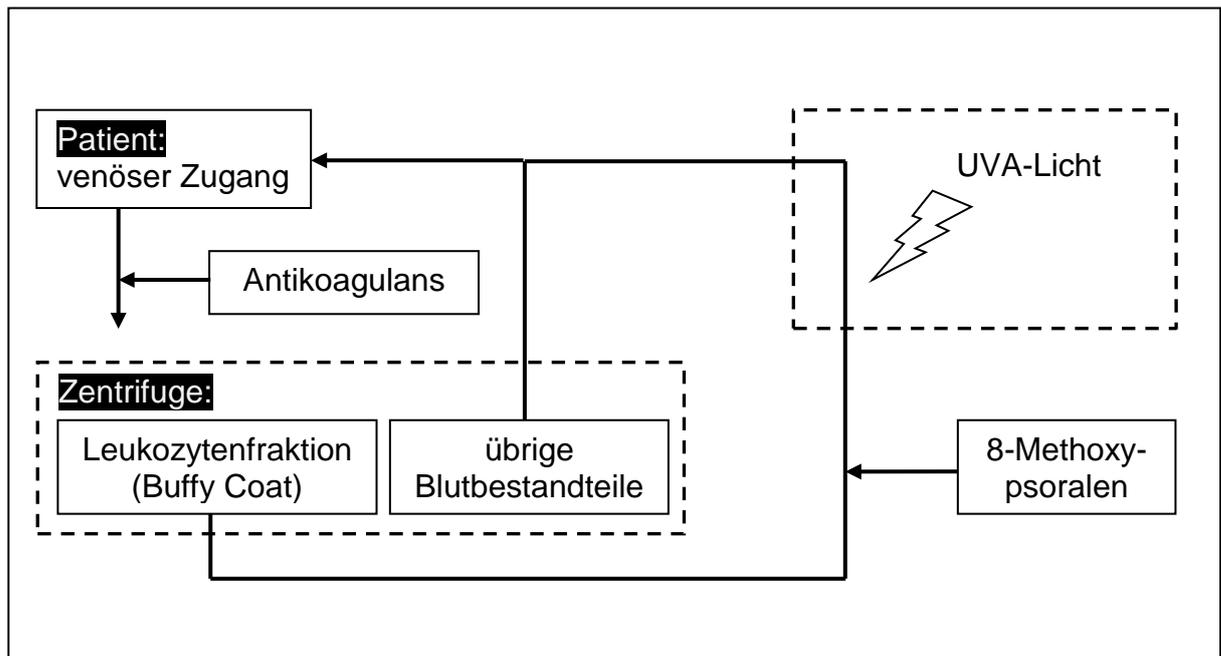


Abbildung 1-2: Prinzip der extrakorporalen Photopherese
 (basierend auf Trautinger et al. 2012)

2 Fragestellung

Die vorliegende Arbeit sollte mittels einer retrospektiven Erhebung die Frage klären, ob es einen Zusammenhang zwischen der Ausprägung sowie der klinischen Symptomatik einer Mikroangiopathie und dem Einsatz der ECP zur Therapie der GvHD bei Patienten nach allogener Stammzelltransplantation gibt. Zu diesem Zweck sollten zunächst geeignete Parameter für mikroangiopathische Veränderungen definiert werden, um diese dann im Langzeitverlauf allogener stammzelltransplantierten Patienten mit steroid-refraktärer oder -abhängiger akuter oder chronischer Graft-versus-Host Disease (GvHD), die mit einer extrakorporalen Photopherese-Therapie behandelt wurden, zu untersuchen. Die erhobenen Daten sollten dann denen einer Kontrollgruppe allogener stammzelltransplantierten Patienten, die keine relevante akute und chronische GvHD entwickelt hatten, gegenübergestellt werden.

Es sollten dabei sowohl das Vollbild einer transplantationsassoziierten thrombotischen Mikroangiopathie (ta-TMA) nach EBMT-Kriterien als auch über die Erhöhung entsprechender Laborparameter detektierte subklinische Ausprägungen betrachtet werden. Zu diesem Zweck wurde ein einfaches und für die retrospektive Auswertung geeignetes Bewertungsschema, basierend auf den Fragmentozyten- sowie Thrombozytenwerten und der LDH-Aktivität, als Analyseparameter entwickelt.

Es sollte zudem überprüft werden, ob die nachfolgend aufgeführten Modalitäten der Durchführung einer allogenen Stammzelltransplantation mit einem vermehrten oder verminderten Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen im Langzeitverlauf korrelierten: Geschlechtszugehörigkeit des Empfängers, Intensität der Konditionierungsschemata, verwandter oder nicht-verwandter Spender und HLA-Übereinstimmung. Außerdem wurde das Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen mit dem Überleben der Patienten korreliert.

Über den Höhe der verabreichten Steroiddosis sowie das Ausmaß der GvHD-Manifestationen wurde darüber hinaus die Wirksamkeit der extrakorporalen Photopheresen im Therapieverlauf analysiert.

3 Patientenkollektiv und Methodik

Das Konzept dieser Analyse war vor Beginn der Durchführung der Ethikkommission der Universität Göttingen zur Begutachtung vorgelegt worden. Es waren keine Einwände gegen die Durchführung erhoben worden [Antragsnummer: DOK_59_2012].

Es handelt sich um eine retrospektive Analyse. Die Erfassung von Daten erfolgte über die in der Patientenakte dokumentierten Werte und Niederschriften. Die Richtlinien des Datenschutzes wurden hierbei zu jeder Zeit eingehalten.

3.1 Auswahl des Patientenkollektivs

Die „ECP-Gruppe“ bestand aus Patienten, bei denen nach einer allogenen Stammzelltransplantation zur Behandlung einer therapierefraktären oder -abhängigen GvHD im Zeitraum von 01/2003 bis 04/2011 mit einer extrakorporalen Photopherese-Therapie im Universitätsklinikum Göttingen begonnen worden war. Sie wurden durch Recherche in der Datenbank der Abteilung für Hämatologie und Onkologie und durch Akteneinsicht in der Abteilung für Transfusionsmedizin identifiziert.

Einschlusskriterien (ECP-Gruppe):

1. Allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation,
2. Entwicklung einer akuten oder chronischen GvHD und
3. Behandlung der GvHD mit extrakorporaler Photochemotherapie (ECP).

Alle Patienten, die diese Kriterien erfüllten, wurden ohne weitere Vorauswahl eingeschlossen. Es konnten insgesamt 39 Patienten in diese Gruppe („ECP-Gruppe“) aufgenommen werden.

Zum Vergleich der an der ECP-Gruppe erhobenen Befunde wurde eine Vergleichsgruppe („Kontrollgruppe“) erstellt. Es wurden Patienten erfasst, die im Zeitraum von 05/2004 bis 12/2011 stammzelltransplantiert worden waren und für die folgende Einschlusskriterien galten:

Einschlusskriterien (Kontrollgruppe):

1. Allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation und
2. weder relevante akute (nur \leq I°) noch chronische GvHD (maximal „limitiert“).

Es konnten 41 Patienten identifiziert werden, die diese Bedingungen erfüllten.

3.2 Methodik: Datenerfassung

Die folgenden Patientendaten wurden tabellarisch erfasst:

- Geburtsdatum, Geschlecht, Grunderkrankung und Vortherapien
- Ergebnisse der Transplantationsvoruntersuchung: HLA-Merkmale, Blutgruppe sowie CMV-Status von Empfänger und Spender, weitere infektiologische Parameter des Empfängers, Remissionsstatus vor der Transplantation, Art der Stammzellgewinnung, Spender: Familien- oder Fremdspender
- Konditionierungsschema, Transplantationsdatum
- Verlauf: Datum der ECP-Sitzungen, Donorlymphozyteninfusionen, Rezidive und ggf. Sterbedatum

Zudem wurden folgende Medikamentendosierungen und ggf. Plasmaspiegel dokumentiert:

- systemische Anwendung von Steroiden
- systemische Verabreichung von Calcineurininhibitoren (Ciclosporin A, Tacrolimus)

Folgende Laborparameter wurden erfasst:

- Blutbild: Leukozyten-, Thrombozyten-, Fragmentozyten-, Retikulozyten- und Hämoglobinwerte
- klinische Chemie: LDH, Bilirubin, freies Hämoglobin, Haptoglobin, Kreatinin, CRP

3.3 Methodik: Schweregrad mikroangiopathischer Veränderungen

Zur Bestimmung des Ausmaßes von mikroangiopathischen Veränderungen wurde ein Bewertungsschema entworfen, das auf der Anzahl der Fragmentozyten und Thrombozyten im peripheren Blutaussstrich sowie der Aktivität der LDH im Serum basiert (Tabelle 3-1).

Fehlende Erwähnung von Fragmentozyten im Befund mikroskopischer Blutbilder wurde mit Fragmentozyten $< 3\%$ gleichgesetzt und ein Schweregrad 0 der Endothelschädigung für diesen Zeitpunkt angenommen.

Bei dem Nachweis relevanter Mengen an Fragmentozyten ($\geq 3\%$), fanden die gleichzeitige Messung der Thrombozytenzahl sowie der LDH-Aktivität Beachtung. Bestand zugleich auch eine erhöhte LDH-Aktivität und Thrombozytopenie, wurde dies als Indiz auf hämolytische Aktivität bei endothelialer Schädigung gewertet (Schweregrad 2). War trotz nachgewiesener Fragmentozyten keiner oder nur einer der beiden zusätzlichen Parameter außerhalb des Normbereichs, wurde eine Endothelschädigung mit Hämolyse als möglich, aber weniger wahrscheinlich gewertet (Schweregrad 1).

| | Schweregrad 0 | Schweregrad 1 | Schweregrad 2 |
|-----------------------|--|---|--|
| | kein Hinweis auf mikroangiopathische Veränderungen | mikroangiopathische Veränderungen möglich | starker Hinweis auf mikroangiopathische Veränderungen |
| Fragmentozyten | < 3 ‰ | ≥ 3 ‰ | |
| LDH | nicht berücksichtigt | <u>keiner</u> oder <u>nur ein</u> Wert außerhalb des Normbereichs (s. rechts) | außerhalb des Normbereichs: > 240U/L |
| Thrombozyten | | | außerhalb des Normbereichs: < 150.000 μL^{-1} |

Tabelle 3-1: Bewertungsschema zur Einteilung von Zeichen mikroangiopathischer Veränderungen anhand der Fragmentozyten- und Thrombozytenwerte sowie der LDH-Aktivität

3.4 Methodik: Schweregrad der GvHD

Akute GvHD:

Für die Patienten mit akuter GvHD als ECP-Indikation wurde aufgrund der geringen Fallzahlen über die deskriptive Erfassung hinaus keine statistische Auswertung vorgenommen.

Chronische GvHD:

Um die Wirksamkeit der extrakorporalen Photopherese-Therapie zu überprüfen, wurde mithilfe des bereits in der Einleitung vorgestellten Staging- und Grading-Systems nach Filipovich et al. 2005 die Ausprägung der chronischen GvHD zu den folgenden Zeitpunkten analysiert:

- (1) letzte Dokumentation vor der 1. Photopherese,
- (2) letzte Dokumentation im Verlauf der 1.-5. Photopherese und
- (3) letzte Dokumentation im Verlauf der 5.-10. Photopherese.

Über den Zeitpunkt der 10. ECP hinaus wurden keine weiteren Daten gesammelt.

Aus den ärztlichen Niederschriften wurde für diese drei Zeitpunkte gemäß dem dazugehörigen Stagingbogen (Filipovich et al. 2005) eine Bewertung der einzelnen Or-

ganmanifestationen vorgenommen. Dabei wurde, soweit möglich, für jedes betroffene Organ ein Ausprägungsgrad von 1 bis 3 festgelegt. Daraus wurde der Gesamtschweregrad entsprechend Tabelle 1-4 ermittelt, auf dessen Grundlage die statistische Analyse durchgeführt wurde.

3.5 Methodik: Abbildungen, Statistik

Die Durchführung der statistischen Auswertungen sowie die Erstellung der Abbildungen erfolgten mit STATISTICA für Windows (Version 10.0, StatSoft Inc. 2011) und Microsoft Excel (Version 14.0.6129.5000, Microsoft Corporation 2010).

Der Chi-Quadrat-Vierfeldertest wurde zur Auswertung des Auftretens bestimmter Ereignisse in den beiden Patientengruppen durchgeführt. Der Mann-Whitney-U-Test wurde für die Analyse der Schweregradverteilung sowie für die univariaten Risikofaktorenanalysen in den beiden betrachteten Patientenkollektiven verwendet. Die Überlebensanalysen wurden entsprechend des Kaplan-Meier-Verfahrens statistisch ausgewertet. Zum Vergleich zweier Untergruppen wurde dabei der Gehan's Wilcoxon-Test und zum Vergleich von mehr als zwei Untergruppen eine verallgemeinerte Form dieses Tests, der bei mehr als zwei zu analysierenden Gruppen Anwendung findet, verwendet. Es wurde teils mit zensierten Daten gearbeitet. Um Langzeiteffekte wie den Schweregrad der GvHD und die Höhe der Steroiddosis im Verlauf der ECP-Therapie nachzuverfolgen, wurde eine ANOVA mit Messwiederholungen (Repeated-Measures-ANOVA), eine Varianzanalyse mit Berücksichtigung von wiederholten Messungen innerhalb derselben Objekte, durchgeführt. In einigen Fällen wurde über ordinalverteilte Daten ohne das Vorhandensein einer Normalverteilung eine Rangverteilung gelegt, um die Testvoraussetzungen zu erfüllen.

In dieser Arbeit wurden im Allgemeinen p-Werte unter 0,05 als signifikant betrachtet ($\alpha < 0,05$). Bei multiplen Paarvergleichen wurde jedoch zur Vermeidung einer Alphafehler-Kumulation eine Anpassung des Signifikanzniveaus entsprechend der Bonferroni-Methode vorgenommen. Für den einzelnen Paarvergleich bei n Paarvergleichen ergibt sich ein Signifikanzniveau von $\alpha' = \frac{\alpha}{n}$.

4 Ergebnisse

4.1 Beobachtungszeitraum

Als Beginn des individuellen Beobachtungszeitraums wurde der Tag der Transplantation (Tag +0) oder der Tag der ersten Vorstellung in der Klinik für Hämatologie und Onkologie des Universitätsklinikums Göttingen nach der Transplantation festgelegt, wenn diese in einem anderen Transplantationszentrum stattgefunden hatte.

Als Ende des Beobachtungszeitraums wurde das Datum des Todes oder der zum Analysezeitpunkt zuletzt dokumentierte Termin in der Spezialambulanz festgelegt.

Der mediane Nachbeobachtungszeitraum betrug in der ECP-Gruppe 1541 Tage mit einer Spanne von 71 bis 4074 Tagen und in der Kontrollgruppe 1081 Tage mit einer Spanne von 341 bis 2855 Tagen.

4.2 Patientencharakteristika

Es konnten 39 Patienten ermittelt werden, welche die Einschlusskriterien für die ECP-Gruppe erfüllten. In die Kontrollgruppe konnten 41 Patienten eingeschlossen werden. Zum Zeitpunkt der allogenen Stammzelltransplantation waren die Patienten 18-67 Jahre (ECP-Gruppe) bzw. 20-68 Jahre (Kontrollgruppe) alt. Das mediane Alter bei der Transplantation lag bei 49 bzw. 50 Jahren.

Mit der Ausnahme einer Patientin, die an schwerer aplastischer Anämie erkrankt war, litten alle Patienten aus beiden Gruppen vor der Transplantation an einer malignen hämatologischen Grunderkrankung.

Die Stammzellpräparate waren in allen bekannten Fällen periphere Blutstammzellen, in einem Fall lagen keine Daten zur Art des Transplantats vor.

Größere Unterschiede zwischen den beiden Patientenkollektiven bestanden bei den Merkmalen Geschlecht (männlich/weiblich), Verwandtschaftsverhältnis zwischen Spender und Empfänger (MRD/MUD) und Intensität des Konditionierungsschemas (nicht-myeloablativ/myeloablativ) (Tabelle 4-1).

Einige Daten, etwa zur HLA-Übereinstimmung zwischen Spender und Empfänger oder zur Intensität des Konditionierungsschemas, konnten in einigen wenigen Fällen im Nachhinein nicht vollständig ermittelt werden, insbesondere wenn die Transplantationen nicht im Universitätsklinikum Göttingen durchgeführt worden waren und die benötigten Informationen nicht in den Arztbriefen aus dem Transplantationszentrum aufgeführt waren.

| Gruppe: | <u>ECP-Gruppe</u> | <u>Kontrollgruppe</u> |
|---|---|--|
| Patientenzahl: | n 39 | n 41 |
| Geschlecht: männlich / weiblich | n (%) 27 (69,2 %) / 12 (30,8 %) | n (%) 14 (34,1 %) / 27 (65,9 %) |
| Grunderkrankung: AML ALL CML CLL MM MDS B-NHL T-NHL NK-Zell-Lymphom schwere aplastische Anämie | n (%) 12 (30,8 %) 6 (15,4 %) 2 (5,1 %) 2 (5,1 %) 5 (12,8 %) 2 (5,1 %) 3 (7,7 %) 6 (15,4 %) 1 (2,6 %) 0 (0 %) | n (%) 15 (36,6 %) 2 (4,9 %) 1 (2,4 %) 4 (9,8 %) 5 (12,2 %) 2 (4,9 %) 4 (9,8 %) 7 (17,0 %) 0 (0 %) 1 (2,4 %) |
| Alter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose (Median): | Jahre (Spannweite) 48 (17-67) | Jahre (Spannweite) 49 (19-67) |
| Stadium der Grunderkrankung zum Zeitpunkt der Transplantation: CR / PR PD oder rezidiert | n (%) 21 (53,9 %) / 8 (20,5 %) 8 (20,5 %) unbekannt: 2 (5,1 %) | n (%) 18 (43,9 %) / 11 (26,8 %) 4 (9,8 %) unbekannt: 8 (19,5 %) |
| Alter zum Zeitpunkt der Transplan- tation (Median): | Jahre (Spannweite) 49 (18-67) | Jahre (Spannweite) 50 (20-68) |
| Stammzellquelle: periphere Blutstammzellen Knochenmarkblut | n (%) 38 (97,4 %) 0 (0 %) unbekannt: 1 (2,6 %) | n (%) 41 (100 %) 0 (0 %) |
| HLA-Übereinstimmung: HLA-identisch / HLA-Mismatch | n (%) 35 (89,7 %) / 3 (7,7 %) unbekannt: 1 (2,6 %) | n (%) 37 (90,2 %) / 4 (9,8 %) |
| Spender: Familien- (MRD) / Fremdspender (MUD) | n (%) 24 (61,5 %) / 15 (38,5 %) | n (%) 10 (24,4 %) / 31 (75,6 %) |
| Intensität der Konditionierung: nicht-myeloablativ / myeloablativ | n (%) 14 (35,9 %) / 24 (61,5 %) unbekannt: 1 (2,6 %) | n (%) 26 (63,4 %) / 15 (36,6 %) |
| initiale GvHD-Prophylaxe: CsA + MMF Tacrolimus + MMF andere | n (%) 26 (66,7 %) 9 (23,0 %) 0 (0 %) unbekannt: 4 (10,3 %) | n (%) 25 (61,0 %) 15 (36,6 %) 1 (2,4 %) |

Tabelle 4-1: Patientencharakteristika

4.3 Daten zu besonderen Ereignissen im Langzeitverlauf

| | <u>ECP-Gruppe</u> | <u>Kontrollgruppe</u> | p-Wert |
|--------------------------|--------------------------|------------------------------|---------------------|
| | n (%) | n (%) | |
| Gesamtzahl der Patienten | 39 (100 %) | 41 (100 %) | - |
| Rezidiv/Progress | 5 (12,8 %) | 10 (24,4 %) | $p = 0,185$ |
| DLI | 5 (12,8 %) | 6 (14,6 %) | $p = 0,814$ |
| Exitus letalis | 21 (53,8 %) | 9 (22,0 %) | siehe Abschnitt 4.6 |

Tabelle 4-2: Daten zu besonderen Ereignissen im Langzeitverlauf: Auftreten von Rezidiv/Progress, Donorlymphozyteninfusion (DLI) und Exitus letalis im Nachbeobachtungszeitraum in beiden Patientenkollektiven, *Chi-Quadrat-Vierfeldertest*

Bei 5 Patienten (12,8 %) in der ECP-Gruppe und 10 Patienten (24,4 %) in der Vergleichsgruppe wurde im weiteren Verlauf nach der Transplantation ein Rezidiv oder Progress der Grunderkrankung festgestellt. Der Unterschied zwischen ECP- und Kontrollgruppe war allerdings statistisch nicht signifikant (*Chi-Quadrat-Vierfeldertest*, $p = 0,185$). Weitere Daten zu besonderen Ereignissen im Langzeitverlauf können in Tabelle 4-2 betrachtet werden.

4.4 Zeichen mikroangiopathischer Veränderungen und das Auftreten einer transplantationsassoziierten Mikroangiopathie nach EBMT-Diagnosekriterien

Mikroangiopathische Veränderungen wurden im Nachbeobachtungszeitraum nach einer allogenen Stammzelltransplantation häufig nachgewiesen, in vielen Fällen mit Fragmentozytenwerten von deutlich über 10 ‰ und seltener über 20 ‰; Werten, die entsprechend Zomas et al. 1998 als mittelgradige bzw. schwere Fragmentozytose einzustufen waren. Trotzdem wurde bei strenger Einhaltung der EBMT-Kriterien zur Diagnosestellung einer transplantationsassoziierten TMA (Rutuu et al. 2007) bei Betrachtung beider Kollektive nur ein Fall einer ta-TMA festgestellt. Das alleinige Auftreten laborchemischer Zeichen mikroangiopathischer Veränderungen war somit kein prädiktiver Faktor für das spätere Auftreten einer manifesten ta-TMA (Tabelle 4-3).

| | <u>ECP-Gruppe</u> | <u>Kontrollgruppe</u> | p-Wert |
|---|--------------------------|------------------------------|---------------|
| | n (%) | n (%) | |
| Gesamtzahl der Patienten | 39 (100 %) | 41 (100 %) | - |
| Patienten mit Fragmentozytenwerten $\geq 3 \text{ ‰}$ | 29 (80,5 %) | 21 (51,2 %) | $p = 0,007$ |
| Patienten mit Fragmentozytenwerten $\geq 3 \text{ ‰}$ und gleichzeitiger LDH-Aktivität sowie Thrombozytenwerten außerhalb des Normbereichs (entspricht Schweregrad 2) | 17 (47,2 %) | 13 (31,7 %) | $p = 0,164$ |
| Patienten mit der Diagnose einer transplantationsassoziierten TMA nach EBMT-Kriterien | 1 (2,6 %) | 0 (0 %) | $p = 0,302$ |

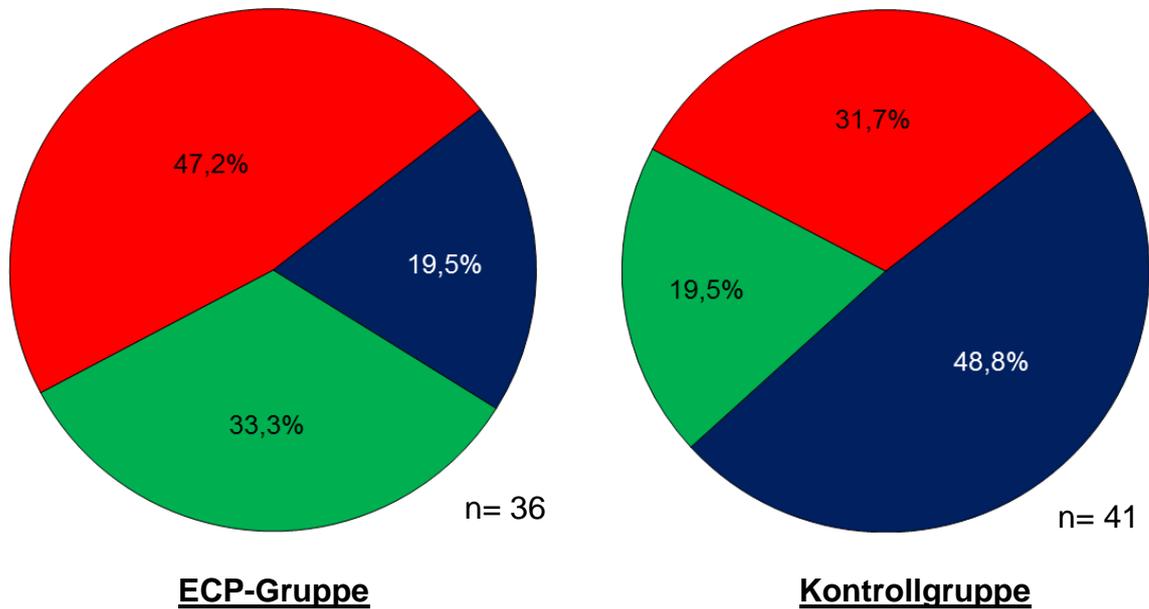
Tabelle 4-3: Häufigkeiten mikroangiopathischer Veränderungen sowie transplantationsassoziiierter thrombotischer Mikroangiopathien entsprechend den EBMT-Diagnosekriterien (nach Ruutu et al. 2007), Chi-Quadrat-Vierfeldertest

4.5 Häufigkeiten subklinischer mikroangiopathischer Veränderungen im Verlauf nach der Transplantation

Die Laborbefunde aller Patienten wurden auf die Fragestellung hin untersucht, ob im Nachbeobachtungszeitraum Zeichen mikroangiopathischer Veränderungen entsprechend des in Tabelle 3-1 abgebildeten Schemas auftraten. Bei jedem Patienten wurde der jeweils höchste aufgetretene Schweregrad festgehalten und die Verteilung wurde in Abbildung 4-1 aufgetragen.

Diese Untersuchung wurde jeweils für die ECP-Gruppe und für die Kontrollgruppe durchgeführt. Bei 3 Patienten aus der ECP-Gruppe konnte aufgrund des fehlenden Zugangs zu den Befunden der mikroskopischen Blutbilder, gleichbedeutend mit unbekanntem Fragmentozytenmesswerten, kein Score-Wert bestimmt werden. Diese Patienten wurden daher auch in allen nachfolgenden Auswertungen nicht weiter berücksichtigt. Die Anzahl der analysierten Patienten der ECP Gruppe ist daher $n = 36$. In beiden Patientengruppen traten bei einem Teil der Patienten mikroangiopathische Veränderungen der Schweregrade 1 und 2 auf. Im Detail war dies in der ECP-Gruppe bei 80,5 % und in der Kontrollgruppe bei 51,2 % der Patienten der Fall.

Verteilung des höchsten aufgetretenen Schweregrades der Endothelschädigung im Nachbeobachtungszeitraum



| | <u>ECP-Gruppe</u> | <u>Kontrollgruppe</u> |
|--|--------------------------|------------------------------|
| | n (%) | n (%) |
| Gesamtzahl der Patienten | 39 | 41 |
| keine Daten vorhanden | 3 | 0 |
| Zahl der analysierten Patienten | 36 | 41 |
| ■ maximal Schweregrad 2 | 17 (47,2 %) | 13 (31,7 %) |
| ■ maximal Schweregrad 1 | 12 (33,3 %) | 8 (19,5 %) |
| ■ maximal Schweregrad 0 | 7 (19,5 %) | 20 (48,8 %) |
| p-Wert | <i>p = 0,035</i> | |

Abbildung 4-1: Verteilung der maximalen Endothelschädigung im gesamten Nachbeobachtungszeitraum festgestellt anhand des in Tabelle 3-1 dargestellten Bewertungsschemas für den Schweregrad mikroangiopathischer Veränderungen bei Patienten der ECP-Gruppe und der Kontrollgruppe, *Mann-Whitney-U-Test: p = 0,035*

Zudem traten in der ECP-Gruppe häufiger mikroangiopathische Veränderungen des Schweregrads 2 auf als in der Kontrollgruppe (47,2 % vs. 31,7 %).

Mit einem Mann-Whitney-U-Test wurde nachgewiesen, dass zwischen der Verteilung der Schweregrade in der ECP- und der Kontrollgruppe ein statistisch signifikanter Unterschied bestand (Mann-Whitney-U-Test, $p = 0,035$).

Zusammenfassend kann die Aussage getroffen werden, dass bei Patienten mit ausgeprägter steroidabhängiger oder -resistenter akuter oder chronischer Graft-versus-Host Disease häufiger mikroangiopathische Veränderungen auftreten als bei Patienten, die keine relevante akute oder chronische GvHD entwickeln.

4.6 Gesamtüberleben in der ECP- und der Kontrollgruppe

Bei der Betrachtung des Gesamtüberlebens beider Kollektive fiel auf, dass der Nachbeobachtungszeitraum der Patienten der Kontrollgruppe kürzer war als bei Patienten der ECP-Gruppe. Dies war durch die Abwesenheit von Komplikationen begründet, die eine längerfristige Nachbetreuung in der Spezialambulanz nicht notwendig machte. Die Patienten wurden in die heimatnahe Weiterbetreuung durch einen niedergelassenen Facharzt übergeben und nachfolgende Patientendaten waren nicht weiter verfügbar. Der Anteil zensierter Beobachtungen war daher in der Kontrollgruppe mit 78 % bedeutend höher als in der ECP-Gruppe mit 47,2 %.

Der letzte Abfall der Überlebenskurve der Kontrollgruppe (Abbildung 4-2) erklärt sich dadurch, dass der am längsten in der Nachbeobachtung befindliche Patient während der Nachbeobachtungszeit verstarb, nachdem alle anderen Patienten aufgrund der Zensierung aus der Bewertung gefallen waren. Es ist zu beachten, dass die Aussagekraft der Auftragung, d.h. die Anzahl der Patienten, für die das Risiko, ein bestimmtes Ereignis zu erleben oder zu versterben besteht, mit der Kaplan-Meier-Methode abzuschätzen, aufgrund des hohen Anteils zensierter Daten im Verlauf abnimmt.

Über einen langen Zeitraum von weit über 2500 Tagen liegt die Überlebenskurve der ECP-Gruppe unterhalb derjenigen der Kontrollgruppe, sodass bei Patienten mit einer steroid-refraktären GvHD Hinweise auf ein niedrigeres Gesamtüberleben vorliegen.

Bei der statistischen Auswertung wurde mithilfe des Gehan's Wilcoxon-Tests der Unterschied im Gesamtüberleben zwischen den beiden Gruppen untersucht. Dabei war der Unterschied zwischen den beiden Gruppen knapp nicht signifikant (Gehan's Wilcoxon-Test, $p = 0,056$).

| | <u>ECP-Gruppe</u> | <u>Kontrollgruppe</u> |
|-----------------------------|-----------------------------------|-----------------------|
| Gesamtzahl der Patienten: | 36 (100 %) | 41 (100 %) |
| zensierte Beobachtungen: | 17 (47,2 %) | 32 (78,0 %) |
| vollständige Beobachtungen: | 19 (52,8 %) | 9 (22,0 %) |
| Zeitraum: | gesamter Nachbeobachtungszeitraum | |

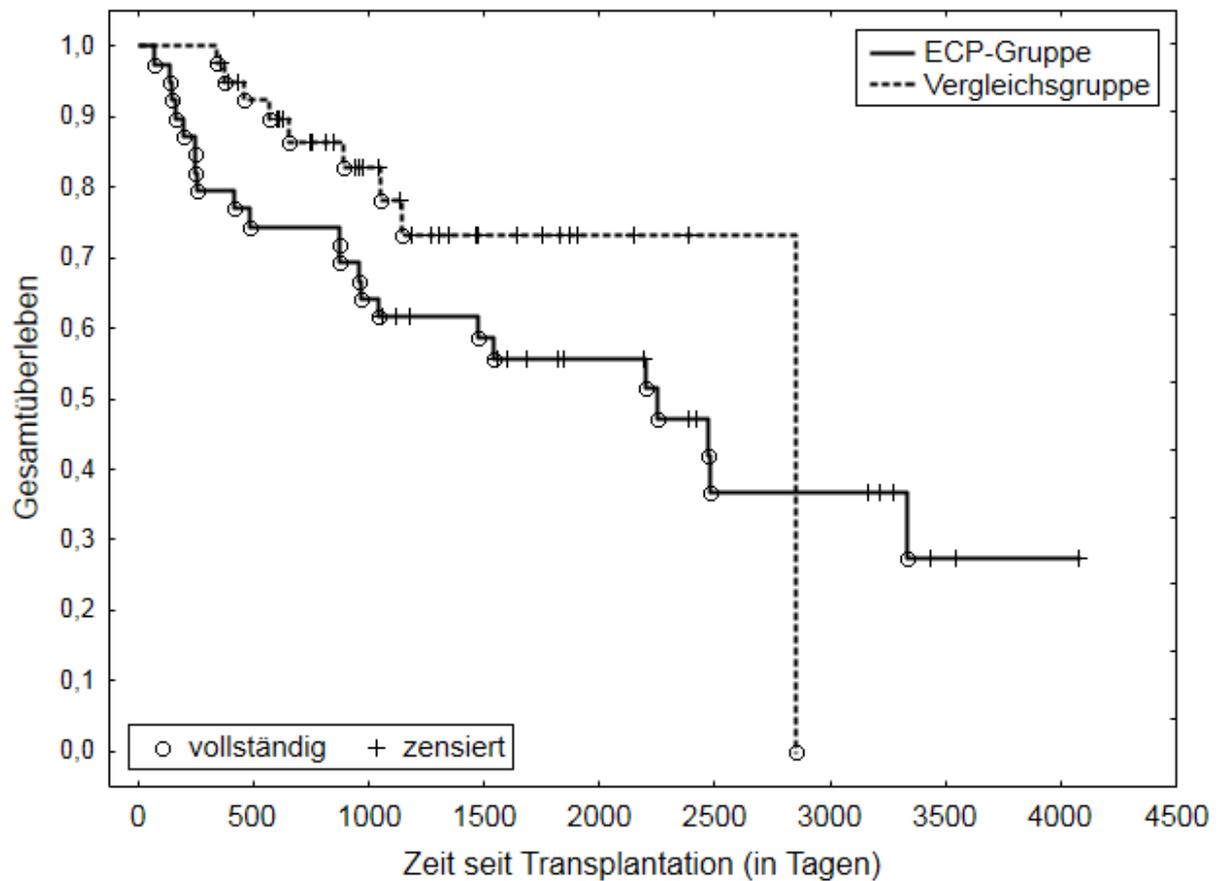


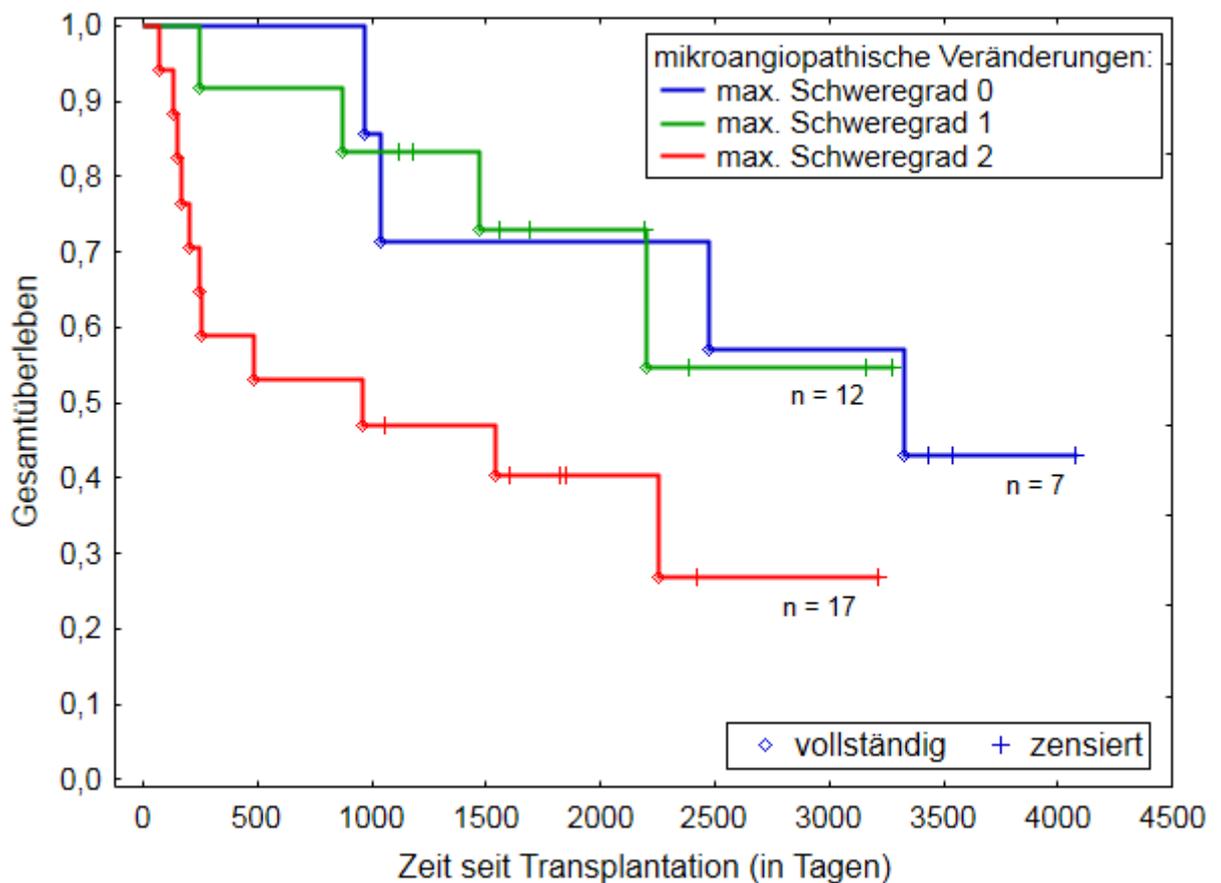
Abbildung 4-2: Kaplan-Meier-Analyse: Gesamtüberleben in der ECP- und der Kontroll-Gruppe, Gehan's Wilcoxon-Test: $p = 0,056$

4.7 Subklinische mikroangiopathische Veränderungen und Gesamtüberleben

Es wurden Kaplan-Meier-Analysen für die ECP- und die Kontrollgruppe erstellt, in denen die Patienten nach dem höchsten aufgetretenen Schweregrad mikroangiopathischer Veränderungen im Nachbeobachtungszeitraum gruppiert wurden, um der Frage nachzugehen, inwiefern die Anwesenheit von Zeichen mikroangiopathischer Veränderungen, auch ohne das Vorhandensein einer manifesten ta-TMA, mit dem Gesamtüberleben der betroffenen Patienten korreliert (Abbildung 4-3).

A) ECP-Gruppe

Gesamtzahl der Patienten: 36 (100 %)
zensierte Beobachtungen: 17 (47,2 %)
vollständige Beobachtungen: 19 (52,8 %)
Zeitraum: gesamter Nachbeobachtungszeitraum



B) Kontrollgruppe

| | |
|-----------------------------|-----------------------------------|
| Gesamtzahl der Patienten: | 41 (100 %) |
| zensierte Beobachtungen: | 32 (78,0 %) |
| vollständige Beobachtungen: | 9 (22,0 %) |
| Zeitraum: | gesamter Nachbeobachtungszeitraum |

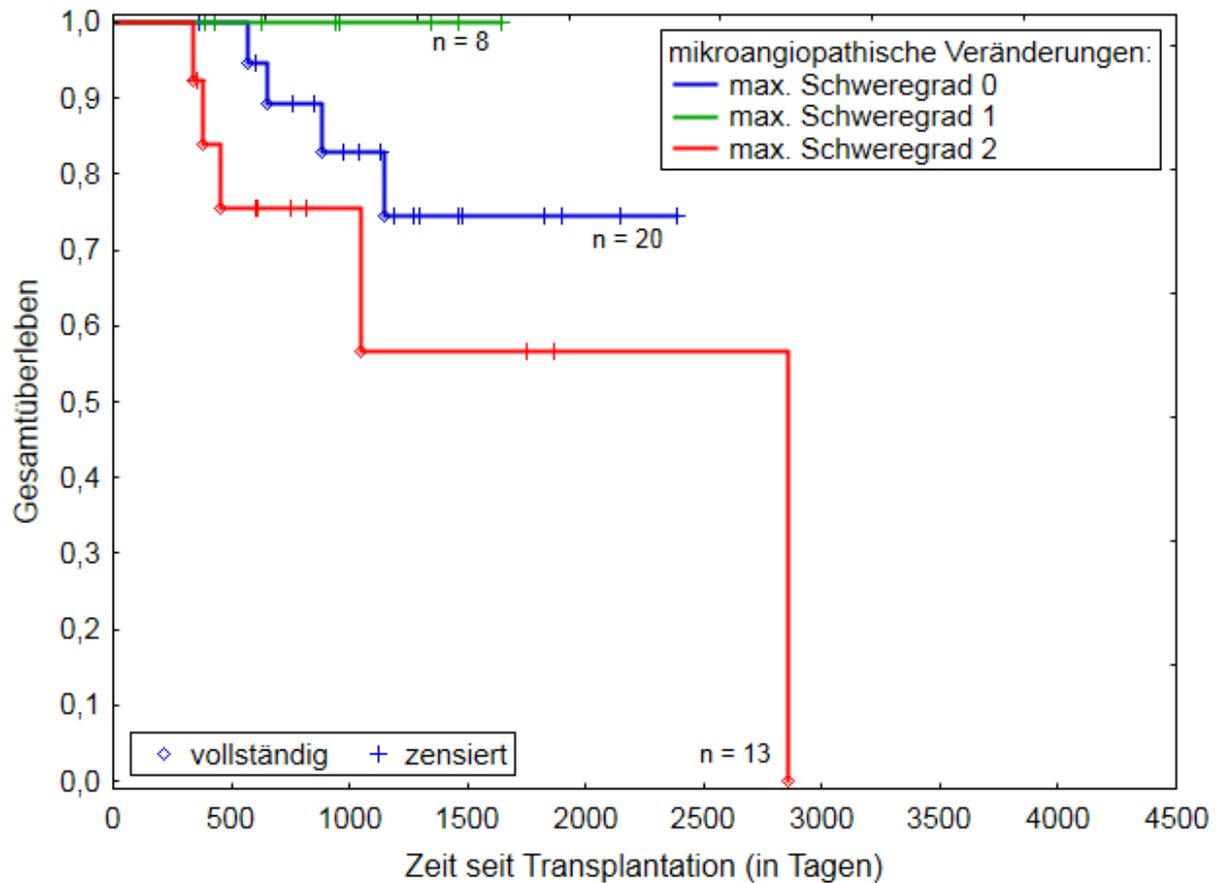


Abbildung 4-3: **Kaplan-Meier-Analyse: Gesamtüberleben der Patienten A) der ECP- und B) der Kontrollgruppe, Einteilung nach dem höchsten erfassten Schweregrad mikroangiopathischer Veränderungen, Gehan's Wilcoxon-Test für mehr als 2 Gruppen, ECP-Gruppe: $p = 0,047$ und Kontrollgruppe: $p = 0,158$**

ECP-Gruppe:

Die Daten wurden mit einer Variante des Gehan's Wilcoxon-Tests für mehr als zwei Gruppen ausgewertet.

Es wurde ein signifikanter Unterschied ($p = 0,047$) zwischen den Kaplan-Meier-Funktionen der drei Untergruppen Schweregrad 0, 1 und 2 festgestellt.

Daraufhin wurden mithilfe des Gehan's Wilcoxon-Tests Paarvergleiche durchgeführt:

Vergleich „max. Schweregrad 0“ und „max. Schweregrad 1“: $p = 0,936$

Vergleich „max. Schweregrad 0“ und „max. Schweregrad 2“: $p = 0,062$

Vergleich „max. Schweregrad 1“ und „max. Schweregrad 2“: $p = 0,041$

Nach Anpassung des Signifikanzniveaus bei multiplen Paarvergleichen entsprechend der Bonferroni-Methode auf $p < 0,01\bar{7}$ konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen zwei bestimmten Gruppen festgestellt werden. Zwischen den Patienten der Gruppen „max. Schweregrad 0“ und „max. Schweregrad 1“ bestand kein wesentlicher Unterschied in der Überlebensdauer ($p = 0,936$). Das Gesamtüberleben derjenigen Patienten, bei denen im Verlauf nach der Transplantation mikroangiopathische Veränderungen des Schweregrads 2 auftraten, lag jedoch deutlich unterhalb des Gesamtüberlebens der Gruppen „max. Schweregrad 1“ und „max. Schweregrad 0“. Der Unterschied war jedoch nicht statistisch signifikant.

Kontrollgruppe:

Eine eben solche Analyse wurde mit den Daten der Kontrollgruppe durchgeführt. Auch hier erscheint das Gesamtüberleben von Patienten, bei denen mikroangiopathische Veränderungen zweiten Grades auftreten, deutlich vermindert (Abbildung 4-3, B). Die Daten wurden mithilfe des Gehan's Wilcoxon-Tests für mehr als zwei Gruppen analysiert. Der Unterschied zwischen den Überlebensraten der drei Untergruppen war in dieser Gruppe jedoch nicht signifikant ($p = 0,158$). Da der globale statistische Test bereits nicht signifikant war, wurde auf Paarvergleiche verzichtet.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass in beiden Patientenkollektiven das Auftreten von deutlichen Hinweisen auf mikroangiopathische Schädigung (Schweregrad 2) im Zeitraum nach der Transplantation mit einem niedrigeren Gesamtüberleben im Vergleich zu Patienten, bei denen Schädigungszeichen dieses Schweregrads nicht auftraten, einherging. Bei der Auswertung der Daten der ECP-Gruppe erreichte der Unterschied zwischen den drei betrachteten Gruppen das Signifikanzniveau.

4.8 Auftretenszeitraum mikroangiopathischer Veränderungen

Aus den Kaplan-Meier-Kurven aus Abschnitt 4.7 ging hervor, dass von einer erniedrigten Überlebenswahrscheinlichkeit auszugehen war, wenn höhergradige mikroangiopathische Veränderungen nach der Stammzelltransplantation auftraten.

Im Folgenden sollte das zeitliche Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen nach der Transplantation evaluiert werden. Die ECP- und die Kontrollgruppe wurden separat betrachtet.

Es wurde ersichtlich, dass mikroangiopathische Veränderungen besonders häufig im Zeitverlauf des ersten Jahres nach Stammzelltransplantation auftraten und mit größer werdendem Abstand zur Transplantation seltener wurden (Abbildung 4-4). In der ECP-Gruppe traten mikroangiopathische Veränderungen auch höheren Schweregrads noch mehrere Jahre nach allogener Stammzelltransplantation auf. In der Kontrollgruppe war dies nur sehr selten der Fall.

Die Gesamtheit aller Messungen betreffend, kann die Aussage getroffen werden, dass leichte Veränderungen im Sinne eines Schweregrads 1 insgesamt häufiger festgestellt wurden als schwere Veränderungen im Sinne eines Schweregrads 2.

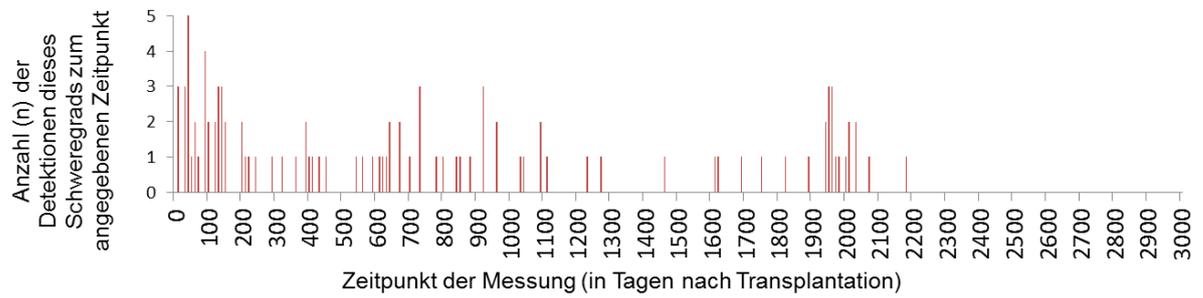
Mikroangiopathische Veränderungen traten in der Kontrollgruppe in der Regel nur bis zu einem Jahr nach der Transplantation auf. In dieser Patientengruppe wurden keine Hinweise auf klinisch apparente Graft-versus-Host-Aktivität gefunden und somit konnte symptomatische GvHD als Auslöser der Veränderungen ausgeschlossen werden. Dieses Untersuchungsergebnis deckt sich mit der Hypothese, dass mikroangiopathische Veränderungen unter anderem durch die endotheliale Schädigung während des Konditionierungsverfahrens verursacht sein könnten.

In der ECP-Gruppe, also bei Patienten, bei denen sich nach der Stammzelltransplantation eine ausgeprägte GvHD manifestiert hatte, traten die mikroangiopathischen Laborveränderungen auch in dieser frühen Phase besonders häufig auf, sie konnten aber auch zu späteren Zeitpunkten noch gefunden werden.

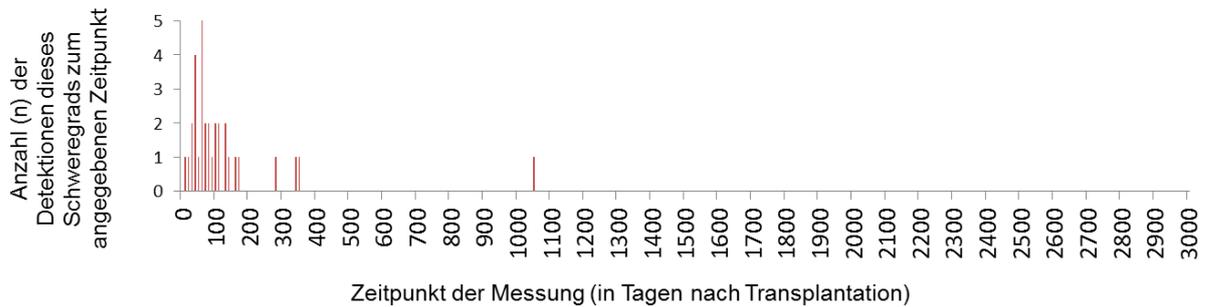
Dies deckt sich mit der Hypothese, dass neben der Schädigung durch das Konditionierungsverfahren auch Graft-versus-Host-Aktivität für mikroangiopathische Veränderungen verantwortlich ist.

A) Schweregrad 1

ECP-Gruppe:

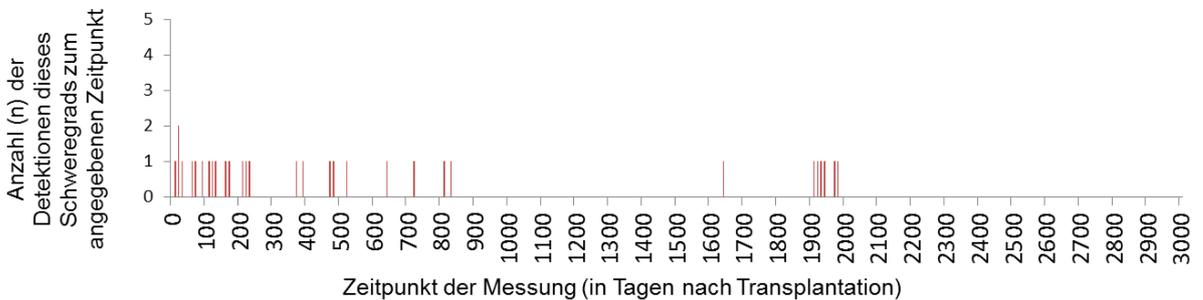


Kontrollgruppe:



B) Schweregrad 2

ECP-Gruppe:



Kontrollgruppe:

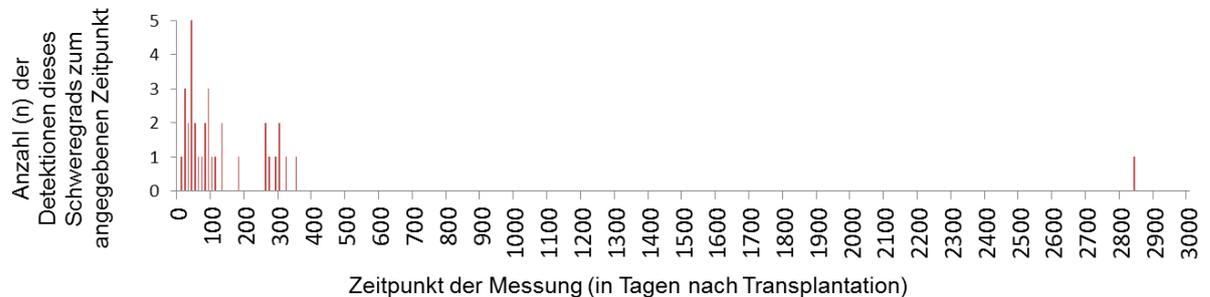


Abbildung 4-4: Zeitpunkt und Häufigkeit der Messung mikroangiopathischer Veränderungen A) des Schweregrads 1 und B) des Schweregrads 2

4.9 Risikofaktoren für das Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen

4.9.1 Transplantationsmodalitäten

Anhand der ECP- und der Kontrollgruppe wurde überprüft, ob bestimmte Modalitäten der allogenen Stammzelltransplantation mit einem vermehrten Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen im Verlauf nach der Stammzelltransplantation einhergingen.

Es wurden Daten über die Geschlechtszugehörigkeit des Spenders, das Verwandtschaftsverhältnis zwischen Spender und Empfänger, die Intensität des Konditionierungsschemas sowie die HLA-Übereinstimmung zwischen Spender und Empfänger zum Zeitpunkt der Transplantation analysiert (Abbildung 4-5).

Hierzu wurden Mann-Whitney-U-Tests durchgeführt, um zu überprüfen, ob eine oder mehrere Modalitäten des Transplantationsgeschehens mit einer signifikant unterschiedlichen Verteilung der Schweregrade mikroangiopathischer Veränderungen einhergehen.

In der statistischen Auswertung hatte keine der getesteten Transplantationsmodalitäten einen signifikanten Einfluss auf die Verteilung des maximal aufgetretenen Schweregrads mikroangiopathischer Veränderungen.

Das Geschlecht des Empfängers hatte in dieser Analyse keinen Einfluss auf das Auftreten der betrachteten Komplikation. Ebenso zeigte sich keine Relevanz der Intensität der Konditionierung hinsichtlich des Auftretens dieser Veränderungen.

Da die Anzahl der Transplantationen mit HLA-Mismatch äußerst gering war, erschienen die Daten hierzu wenig aussagekräftig. Insgesamt ergab sich kein signifikanter Einfluss dieser Transplantationsmodalität auf das Auftreten von mikroangiopathischen Veränderungen.

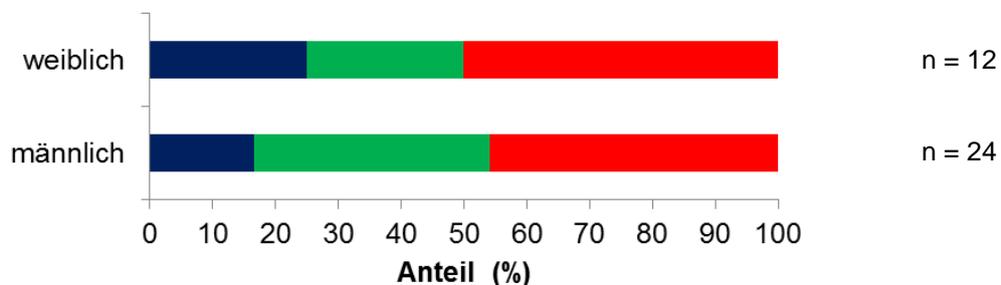
In der Kontrollgruppe traten mikroangiopathische Veränderungen des Schweregrads 2 bei Empfängern eines Transplantats von einem nicht-verwandten Spender häufiger auf als bei Empfängern eines Transplantats von einem Familienspender. Dieser Trend konnte in der ECP-Gruppe allerdings nicht bestätigt werden. Insgesamt zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der Verwendung eines Transplantats von einem nicht-verwandten Spender (MUD) und der Verwendung eines Transplantats von einem Familienspender (MRD).

■ maximal Schweregrad 0 ■ maximal Schweregrad 1 ■ maximal Schweregrad 2

A) Geschlecht

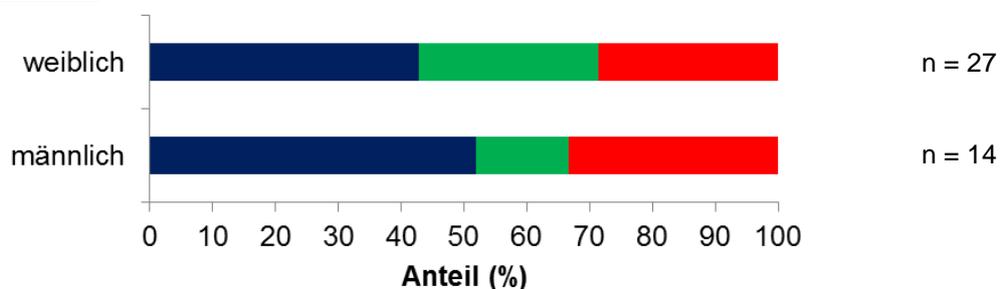
ECP-Gruppe:

$p = 0,973$



Kontrollgruppe:

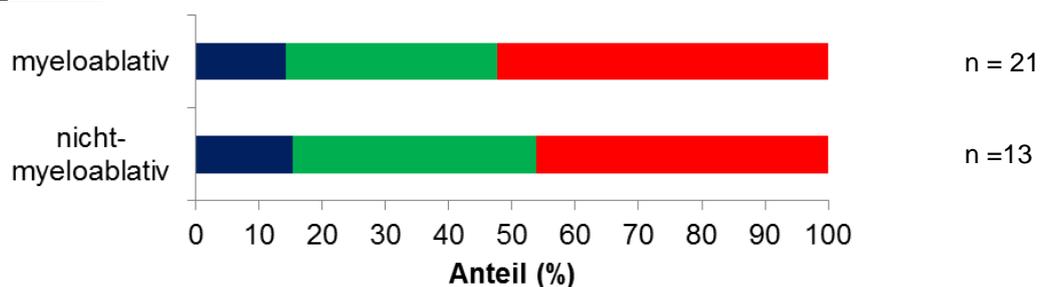
$p = 0,612$



B) Intensität des Konditionierungsschemas

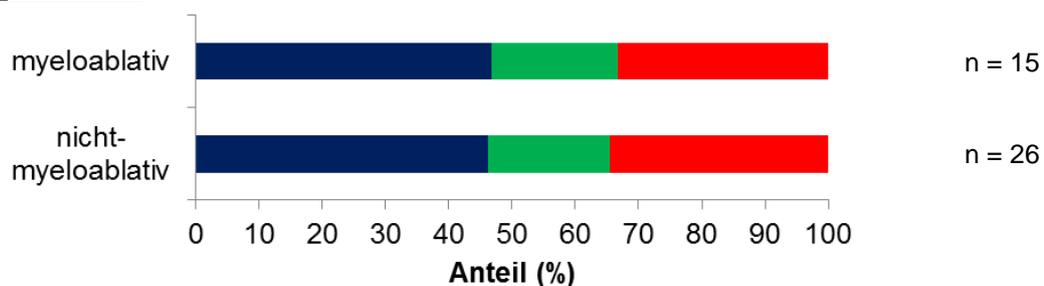
ECP-Gruppe:

$p = 0,862$



Kontrollgruppe:

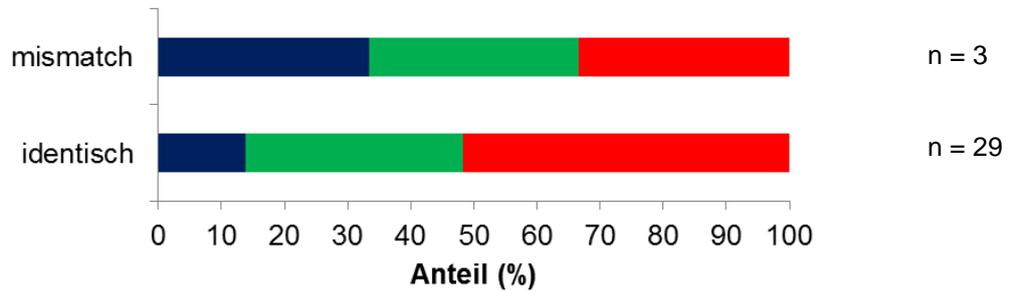
$p = 1,000$



C) HLA-Übereinstimmung zwischen Spender und Empfänger

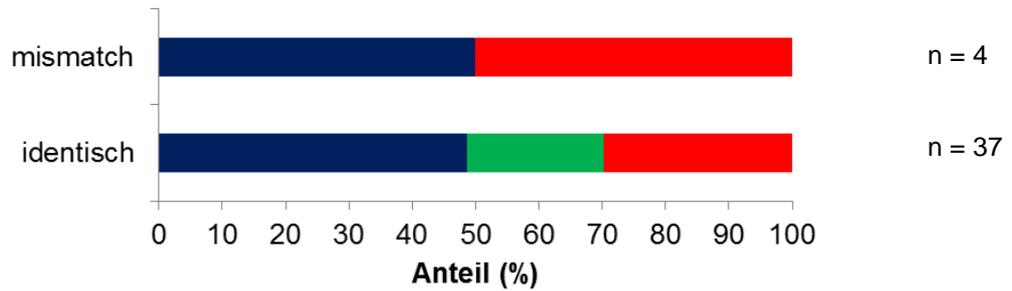
ECP-Gruppe:

$p = 0,552$



Kontrollgruppe:

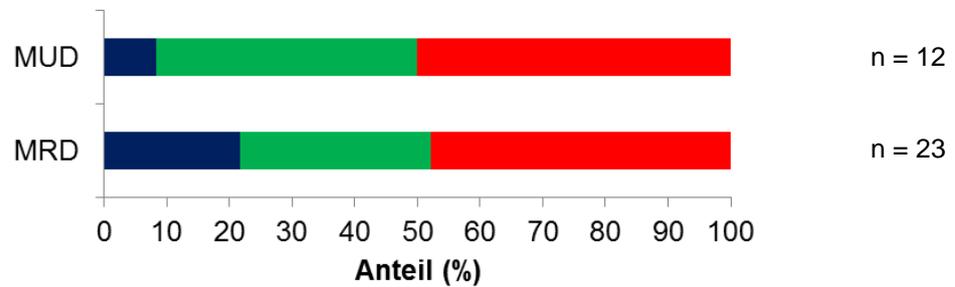
$p = 0,775$



D) Verwandtschaftsverhältnis zwischen Spender und Empfänger

ECP-Gruppe:

$p = 0,689$



Kontrollgruppe:

$p = 0,249$

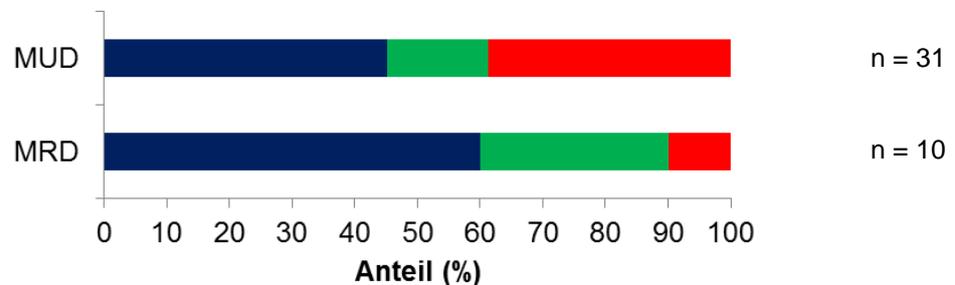


Abbildung 4-5:

Verteilung der Schweregrade mikroangiopathischer Veränderungen bei verschiedenen Transplantationsmodalitäten (A-D) bei der ECP- sowie der Kontrollgruppe, jeweils Mann-Whitney-U-Test

4.9.2 Akute GvHD

In der Kontrollgruppe lagen per definitionem keine Fälle akuter GvHD vor. Daher wurde nur anhand der Daten der ECP-Gruppe überprüft, ob das Auftreten einer akuten GvHD nach der Transplantation mit einer veränderten Auftretenshäufigkeit von mikroangiopathischen Veränderungen korrelierte.

Bei insgesamt 24 Patienten wurde im Verlauf nach der Transplantation die Manifestation einer akuten GvHD erfasst. Bei 5 Patienten war die akute GvHD die Indikation für die ECP-Behandlung, die übrigen 19 Patienten entwickelten die akute GvHD vor dem Auftreten der chronischen GvHD, die bei ihnen die Indikation für die ECP-Behandlung war. 10 Patienten hatten keine relevante akute GvHD entwickelt. Bei 5 Patienten konnten keine Angaben zu dieser Fragestellung gefunden werden.

Die Daten wurden mithilfe eines Mann-Whitney-U-Tests statistisch analysiert. Der Unterschied zwischen beiden Gruppen war mit einem p-Wert von $p = 0,067$ als knapp nicht signifikant einzuschätzen. Insgesamt zeigte sich ein Trend hin zum häufigeren Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen bei Patienten, die eine akute GvHD in der frühen Phase nach der Transplantation entwickelt hatten (Abbildung 4-6).

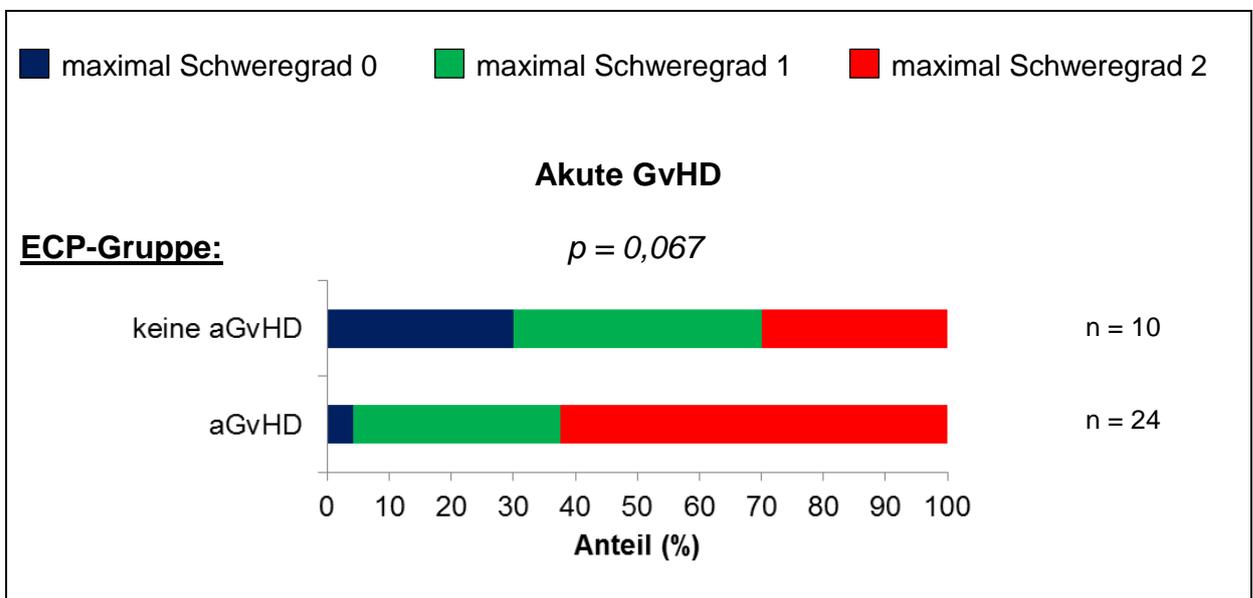


Abbildung 4-6: Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer akuten GvHD und mikroangiopathischen Veränderungen in der ECP-Gruppe, Mann-Whitney-U-Test: $p = 0,067$

Wie bereits in Abbildung 4-1 festgestellt, traten mikroangiopathische Veränderungen in der ECP-Gruppe, also bei Patienten mit steroidrefraktärer oder -abhängiger akuter oder chronischer GvHD, häufiger auf als bei Patienten ohne GvHD (Kontrollgruppe). In dieser Analyse konnte gezeigt werden, dass insbesondere die Manifestation einer akuten GvHD mit dem Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen assoziiert war.

4.10 Analyse der Wirksamkeit extrakorporaler Photopheresen

In Tabelle 4-4 wurden Daten zur Anwendung extrakorporaler Photopheresen, beispielsweise die mediane Anzahl von ECP-Zyklen, im zugrundeliegenden Patientenkollektiv aufgeführt.

| | |
|--|-----------------------|
| Indikation zur ECP: | n (%) |
| akute GvHD | 5 (12,8 %) |
| chronische GvHD | 34 (87,2 %) |
| Medianer Abstand zwischen 2 ECP-Zyklen: | n (Spannweite) |
| bei akuter GvHD | 7 (3-45) Tage |
| bei chronischer GvHD | 29 (3-162) Tage |
| Mediane Anzahl von ECP-Zyklen: | n (Spannweite) |
| | 9 (1-40) |

Tabelle 4-4: Daten zur Anwendung der extrakorporalen Photopherese-Therapie in der ECP-Gruppe des untersuchten Patientenkollektivs: Indikation, medianer Abstand und mediane Anzahl der ECP-Zyklen

In den nachfolgenden Abschnitten 4.10.1 und 4.10.2 wird die Wirksamkeit dieses Therapieverfahrens bei der Behandlung von steroidresistenter oder -abhängiger Graft-versus-Host Disease anhand der Therapieziele 1.) Dosisreduktion von Steroiden und 2.) Verbesserung von GvHD-Manifestationen analysiert.

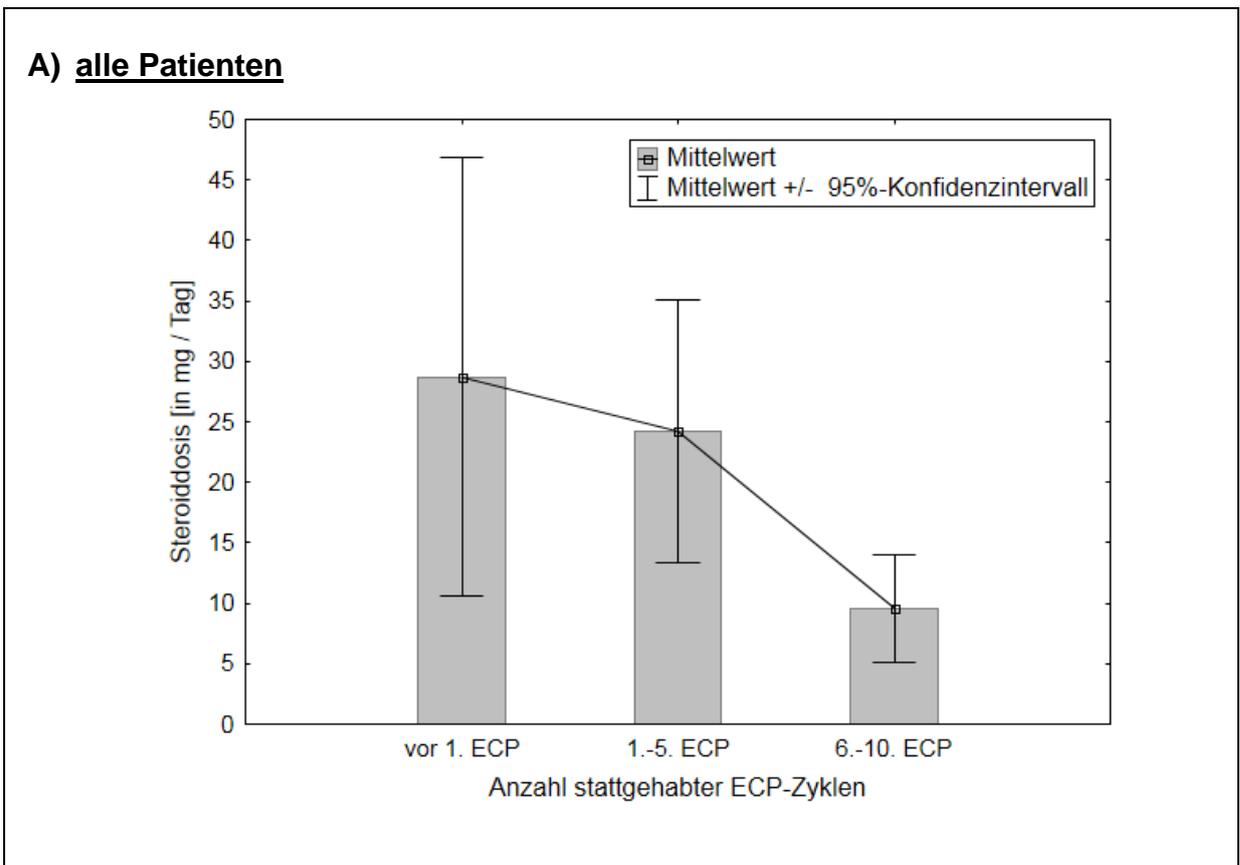
Die Steroiddosis und der Ausprägungsgrad der GvHD-Manifestationen wurden zu den folgenden Zeitpunkten dokumentiert und ausgewertet:

- a) vor Beginn der 1. ECP,
- b) zu einem möglichst späten Zeitpunkt im Verlauf des 1.-5. ECP-Zyklus und
- c) zu einem möglichst späten Zeitpunkt im Verlauf des 6.-10. ECP-Zyklus.

4.10.1 Steroiddosis

Die zugrundeliegenden Daten wurden mithilfe einer Repeated-Measures-ANOVA auf die Fragestellung hin statistisch ausgewertet, ob der Einflussfaktor „Zeit“ (Abszisse), demnach die fortschreitende ECP-Behandlung, einen signifikanten Einfluss auf die Messgröße „Steroiddosis“ (Ordinate) hat (Abbildung 4-7, A)). Es wurde ein p-Wert von $p = 0,003$ berechnet.

Bis zum Zeitraum „6.-10. ECP“ sank die Zahl der Beobachtungen deutlich ab, da einige Patienten wegen Nichtansprechens oder aufgrund ihres Versterbens weniger als 6 ECP-Zyklen durchliefen und somit am dritten Messzeitpunkt keinen Anteil hatten. Um eine Verzerrung durch den Ausfall von Patienten auszuschließen, wurde die Analyse nur mit den Daten von Patienten, die sich mindestens sechs ECP-Zyklen unterzogen hatten, noch einmal durchgeführt (Abbildung 4-7, B)). Es wurde erneut eine Repeated-Measures-ANOVA durchgeführt, die einen p-Wert von $p = 0,008$ ergab.



B) Patienten, mit längerfristiger ECP-Therapie (≥ 6 ECP-Zyklen)

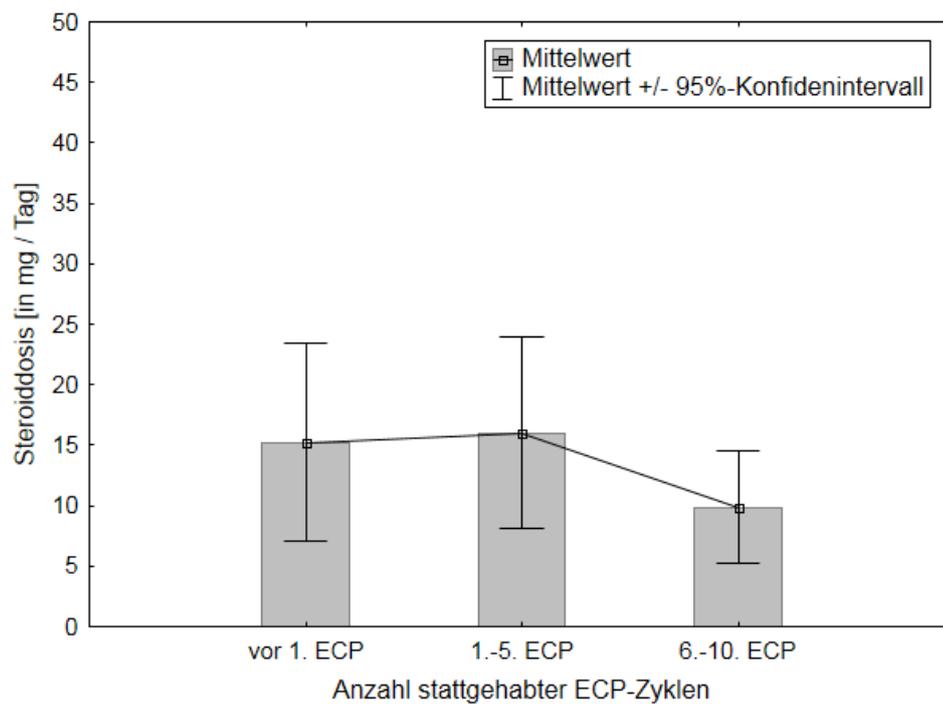


Abbildung 4-7: Mittelwert der Steroiddosis im Zeitverlauf der ECP-Behandlung bei A) allen Patienten und B) bei Patienten mit längerfristiger Photopherese-Therapie (≥ 6 ECP-Zyklen), ANOVA mit Messwiederholungen nach Rangverteilung der Messdaten, A) alle Patienten: $p = 0,003$ und B) Patienten mit längerfristiger ECP-Therapie: $p = 0,008$

Daraufhin wurden Paarvergleiche durchgeführt:

Vergleich „vor 1. ECP“ / „während 1.-5. ECP“: $p = 0,721$

Vergleich „vor 1. ECP“ / „während 6.-10. ECP“: $p = 0,040$

Vergleich „während 1.-5. ECP“ / „während 6.-10. ECP“: $p = 0,003$

Entsprechend der Bonferroni-Methode wurde bei multipler Paartestung das Signifikanzniveau auf $p < 0,01\bar{7}$ angepasst.

Unter der Annahme, dass eines der Therapieziele der extrakorporalen Photopherese die Ermöglichung einer Dosisreduktion der Steroide darstellt, wurde die Wirksamkeit dieser Behandlung bestätigt. Die Steroiddosis nahm im Verlauf der ECP-Zyklen signifikant ab.

4.10.2 GvHD-Manifestationen

Um auch eine Aussage über die Wirksamkeit der ECP hinsichtlich einer Verbesserung der Symptomatik treffen zu können, wurde die Ausprägung der GvHD-Manifestationen im gleichen Zeitraum retrospektiv erhoben.

Es wurden nur Fälle mit chronischer GvHD als Indikation der ECP ausgewertet. Aufgrund einer unzureichenden Datenlage und einer geringen Fallzahl im betrachteten Kollektiv konnte keine aussagekräftige Analyse von Patienten mit akuter GvHD als Indikation durchgeführt werden.

Es wurde das Staging- und Gradingssystem entsprechend den NIH-Konsensus-Kriterien (Filipovich et al. 2005) angewandt. Dieses wurde bereits in Abschnitt 3.4 beschrieben.

Es zeigte sich, dass im Langzeitverlauf der Anteil der Patienten mit einem schweren Ausprägungsgrad der GvHD abnahm und der Anteil von Patienten mit leichter Ausprägung (mild) zunahm (Abbildung 4-8).

Es wurde eine Rangverteilung über die Messwerte gelegt und eine Repeated-Measures-ANOVA mit der Fragestellung durchgeführt, ob der Einflussfaktor „Zeit“, in diesem Fall also die fortschreitende ECP-Behandlung, einen signifikanten Einfluss auf die Ausprägung der GvHD hatte. Es wurde ein p-Wert von $p < 0,001$ berechnet. Analog zur Analyse der Veränderung der verabreichten Steroiddosis im Verlauf der ECP-Behandlung wurde auch hier, mit dem Ziel Verzerrungen durch Ausfälle auszuschließen, eine Repeated-Measures-ANOVA nochmals nur für diejenigen Patienten durchgeführt, die längerfristige Photopherese-Therapie (≥ 6 Zyklen) erhielten ($n = 24$) (nicht dargestellt). Es wurde auch hier ein p-Wert von $p < 0,001$ berechnet.

Daraufhin wurden mit diesen Daten Paarvergleiche durchgeführt:

Vergleich „vor 1. ECP“ / „während 1.-5. ECP“: $p = 0,117$

Vergleich „vor 1. ECP“ / „während 6.-10. ECP“: $p < 0,001$

Vergleich „während 1.-5. ECP“ / „während 6.-10. ECP“: $p = 0,002$

Entsprechend der Bonferroni-Methode wurde bei multipler Paartestung das Signifikanzniveau auf $p < 0,017$ angepasst. Eine signifikante Veränderung der Schwere der GvHD-Manifestationen konnte nach 6-10 ECP-Zyklen erreicht werden. Die Wirksamkeit der ECP-Therapie wurde folglich simultan zum Therapieziel „Dosisreduktion der Steroide“ auch für das zweite Therapieziel „Verbesserung der GvHD-Manifestationen“ bestätigt.

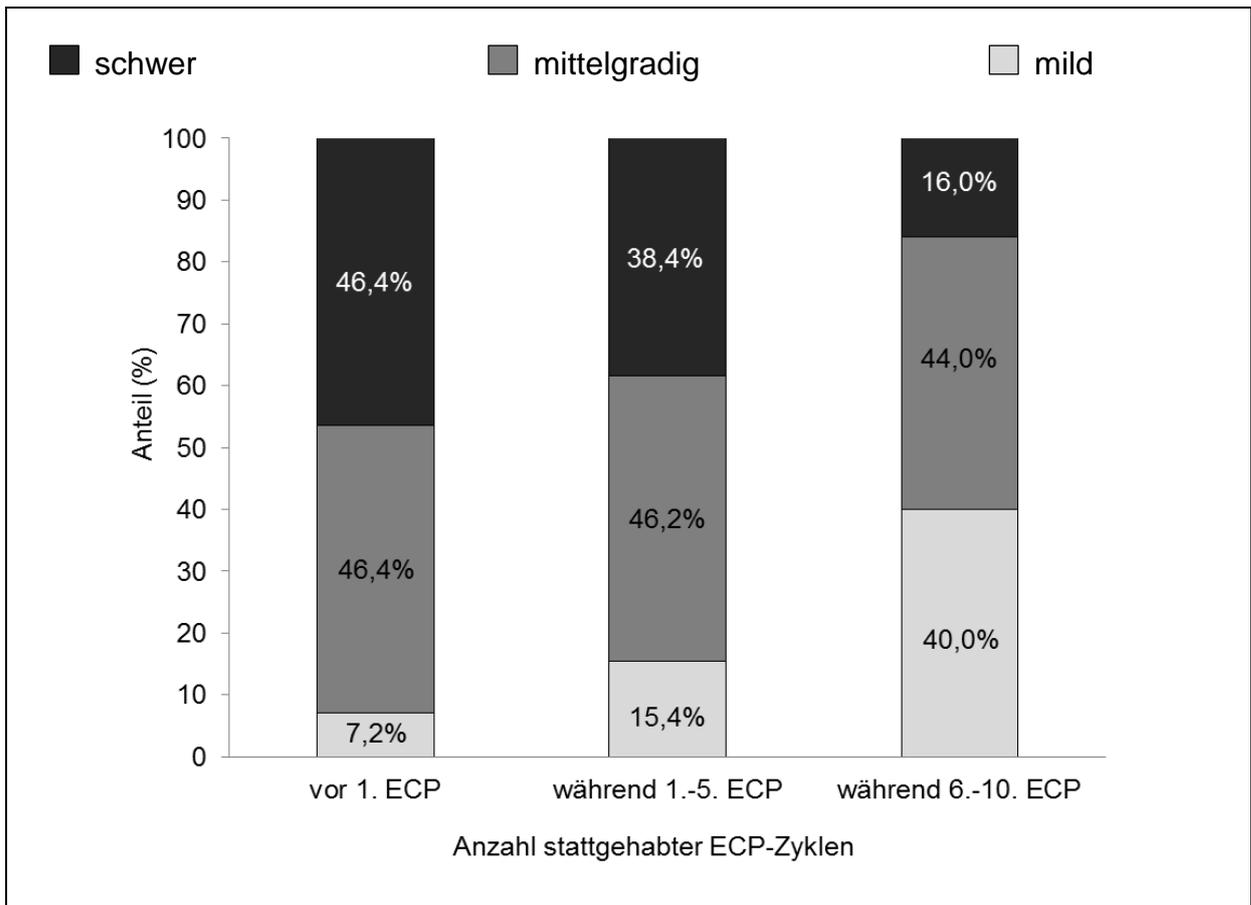


Abbildung 4-8: Verteilung der Gesamtschweregrade (schwer, mittelgradig und mild) bei Patienten mit chronischer GvHD im Verlauf der Photopherese-Behandlung (ECP-Gruppe: alle Patienten mit verfügbaren Daten), ANOVA mit Messwiederholungen nach Rangverteilung der Messdaten: $p < 0,001$

4.11 Fallberichte zum Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen nach Initiation extrakorporaler Photopheresen

In Abbildung 4-9 wird der Krankheitsverlauf einer Patientin als kurzer Fallbericht schematisch dargestellt. Es handelt sich um die einzige Person in dieser Analyse, bei der das Vollbild einer transplantationsassoziierten TMA aufgetreten war.

Auf der Grundlage dieses Falles war die Hypothese aufgestellt worden, dass die Durchführung extrakorporaler Photopheresen mikroangiopathische Veränderungen oder sogar eine manifeste ta-TMA auslösen kann. Es wurde nach weiteren ähnlichen Fällen, sowohl im dieser Arbeit zugrundeliegenden Patientenkollektiv als auch bei Patienten, bei denen nach 04/2011 mit einer extrakorporalen Photopherese-Therapie zur Behandlung von GvHD nach allogener Stammzelltransplantation begonnen worden war, gesucht. Ein weiteres Fallbeispiel wurde gefunden und in Abbildung 4-10 dargestellt.

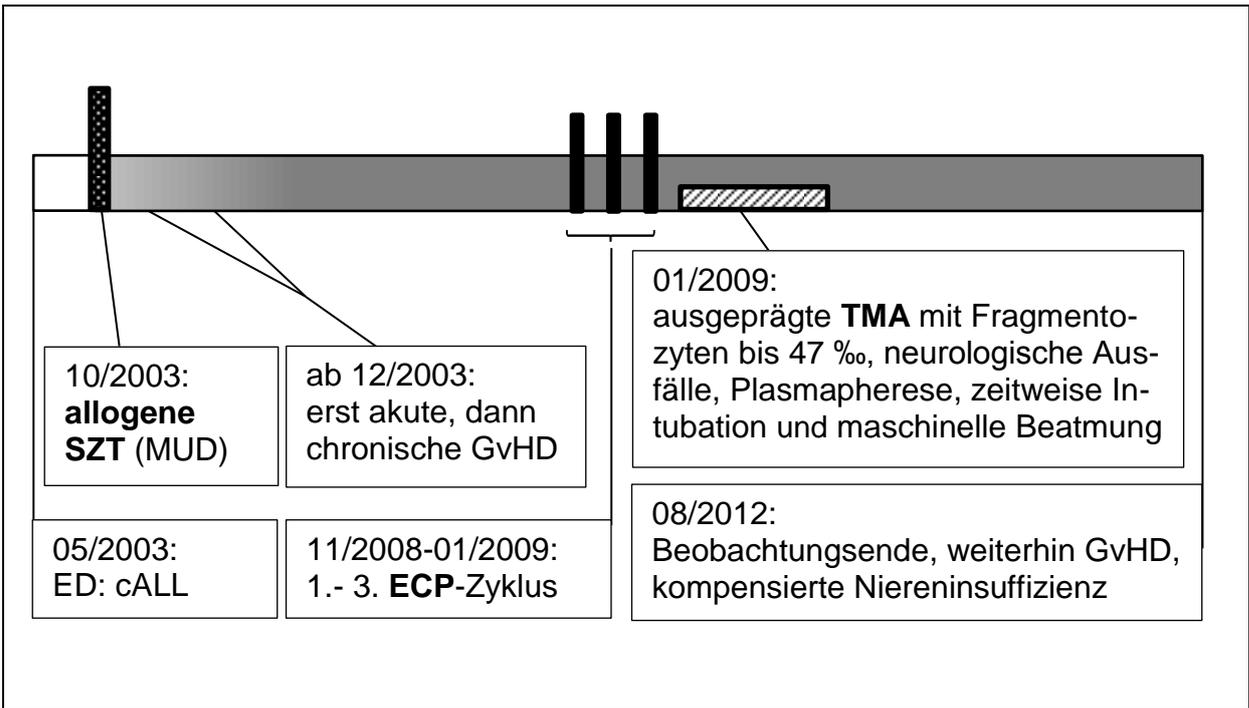


Abbildung 4-9: Fallbericht einer Patientin [weiblich, 48 Jahre bei Erstdiagnose (ED)] mit transplantationsassoziiertter TMA nach Initiation der ECP-Therapie

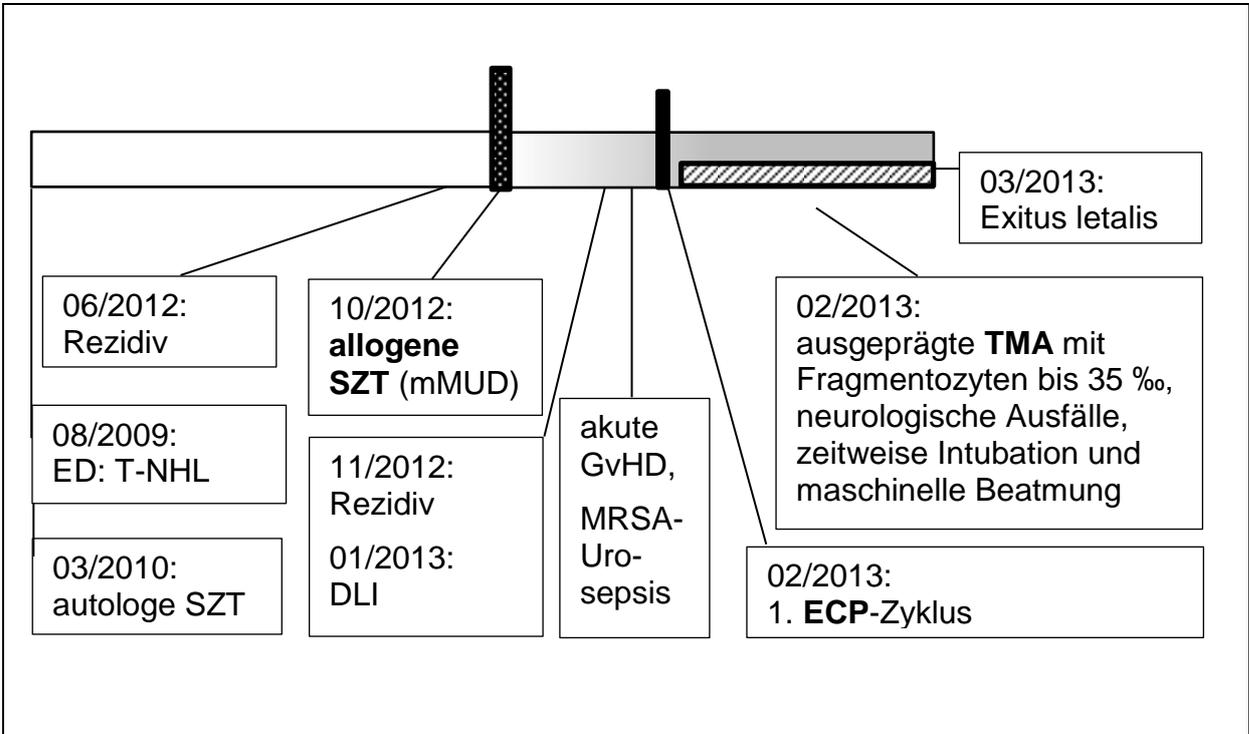


Abbildung 4-10: Fallbericht eines Patienten [männlich, 53 Jahre bei Erstdiagnose (ED)] mit ausgeprägten mikroangiopathischen Veränderungen nach Initiation der ECP-Therapie

4.12 Mikroangiopathische Veränderungen im Zeitraum der ECP-Therapie

Im folgenden Abschnitt wurde die Hypothese aus Abschnitt 4.11 genauer untersucht. Im Detail wurde überprüft, ob ein Zusammenhang zwischen der Behandlung von GvHD-Patienten mit extrakorporalen Photopheresen und dem Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen gefunden werden konnte. Hierfür wurde das Auftreten dieser Veränderungen im Verlauf der ECP-Therapie entsprechend dem in Tabelle 3-1 vorgestellten Bewertungsschema ausgewertet.

Zunächst wurde der Zeitraum von 8 Wochen vor der ersten Photopherese mit dem Zeitraum nach Beginn dieser Therapie (1. bis maximal 5. ECP-Zyklus) betrachtet. Für diese Zeiträume lagen die Daten von 32 Patienten zur Auswertung vor. Mikroangiopathische Veränderungen des Schweregrads 1 traten sowohl vor als auch nach Initiation der ECP-Therapie auf. Keiner der analysierten Patienten wies vor Beginn dieser Therapie mikroangiopathische Veränderungen des Schweregrads 2 auf. Während der ersten Photopheresen entwickelten jedoch 7 Patienten (21,9 %) Veränderungen dieses Schweregrads (Abbildung 4-11, A). In der statistischen Auswertung ergab sich ein p-Wert von $p = 0,044$ auf der Basis einer Repeated-Measures-ANOVA nach einer Rangverteilung der ordinalverteilten Messdaten. Es kann somit ein signifikant häufigeres Auftreten von höheren Schweregraden mikroangiopathischer Veränderungen im Verlauf der ersten ECP-Zyklen angenommen werden.

In einem weiteren Analyseschritt wurden Patienten betrachtet, die sich längerfristig, in diesem Fall mehr als 5 Zyklen, der ECP-Therapie unterzogen hatten. Es lagen hierfür die Daten von insgesamt 20 Patienten vor. Gründe dafür, dass Patienten nicht mehr als 5 ECP-Zyklen erhielten, waren unter anderem ein nicht zufriedenstellendes Ansprechen auf die Therapie oder das Versterben der Patienten. Es zeigte sich in der Gegenüberstellung des Zeitraums von 8 Wochen vor dem Beginn der ECP-Therapie mit dem Zeitraum vom 6. bis zum maximal 10. ECP-Zyklus, dass auch hier bei 2 Patienten (10 %) mikroangiopathische Veränderungen vom Schweregrad 2 auftraten (Abbildung 4-11, B). Es wurde analog zu vorherigen Analyse eine Repeated-Measures-ANOVA nach einer Rangverteilung der ordinalverteilten Messdaten durchgeführt. Es ergab sich ein p-Wert von $p = 0,145$, der als nicht signifikant zu einzuordnen war.

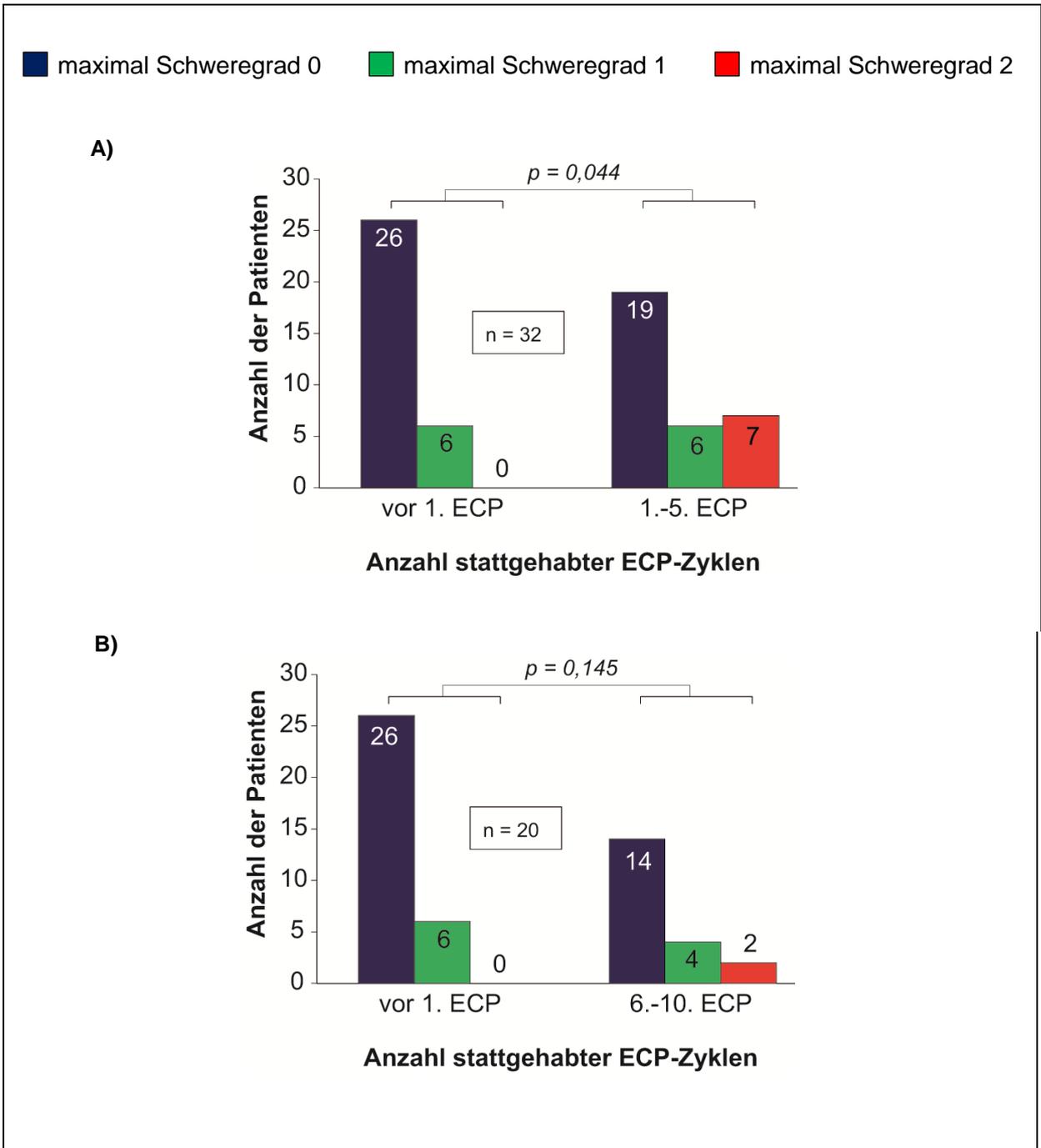


Abbildung 4-11: Verteilung der höchsten aufgetretenen Schweregrade mikroangiopathischer Veränderungen im Verlauf der ECP-Behandlung (A) Gegenüberstellung der Daten zum Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen von 32 Patienten während des Zeitraums vor der ECP-Behandlung und des Zeitraums während der ersten Photopherese-Zyklen (1.-5. ECP) und (B) Gegenüberstellung der Daten zum Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen von 20 Patienten mit längerfristiger ECP-Therapie aus dem Zeitraums vor der ECP-Therapie und dem Zeitraum während der späteren ECP-Therapie (6.-10. ECP), ANOVA mit Messwiederholungen nach Rangverteilung der Messdaten: A) $p = 0,044$ und B) $p = 0,145$

Insgesamt konnte im analysierten Patientenkollektiv während der ersten Photopheresen ein signifikant häufigeres Auftreten ausgeprägter mikroangiopathischer Veränderungen entsprechend des in dieser Arbeit verwendeten Schemas festgestellt werden. Im weiteren Therapieverlauf von Patienten mit längerfristiger ECP-Therapie zeigte sich zwar in der Gegenüberstellung mit dem Zeitraum vor Beginn der ECP-Therapie ein ebenfalls häufigeres Auftreten dieser Veränderungen. Es handelt sich in diesem Fall allerdings um einen statistisch nicht signifikanten Sachverhalt.

In Zusammenschau mit den Fallberichten, die in Abschnitt 4.11 dargestellt wurden, erhärtet sich der Verdacht, dass extrakorporale Photopheresen, insbesondere zu Beginn der Therapie, mikroangiopathische Veränderungen auslösen oder verstärken können. Diese Hypothese sollte an einem größeren Patientenkollektiv überprüft werden und auch der zugrundeliegende Mechanismus sollte in weiteren Analysen adressiert werden.

5 Diskussion

Die vorliegende Arbeit sollte mittels einer retrospektiven Erhebung die Frage klären, ob es einen Zusammenhang zwischen der Ausprägung sowie der klinischen Symptomatik einer Mikroangiopathie und dem Einsatz von extrakorporalen Photopheresen zur Therapie der Graft-versus-Host Disease bei Patienten nach allogener Stammzelltransplantation gibt.

Da im untersuchten Patientenkollektiv bei einem großen Teil der Patienten laborchemische Veränderungen auftraten, die mikroangiopathische Vorgänge erkennen ließen, aber den diagnostischen Kriterien der EBMT für die ta-TMA nicht entsprachen, wurde zunächst ein separates Bewertungsschema erstellt, um auch subklinische Veränderungen erfassen und klassifizieren zu können (Tabelle 3-1).

Das Schema basiert auf den bereits zuvor beschriebenen EBMT-Diagnosekriterien (Ruutu et al. 2007). Der Faktor Haptoglobin wurde jedoch nicht berücksichtigt, da er nicht routinemäßig im Rahmen von stationären Aufenthalten und ambulanten Kontrollterminen bestimmt wurde und somit für die retrospektive Auswertung nur in Einzelfällen zur Verfügung stand. Ebenso wurde der Faktor Hämoglobin nicht in das Bewertungsschema aufgenommen, da dieser Faktor durch die hämatologische Grunderkrankung sowie durch zahlreiche durch die Transplantation bedingte Faktoren so beeinflusst wurde, dass die hier betrachteten subklinischen mikroangiopathischen Veränderungen als Einflussgrößen zurücktraten.

Somit wurde in diesem Schema der Grad der angenommenen Schädigung durch die Höhe der Parameter Anzahl an Fragmentozyten sowie Thrombozyten im peripheren Blutaussstrich und Aktivität der LDH im Serum festgelegt.

Die Grenzen für auffällige Werte wurden so definiert, dass auch subklinische Veränderungen zu erfassen waren: Die Grenzwerte bei LDH und Thrombozyten entsprachen dem klinikinternen Normalbereich. Der Cutoff pathologischer Fragmentozytenwerte von $\geq 3 \text{ ‰}$ wurde gewählt, da in einer Veröffentlichung Kanamori et al. über die Untersuchung von 95 Blutaussstrichen gesunder Freiwilliger im Mittel $0,8 \text{ ‰}$ Fragmentozyten mit einer Spanne von $0,2\text{-}2,7 \text{ ‰}$ Fragmentozyten gefunden wurden (Kanamori et al. 2003).

Wenn auch Fragmentozyten insgesamt verhältnismäßig spezifisch für eine Schädigung des Endothels in der Mikrozirkulation im Rahmen einer hämolytischen Mikroangiopathie sind, können sie durchaus bei anderen mikroangiopathischen Krankungsbildern auftreten, beispielsweise bei der thrombotisch-thrombozytopenischen

Purpura (TTP), dem hämolytisch-urämischen Syndrom (HUS) oder dem schwangerschafts-assoziierten HELLP-Syndrom (Diem et al. 2005). Diese Krankheitsbilder waren bei den Patienten der hier analysierten Kohorte klinisch jeweils ausgeschlossen, sodass der Nachweis von Fragmentozyten im Ausstrich des peripheren Blutes verlässlich als transplantationsassoziierte Form gewertet werden konnte.

Einzelnen für sich betrachtet können eine erhöhte LDH-Aktivität im Serum und eine erniedrigte Thrombozytenzahl – gerade bei Patienten nach allogener Stammzelltransplantation – durch verschiedene Ursachen bedingt sein. Eine erhöhte LDH-Aktivität kann beispielsweise für eine Venen-occlusive Disease (VOD) sprechen, im Rahmen von Infektionen erhöht sein oder im Allgemeinen einen Zellzerfall, z. B. Tumorlyse, widerspiegeln. Die Anzahl der Thrombozyten kann beispielsweise aufgrund einer Transplantatinsuffizienz oder einem Verbrauch im Rahmen entzündlicher Prozesse oder Blutungen erniedrigt sein.

Um auszuschließen, dass durch eine maschinelle Zerstörung von Erythrozyten während der Apherese artifiziell hohe Fragmentozytenwerte und durch Verbrauch während der Zellseparation artifiziell niedrige Thrombozytenwerte zu einer Verzerrung der Ergebnisse führten, wurden am Tag einer ECP-Sitzung gemessene Laborparameter nicht berücksichtigt.

Systemische Infektionen mit *Aspergillus species* sowie mit verschiedenen Viren, insbesondere CMV, Adenoviren, HHV-6 sowie Parvovirus B19 können zu mikroangiopathischen Veränderungen führen (George et al. 2004). Da Infektionen dieser Art im Rahmen der allogenen Stammzelltransplantation auftreten, kann dies ein nicht zu vernachlässigender ursächlicher Faktor für mikroangiopathische Veränderungen auch bei den untersuchten Patienten gewesen sein.

Trotz der vielfältigen möglichen Ursachen für außerhalb des Normbereichs liegende einzelne Messgrößen wurde daher in dieser Analyse davon ausgegangen, dass das kombinierte Auftreten der drei Parameter Fragmentozytenzahl, Thrombozytenzahl und LDH-Aktivität mit Werten außerhalb des Normbereichs als ausreichender Indikator für das Vorliegen einer mikroangiopathischen Schädigung mit hämolytischen Veränderungen zu betrachten ist.

Zur Verbesserung der Erfassung mikroangiopathischer Veränderungen könnten bei einer prospektiv angelegten Studie auch weitere Marker in Betracht gezogen werden,

insbesondere die Messung von zirkulierenden Endothelzellen. Diese standen allerdings für eine explorative retrospektive Analyse nicht zur Verfügung.

Zirkulierende Endothelzellen zeichnen sich unter anderem durch das Oberflächenprotein CD142 aus. Sie sind im Blut von Gesunden nur äußerst selten zu finden, treten aber bei einer Vielzahl von beispielsweise entzündlichen oder autoimmunologischen Prozessen auf und sind nach aktuellem Kenntnisstand Ausdruck einer ausgeprägten endothelialen Schädigung (Blann et al. 2005). Das vermehrte Auftreten von zirkulierenden Endothelzellen nach allogener Stammzelltransplantation, mutmaßlich als Folge von Chemotherapie, Bestrahlung, GvHD-Prophylaxe und von GvHD-Schädigung, wurde bereits von Woywodt et al. beschrieben (Woywodt et al. 2004).

Bei vielen Patienten traten nach Durchführung einer allogenen Stammzelltransplantation Hinweise auf mikroangiopathische Veränderungen auf. Dieses Phänomen zeigte sich in beiden Patientenkollektiven, das heißt sowohl bei Patienten, die im Krankheitsverlauf eine ausgeprägte akute und/oder chronische GvHD entwickelt hatten als auch bei Patienten, bei denen keine relevante GvHD aufgetreten war. Eine Bestätigung der Annahme, dass eine solche Schädigung unter anderem durch die Konditionierungsschemotherapie mitbedingt sein kann, zeigt sich darin, dass auch im Kontrollkollektiv, bestehend aus Patienten ohne relevante GvHD-Manifestation, im frühen Verlauf nach der Stammzelltransplantation Hinweise auf mikroangiopathische Veränderungen auftraten.

Zusätzlich wurde diese Hypothese von Woywodt und Kollegen bestätigt. Diese konnten eine deutliche Erhöhung zirkulierender Endothelzellen als Marker für endotheliale Schädigung nach der Applikation einer Konditionierungsschemotherapie nachweisen (Woywodt et al. 2004).

Jedoch konnte bei der Überprüfung der Risikofaktoren für das Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen kein signifikanter Einfluss der Intensität des Konditionierungsschemas bei Unterscheidung zwischen myeloablativem und nicht-myeloablativem Konzept festgestellt werden (Abschnitt 4.9.1). In der Literatur wurde dieser Zusammenhang im Rahmen der ta-TMA ebenfalls kontrovers diskutiert. Für den Einfluss sprechen die Ergebnisse von Hahn und Kollegen, die beispielsweise ein erhöhtes Risiko für das Auftreten einer ta-TMA bei hochdosierten Konditionierungsschemata zeigen konnten (Hahn et al. 2004) als auch von Woywodt und Kollegen, die höhere Level zirkulierender Endothelzellen bei Patienten nach myeloablativer

Konditionierung im Vergleich zu Patienten nach nicht-myeloablativer Konditionierung als Marker für endotheliale Schädigung nachweisen konnten (Woywodt et al. 2004). Nakamae und Kollegen stellten im Gegensatz hierzu fest, dass in ihrem Patientenkollektiv eine hochdosierte Konditionierung nicht grundsätzlich ein Risikofaktor für das Auftreten einer Mikroangiopathie war, sondern nur der Einsatz von Busulfan in hohen Dosierungen (Nakamae et al. 2006). Weitere Studien konnten wiederum keinen Einfluss der Intensität des Konditionierungsregimes auf die Auftretenswahrscheinlichkeit einer ta-TMA feststellen (z. B. Shimoni et al. 2004).

Insgesamt konnte in der hier vorliegenden Analyse festgestellt werden, dass in der Frühphase nach einer allogenen Stammzelltransplantation auch ohne das Vorliegen von GvH-Aktivität mikroangiopathische Veränderungen auftraten. Dies kann, auch im Einklang mit bereits publizierten Untersuchungen, wie weiter oben beschrieben, auf die Konditionierungschemotherapie zurückgeführt werden. Allerdings konnte in dieser Analyse kein Einfluss der Intensität der Konditionierung auf das Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen festgestellt werden.

In dieser Analyse konnte festgestellt werden, dass mikroangiopathische Veränderungen bei Patienten nach allogener Stammzelltransplantation mit und ohne klinisch apparenter GvHD auftraten. Bei Patienten, die eine ausgeprägte akute oder chronische GvHD entwickelt hatten (ECP-Gruppe), war dies jedoch signifikant häufiger der Fall als im Kontrollkollektiv, welches aus Patienten bestand, bei denen sich keine relevante GvHD manifestiert hatte (Abbildung 4-1, $p = 0,035$). Im Detail konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass insbesondere Patienten, bei denen eine akute GvHD auftrat, ein höheres Risiko für mikroangiopathische Veränderungen aufwiesen (Abbildung 4-7, $p = 0,067$).

Diese Ergebnisse bestätigten bereits veröffentlichte Daten zum Auftreten einer manifesten ta-TMA bei GvHD. Bereits 1989 wurde von Holler und Kollegen die Korrelation zwischen akuter GvHD und transplantationsassoziiertes TMA beschrieben (Holler et al. 1989). In nachfolgenden Publikationen wurde diese Korrelation trotz der ausgesprochen kontroversen Datenlage bezüglich der Risikofaktoren der ta-TMA mehrfach bestätigt, beispielsweise durch Fuge und Kollegen (Fuge et al. 2001), die in der univariaten Analyse ihrer Daten eine GvHD zweiten bis vierten Grades als Risikofaktor für das Auftreten einer ta-TMA identifizierten ($p = 0,002$). In derselben Analyse konnte

zudem gezeigt werden, dass auch bei chronischer GvHD die Manifestation einer ta-TMA häufiger auftrat. Dieser Trend erwies sich allerdings als knapp nicht signifikant ($p = 0,083$). Weiterhin wurde in einer Studie von Biedermann und Kollegen nachgewiesen, dass das Endothel eine Zielstruktur für alloreaktive T-Lymphozyten im Rahmen einer chronischen GvHD darstellt (Biedermann et al. 2002). Diese Daten decken sich mit den Ergebnissen dieser Analyse.

In der longitudinalen Analyse des Auftretens mikroangiopathischer Veränderungen trat im ersten Jahr nach der Stammzelltransplantation, entsprechend dem typischen Manifestationszeitraum von Schäden der Konditionierungstherapie sowie von akuter GvHD, die größte Zahl der Messwerte mit Schädigungszeichen (Schweregrad 1 und 2) auf (Abbildung 4-4). Im Gegensatz zu Patienten ohne GvHD (Kontrollgruppe), bei denen nach dieser Frühphase kaum noch auffällige Messwerte auftraten, konnten bei den Patienten der ECP-Gruppe, bei denen sich mehrheitlich eine chronische GvHD manifestierte, bis weit über diesen Zeitraum hinaus mikroangiopathische Veränderungen festgestellt werden. Auch diese Daten stehen im Einklang mit der Annahme, dass akute und chronische GvH-Aktivität sowie Schädigung durch die Konditionierung zu mikroangiopathischen Veränderungen führen.

Die ECP-Gruppe umfasste ausschließlich Patienten, die aufgrund einer GvHD mit extrakorporalen Photopheresen behandelt wurden. Die Indikation wurde gestellt, wenn die Erkrankung initial nicht zufriedenstellend auf die Erstlinientherapie und gegebenenfalls auf Therapieversuche mit Zweitliniensubstanzen angesprochen hatte oder die Dosis dieser Therapeutika im Verlauf nicht gesenkt werden konnte. In aller Regel handelte es sich bei diesem Kollektiv somit um Patienten mit steroidrefraktärer oder -abhängiger GvHD. Häufig bestand die Notwendigkeit einer langfristigen Immunsuppression, die mit einer erhöhten Infektionsgefahr sowie weiteren Nebenwirkungen einherging. Daher war im Vergleich zu Patienten ohne relevante GvHD-Manifestationen mit einer erhöhten Mortalität zu rechnen (Pidala 2011).

Allerdings geht mit der Graft-versus-Host-Aktivität auch ein Graft-versus-Tumor-Effekt einher, weshalb die Manifestation einer GvHD mit einer niedrigeren Wahrscheinlichkeit eines Rezidivs verbunden ist (Wolff et al. 2010).

Diese Zusammenhänge wurden auch mit den Daten der beiden in dieser Analyse betrachteten Patientenkollektive abgebildet. Es zeigte sich anhand der Kaplan-Meier-Funktionen der ECP- und der Kontrollgruppe (Abbildung 4-2) ein deutlicher Trend hin zu einem besseren Gesamtüberleben in der Kontrollgruppe, der p-Wert war mit $p = 0,056$ knapp nicht signifikant. Auch wenn das Gesamtüberleben in der Kontrollgruppe insgesamt besser war, traten hier im Vergleich zur ECP-Gruppe häufiger Rezidive oder Progresse auf (Tabelle 4-2).

Es wurde bereits zuvor diskutiert, dass die drei dem Bewertungsschema für mikroangiopathische Veränderungen zugrundeliegenden Parameter (Tabelle 3-1) nicht als spezifisch für ta-TMA anzusehen sind. Trotzdem konnte anhand der hier ausgewerteten Patientendaten gezeigt werden, dass beim Zusammentreffen dieser drei Parameter zu einem Zeitpunkt nach der Transplantation eine signifikant erhöhte Mortalität vorlag.

Es war bereits bekannt, dass eine manifeste transplantationsassoziierte Mikroangiopathie mit einer hohen Mortalität einhergeht (Rutuu et al. 2002). In dieser Analyse konnte jedoch auch festgestellt werden, dass das Auftreten geringerer, in der Regel subklinischer mikroangiopathischer Veränderungen vom Schweregrad 2 ebenfalls mit einem reduzierten Gesamtüberleben der betroffenen Patienten korrelierte (Abbildung 4-3).

Hier ergibt sich die Möglichkeit, beim Auftreten derartiger mikroangiopathischer Schädigungszeichen den Patienten mit erhöhter Wachsamkeit zu betreuen, frühzeitiger diagnostische sowie therapeutische Schritte einzuleiten und somit gegebenenfalls die Prognose des betroffenen Patienten zu verbessern.

Um gegebenenfalls Risikopatienten für das Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen, insbesondere vom für das Gesamtüberleben relevanten Schweregrad 2, identifizieren zu können, wurden verschiedene für das Auftreten einer manifesten transplantationsassoziierten TMA vorgeschriebene Risikofaktoren auf ihre Relevanz als Risikofaktoren auch für das Auftreten leichter mikroangiopathischer Veränderungen überprüft. Keiner der ausgewählten Parameter konnte jedoch mit statistischer Signifikanz mit einer veränderten Verteilung der maximal aufgetretenen Schweregrade der mikroangiopathischen Veränderungen korreliert werden. Die im Folgenden angegebenen p-Werte waren die Ergebnisse univariater Analysen. Es wurden auch

multivariate Analysen durchgeführt, die ebenfalls keine statistische Signifikanz für einen der potenziellen Risikofaktoren ergaben (nicht dargestellt).

Es handelte sich um die im Folgenden noch einmal aufgeführten Transplantationsmodalitäten:

- Geschlechtszugehörigkeit des Empfängers: Hier war das weibliche Geschlecht als Risikofaktor für das Auftreten einer manifesten ta-TMA vorbeschrieben (z. B. Fuge et al. 2001 und Roy et al. 2001). Dieser Sachverhalt konnte in mehreren Publikationen bestätigt werden. Allerdings gab es auch einige wenige Untersuchungen, bei denen eine bestimmte Geschlechtszugehörigkeit nicht mit einem häufigeren Auftreten einer ta-TMA korrelierte (z. B. Holler et al. 1989 und Hahn et al. 2004).

Anhand der dieser Analyse zugrundeliegenden Daten konnte das weibliche Geschlecht bei einem p-Wert von $p = 0,973$ (ECP-Gruppe) beziehungsweise $p = 0,612$ (Kontrollgruppe) nicht als Risikofaktor für mikroangiopathische Veränderungen identifiziert werden.

Mehrere Sachverhalte zu dieser Fragestellung sind denkbar: (1) die Geschlechtszugehörigkeit korreliert weder mit der Inzidenz mikroangiopathischer Veränderungen noch mit der Inzidenz einer manifesten ta-TMA oder (2) mikroangiopathische Veränderungen treten bei beiden Geschlechtern gleich häufig auf, das Fortschreiten zu einer manifesten ta-TMA geschieht jedoch beim weiblichen Geschlecht häufiger.

Dieser Fragestellung konnte aufgrund der geringen Anzahl manifester Erkrankungsfälle ($n = 1$) im untersuchten Patientenkollektiv nicht genauer untersucht werden.

- Intensität des Konditionierungsschemas: In einigen Analysen, beispielsweise in Hahn et al. 2004, konnte herausgearbeitet werden, dass eine Konditionierung mit hoher Intensität einen Risikofaktor für das Auftreten einer ta-TMA darstellte.

Insgesamt stammten die meisten Analysen zu dieser Fragestellung jedoch aus einem Zeitraum, in dem die Konditionierungstherapie mit nicht-myeloablativer Dosierung noch nicht etabliert war. Shimoni et al. berichteten 2004 allerdings, dass die Inzidenz der Komplikation ta-TMA bei Dosis-reduzierten Konditionierungsschemata nicht reduziert war (Shimoni et al. 2004).

Auch in der vorliegenden Analyse bestand bei einem p-Wert von $p = 0,862$ (ECP-Gruppe) beziehungsweise $p = 1,000$ (Kontrollgruppe) kein signifikanter Unter-

schied zwischen myeloablativen und nicht-myeloablativen Konditionierungsschemata bezüglich der Inzidenz mikroangiopathischer Veränderungen.

- HLA-Übereinstimmung: Es war vorbeschrieben, dass eine HLA-Mismatch-Transplantation mit einer erhöhten Auftretenswahrscheinlichkeit einer ta-TMA einherging (z. B. Roy et al. 2001). Diese Feststellung konnte jedoch beispielsweise durch Fuge et al. 2000 nicht bestätigt werden. Insgesamt erwiesen sich auch weitere Untersuchungen bezüglich dieser Fragestellung als kontrovers. Aufgrund der geringen Fallzahl der Transplantationen mit HLA-Mismatch (3/39 (ECP-Gruppe) und 4/41 (Kontrollgruppe)) im hier untersuchten Patientenkollektiv konnte keine fundierte Aussage getroffen werden, ob ein HLA-Mismatch zwischen Spender und Empfänger mit einer veränderten Auftretenswahrscheinlichkeit mikroangiopathischer Veränderungen korrelierte.
- Verwandtschaftsverhältnis zwischen Spender und Empfänger: In mehreren Analysen war vorbeschrieben, dass das Transplantat eines unverwandten Spenders mit einem höheren Risiko einer ta-TMA einherging (z. B. Roy et al. 2001 und Ruutu et al. 2002). In einigen wenigen Untersuchungen konnte dieser Sachverhalt jedoch nicht bestätigt werden (z. B. Nakamae et al. 2006).

Wie in der Literatur vorbeschrieben, traten in der Kontrollgruppe der hier vorliegenden Analyse mikroangiopathische Veränderungen bei einem nicht-verwandtem Spender häufiger auf. Diese Korrelation war allerdings nicht signifikant ($p = 0,249$). Es ergab sich zudem eine Inkongruenz zu den Daten der ECP-Gruppe, in welcher dieser Trend nicht bestätigt werden konnte ($p = 0,689$).

Es sind mehrere Möglichkeiten zur Lösung dieser Kontroverse denkbar: (1) Entweder besteht tatsächlich keine Korrelation zwischen dem Verwandtschaftsverhältnis von Spender und Empfänger und dem Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen oder (2) diese Korrelation ist in der ECP-Gruppe durch das vermehrte Auftreten anderer Einflussfaktoren überlagert, wie beispielsweise durch die Manifestation einer GvHD, die bei allen Patienten dieser Gruppe aufgetreten war.

Bei der sehr kontroversen Datenlage bezüglich der Risikofaktoren der ta-TMA, die zwar in einzelnen Analysen identifiziert werden, aber kaum in Folgeanalysen durchgehend bestätigt werden konnten, erscheint es plausibel, dass keine der untersuch-

ten Transplantationsmodalitäten als signifikanter Risikofaktor für das vermehrte Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen identifiziert werden konnte.

Mit der Annahme, dass mikroangiopathische Veränderungen insbesondere auch durch GvH-Schädigung bedingt waren, stellte sich die Frage, ob es im Verlauf der ECP-Therapie, parallel zum Ansprechen der GvHD-Manifestationen auf die Behandlung, auch zu einem Rückgang von Zeichen mikroangiopathischer endothelialer Veränderungen kam.

Dafür wurde zunächst anhand des dieser Analyse zugrundeliegenden Patientenkollektivs die Wirksamkeit der extrakorporalen Photopherese-Therapie überprüft (Abbildungen 4-7 und 4-8).

In der Literatur gab es diesbezüglich viele Studien, die die Effektivität von extrakorporalen Photopheresen seit Beginn ihrer Anwendung bei akuter und chronischer GvHD bestätigten. Aufgrund der vielgestaltigen GvHD-Manifestationen und der unterschiedlichen Anwendungsschemata in den durchführenden Zentren waren die verschiedenen Studien untereinander jedoch nur in Ansätzen vergleichbar und eine abschließende Evaluation der Wirksamkeit gestaltete sich schwierig (Dall'Amico und Messina 2002).

Da im hier untersuchten Patientenkollektiv die Indikation der ECP-Therapie nur bei 5 Patienten aufgrund einer akuten GvHD gestellt wurde und in dieser Untergruppe nur spärliche Daten zur Entwicklung der GvHD-Manifestationen vorhanden waren, wurden nur Patienten, bei denen aufgrund chronischer GvHD extrakorporale Photopheresen eingeleitet worden waren, analysiert.

Für die Anwendung der ECP bei dieser Indikation existierten lange Zeit nur retrospektiv angelegte Analysen. Couriel et al. berichteten im Jahr 2006 beispielsweise über 71 Patienten mit schwerer chronischer GvHD, die mit ECP behandelt worden waren. 61 % der Patienten sprachen auf diese Therapie an. Nach einem Jahr war es zudem bei 22 % dieser Patienten möglich gewesen, die gleichzeitige Therapie mit Steroiden zu beenden. Die Mortalität in der untersuchten Gruppe war allerdings mit einem Ein-Jahres-Gesamtüberleben von 53 % hoch (Couriel et al. 2006).

Im Jahr 2008 wurden von M. E. Flowers und Kollegen die Ergebnisse einer größeren prospektiven randomisierten multizentrischen Phase-II-Studie veröffentlicht. Es handelt sich um die Auswertung der Daten über die Anwendung von ECP bei 95 Patien-

ten mit kutaner chronischer GvHD, die nicht adäquat mit Steroiden kontrolliert werden konnte. Die Patienten wurden entweder mit Standardtherapie und ECP oder mit Standardtherapie alleine behandelt und 12 Wochen (Standardtherapie-Gruppe) bis 24 Wochen (Standardtherapie + ECP-Gruppe) nachbeobachtet. Die ECP-Therapie wurde in der ersten Woche dreimalig, in Woche 2 bis 12 zweimal pro Woche und in Woche 13 bis 24 zweimal alle 4 Wochen durchgeführt. Im Verlauf der Therapie wurden das Ansprechen der kutanen und extrakutanen GvHD-Manifestationen sowie die Höhe der verabreichten Steroiddosis analysiert.

Sekundäre Endpunkte waren die Reduktion der Steroiddosis um 50 % zusammen mit der Verbesserung der Hautmanifestationen um mindestens 25 %. Sie traten bereits in Woche 12 in der Standardtherapie + ECP-Gruppe signifikant häufiger als in der Standardtherapie-Gruppe auf, ebenso wie partielle und komplette Remissionen der kutanen Manifestationen, die durch einen nicht-verblindeten Untersucher festgestellt wurden. Die beiden Gruppen unterschieden sich jedoch nach einer Beobachtungszeit von 12 Wochen nicht signifikant hinsichtlich des primären Endpunkts. Dies wurde jedoch auf das unpassende Studiendesign zurückgeführt, durch welches die Untersuchung des primären Endpunkts zu früh erfolgte. Bis zum Ende der Beobachtung (Woche 24) konnte nämlich eine fortschreitende Verbesserung aller betrachteten Parameter festgestellt werden. Allerdings fehlte dann der Vergleich zur Standardtherapie-Gruppe, deren Beobachtungszeit nach Woche 12 endete (Flowers et al. 2008).

Die Ergebnisse dieser beiden und auch weiterer Analysen stimmen mit den Daten, die an dem in dieser Arbeit betrachteten Kollektiv erhoben wurden, überein. Auch hier konnte bestätigt werden, dass mit einiger Verzögerung, in diesem Fall während des 6. bis 10. ECP-Zyklus, eine signifikante Verbesserung der GvHD-Manifestationen sowie eine signifikante Reduktion der Steroiddosierung erreicht werden konnte. In allen publizierten Studien und auch in dieser Analyse erfolgte die extrakorporale Photopherese zusätzlich zu der bisherigen medikamentösen Therapie, die bei dem in dieser Analyse betrachteten Kollektiv üblicherweise aus Steroiden, Calcineurininhibitoren, Mycophenolatmofetil und/oder Everolimus bestand. Es ergab sich folglich die Problematik, dass die Effekte der ECP-Therapie nicht von den Effekten dieser Substanzen getrennt werden können.

In dieser Analyse erfolgte zudem bei der Betrachtung der Wirksamkeit der extrakorporalen Photopheresen kein Vergleich des behandelten Kollektivs mit einer Kontrollgruppe. Dies führt zu einer erschwerten Einordnung der Ergebnisse. Dennoch wird die signifikante Verbesserung der Symptomatik bei gleichzeitig signifikanter Reduktion der schon vorher applizierten Therapie als starker Hinweis für die Wirksamkeit der ECP-Therapie gewertet.

Es wird im Allgemeinen ein Zusammenhang zwischen GVH-Aktivität und dem Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen angenommen. Somit stellte sich die Frage, ob die erfolgreiche Therapie der GvHD auch zu einer Reduktion mikroangiopathischer Veränderungen führte.

Allerdings fielen die Erkrankungsverläufe einer Patientin mit manifester ta-TMA sowie eines Patienten mit schweren mikroangiopathischen Veränderungen auf, welche sich direkt nach Initiation der ECP-Therapie manifestierten (Abbildung 4-9 und 4-10). Somit war zu überprüfen, ob es entgegen der ursprünglichen Annahme zu einem vermehrten Auftreten von mikroangiopathischen Veränderungen im Verlauf der ECP-Therapie kam.

Zunächst konnte festgestellt werden, dass bei keinem analysierten Patienten im Zeitraum von 8 Wochen vor Initiation der ECP-Therapie relevante mikroangiopathische Veränderungen (Schweregrad 2) gemessen wurden. Im Zeitraum nach Beginn der ECP-Therapie trat dieser Schweregrad jedoch mehrfach auf (Abbildung 4-11, A). Insgesamt ergab sich hier ein statistisch signifikanter Sachverhalt: Die Häufigkeit ausgeprägter mikroangiopathischer Veränderungen nahm während der ersten ECP-Zyklen signifikant zu.

Im Folgenden sollte das Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen bei längerfristiger ECP-Therapie analysiert werden (Abbildung 4-11, B). Hier nahm die Zahl der Patienten mit verfügbaren Daten ab, da nur ein Teil der Patienten mehr als 5 Photopheresen erhielt. Dies geschah unter anderem aufgrund eines mangelnden Ansprechens der ECP-Therapie oder des Versterbens der Patienten. Insgesamt zeigte sich in dieser Gruppe eine geringe Inzidenz ausgeprägter mikroangiopathischer Veränderungen. Während der späteren ECP-Zyklen zeigten sich nur in 10 % der Fälle mikroangiopathische Veränderungen des Schweregrads 2. Außerdem zeigte sich keine statistische Signifikanz bei diesem Sachverhalt.

Insgesamt lässt sich annehmen, dass es während der Durchführung der ersten Photopheresen zu einem gehäuften Auftreten mikroangiopathischer Veränderungen kommt. Dieser Sachverhalt scheint sich bei Patienten, die langfristige Photopheresetherapie erhalten, nicht fortzusetzen.

Auch wenn andere Ursachen für die genannten Veränderungen in dieser Analyse nicht ausgeschlossen werden können, führen das vermehrte Auftreten von mikroangiopathischen Veränderungen nach Therapiebeginn sowie die zwei Fallberichte zu der Vermutung, dass die ECP selbst diese Veränderungen bewirkt.

Insbesondere da die Durchführung extrakorporaler Photopheresen in letzter Zeit breitere Anwendung findet und im NIH-Konsensus-Paper zur Therapie der chronischen GvHD - wohl auch aufgrund des bisher beschriebenen günstigen Nebenwirkungsprofils - sogar als möglicher Kandidat für die Erstlinientherapie vorgeschlagen wird (Wolff et al. 2010), ist es notwendig, dass die Fragestellung, ob und wie die Durchführung extrakorporaler Photopheresen bei einem Teil der Patienten mikroangiopathische Veränderungen auslösen oder verstärken kann, in weiteren Analysen adressiert wird.

6 Zusammenfassung

In dieser Dissertation wurde das Auftreten manifester transplantationsassoziierter thrombotischer Mikroangiopathie sowie das Auftreten leichter, zumeist subklinischer mikroangiopathischer Veränderungen in einem Kollektiv von Patienten untersucht, die zur Behandlung einer steroidrefraktären oder -abhängigen akuten oder chronischen GvHD nach allogener Stammzelltransplantation eine Therapie mit extrakorporalen Photopheresen erhielten. Diese Daten wurden den Daten eines Kontrollkollektivs, bestehend aus Patienten ohne Manifestation einer relevanten akuten oder chronischen GvHD, gegenüber gestellt. Bei 1/39 Patienten (ECP-Gruppe) sowie 0/41 Patienten (Kontrollgruppe) trat eine manifeste ta-TMA entsprechend der EBMT-Diagnose-Kriterien auf. Zeichen mikroangiopathischer Schädigung, die durch ein auf den Messwerten von Fragmentozyten, Thrombozyten sowie der LDH-Aktivität beruhendes Bewertungsschema festgestellt wurden, traten hingegen in beiden Patientengruppen insbesondere im ersten Jahr nach der Stammzelltransplantation mit signifikanter Häufung bei Patienten mit GvHD (ECP-Gruppe) auf (80,5 % vs. 51,2 %, $p = 0,035$).

In der Überprüfung der Assoziation mit dem Überleben der Patienten ging das Auftreten von ausgeprägten mikroangiopathischen Veränderungen (Schweregrad 2) mit einem erniedrigten Gesamtüberleben einher.

In der Analyse von Risikofaktoren für das Auftreten mikroangiopathischer Schädigung konnte für die Transplantationsmodalitäten (1) Geschlechtszugehörigkeit des Empfängers, (2) Intensität des Konditionierungsregimes, (3) Verwandtschaftsgrad zwischen Spender und Empfänger sowie (4) HLA-Übereinstimmung zwischen Spender und Empfänger kein signifikanter Einfluss festgestellt werden. Es zeigte sich ein Trend zu einem vermehrten Auftreten von mikroangiopathischen Veränderungen, wenn der Patient zuvor eine akute GvHD entwickelt hatte ($p = 0,067$).

Bezüglich der Wirksamkeit der ECP-Therapie wurden die Reduktion der Steroiddosis und die Verringerung der GvHD-Manifestationen als Parameter analysiert. Die Effektivität der extrakorporalen Photopheresen in der Kontrolle der GvHD bezüglich beider Messgrößen wurde bestätigt ($p = 0,008$ bzw. $p < 0,001$).

Allerdings kam es im analysierten Patientenkollektiv während der ersten Photopheresen zu einer Zunahme des Auftretens von mikroangiopathischen Veränderungen des Schweregrads 2 und es wurden Fälle identifiziert, bei denen Patienten direkt

nach Initiation der ECP-Therapie eine transplantationsassoziierte TMA bzw. relevante mikroangiopathische Veränderungen entwickelten.

Insgesamt traten mikroangiopathische Veränderungen bei Patienten nach allogener Stammzelltransplantation häufig auf, insbesondere bei Manifestation einer GvHD. Trotz der nachgewiesenen Effektivität der ECP in der Kontrolle der GvHD zeigte sich eine Tendenz zur Zunahme mikroangiopathischer Veränderungen unter Therapie mit ECP, in Einzelfällen mit schwerwiegenden klinischen Konsequenzen. Der Verlauf mikroangiopathischer Veränderungen sollte bei Patienten, die zur Behandlung einer GvHD extrakorporale Photopheresen erhalten, im Verlauf engmaschig untersucht werden.

Ziele nachfolgender Untersuchungen können die Bestätigung der sich hier aufgezeigten Assoziationen in klinischen Analysen mit größeren zugrundeliegenden Patientenkollektiven sowie auf Ebene der Grundlagenforschung Einblicke in die Pathogenese der transplantationsassoziierten thrombotischen Mikroangiopathie unter ECP-Therapie sein.

7 Literaturverzeichnis

Aschan J (2006): Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation; current status and future outlook

Br Med Bull 77 & 78, 23-36

Batts ED, Lazarus HM (2007): Diagnosis and treatment of transplantation-associated thrombotic microangiopathy: real progress or are we still waiting?

Bone Marrow Transplant 40, 709–719

Besbas N, Karpman D, Landau D, Loirat C, Proesmans W, Remuzzi G, Rizzoni G, Taylor CM, Van de Kar N, Zimmerhackl LB (2006): A classification of hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura and related disorders

Kidney Int 70, 423–431

Biedermann BC, Sahner S, Gregor M, Tsakiris DA, Jeanneret C, Pober JS, Gratwohl A (2002): Endothelial injury mediated by cytotoxic T lymphocytes and loss of microvessels in chronic graft versus host disease

Lancet 359, 2078-2083

Blann AD, Woywodt A, Bertolini F, Bull TM, Buyon JP, Clancy RM, Haubitz M, Hebbel RP, Lip GYH, Mancuso P (2005): Circulating endothelial cells. Biomarker of vascular disease

Thromb Haemost 93, 228-235

Blazar BR, Murphy WJ, Abedi M (2012): Advances in graft-versus-host disease biology and therapy

Nat Rev Immunol 12, 443-458

Copelan EA (2006): Hematopoietic Stem-Cell Transplantation

N Engl J Med 354, 1813-1826

Couriel DR, Hosing C, Saliba R, Shpall EJ, Anderlini P, Rhodes B, Smith V, Khouri I, Girant S, de Lima M (2006): Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of steroid-resistant chronic GVHD

Blood 107, 3074-3080

Dall'Amico R, Messina C (2002): Extracorporeal Photochemotherapy for the Treatment of Graft-Versus-Host Disease

Ther Apher 6, 296-304

Diem H, Binder T, Heimpel H (2005): Fragmentozyten im peripheren Blut
J Lab Med 29, 331-332

Dreger P, Ho AD: Transplantation hämatopoetischer Stammzellen
in: Transplantationsmedizin – Ein Leitfaden für den Praktiker, Herausgeber: Kru-
kemeyer MG, Lison AE; Walter de Gruyter Verlag, Berlin 2006, 257-272

Ferrara JLM, Levine JE, Reddy P, Holler E (2009): Graft-versus-host disease
Lancet 373, 1550-1561

Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, Martin P,
Chien J, Przepiorka D, Couriel D (2005): National Institutes of Health Consensus
Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host
Disease: I. Diagnosis and Staging Working Group Report
Biol Blood Marrow Transplant 11, 945-955

Flowers ME, Apperley JF, van Besien K, Elmaagacli A, Grigg A, Reddy V, Baciga-
lupo A, Kolb HJ, Bouzas L, Michallet M (2008): A multicenter prospective phase 2
randomized study of extracorporeal photopheresis for treatment of chronic graft-
versus-host disease
Blood 112, 2667-2674

Fuge R, Bird JM, Fraser A, Hart D, Hunt L, Cornish JM, Goulden N, Oakhill A,
Pamphilon DH, Steward CG (2001): The clinical features, risk factors and outcome
of thrombotic thrombocytopenic purpura occurring after bone marrow transplanta-
tion
Br J Haematol 113, 58-64

George JN, Li X, McMinn JR, Terrell DR, Vesely SK, Selby GB (2004): Thrombotic
thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome following allogeneic HPC
transplantation: a diagnostic dilemma
Transfusion 44, 294-304

Hahn T, Alam AR, Lawrence D, Ford LA, Baer MR, Bambach B, Bernstein ZP,
Czuczman MS, Silva J, Slack JL (2004): Thrombotic Microangiopathy after Alloge-
neic Blood and Marrow Transplantation Is Associated with Dose-Intensive Mye-
loablative Conditioning Regimens, Unrelated Donor, and Methyprednisolone T-Cell
Depletion
Transplantation 78, 1515-1522

Holler E, Kolb HJ, Hiller E, Mraz W, Lehmacher W, Gleixner B, Seeber C, Jehn U, Gerhartz HH, Brehm G (1989): Microangiopathy in Patients on Cyclosporine Prophylaxis Who Developed Acute Graft-versus-Host Disease After HLA-Identical Bone Marrow Transplantation

Blood 73, 2018-2024

Kanamori H, Takaishi Y, Takabayashi M, Tanaka M, Yamaji S, Tomita N, Fujimaki K, Fujisawa S, Watanabe S, Matsuzaki M (2003): Clinical Significance of Fragmented Red Cells after Allogeneic Bone Marrow Transplantation

Int J Hematol 77, 180-184

Kojouri K, George JN (2007): Thrombotic microangiopathy following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

Curr opin oncol 19, 148-154

Lawitschka A, Ball L, Peters C (2012): Nonpharmacologic Treatment of Chronic Graft-versus-Host Disease in Children and Adolescents

Biol Blood Marrow Transplant 18, S74-S81

Lee SJ, Vogelsang G, Flowers MED (2003): Chronic Graft-versus-Host Disease

Biol Blood Marrow Transplant 9, 215-233

Martinez MT, Bucher C, Stussi G, Heim D, Buser A, Tsakiris DA, Tichelli A, Gratwohl A, Passweg JR (2005): Transplant-associated microangiopathy (TAM) in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants

Bone Marrow Transplant 36, 993-1000

Nakamae H, Yamane T, Hasegawa T, Nakamae M, Tereda Y, Hagihara K, Ohta K, Hino M (2006): Risk Factor Analysis for Thrombotic Microangiopathy after Reduced-Intensity or Myeloablative Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation

Am J Hematol 81, 525-531

Peritt D (2006): Potential Mechanisms of Photopheresis in Hematopoietic Stem Cell Transplantation

Biol Blood Marrow Transplant 12, 7-12

Pettitt AR, Clark RE (1994): Thrombotic microangiopathy following bone marrow transplantation

Bone Marrow Transplant 14, 495-504

Pidala J (2011): Graft-vs-Host Disease Following Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation

Cancer Control 18, 268-276

Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, Klingemann HG, Beatty P, Hows J, Thomas ED (1995): 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading.

Bone Marrow Transplant 15, 825-8.

Roy V, Rizvi MA, Vesely SK, George JN (2001): Thrombotic thrombocytopenic purpura-like syndromes following bone marrow transplantation: an analysis of associated conditions and clinical outcomes

Bone Marrow Transplant 27, 641-646

Ruutu T, Hermans J, Niederwieser D, Gratwohl A, Kiehl M, Volin L, Bertz H, Ljungman P, Spence D, Verdonck L (2002): Thrombotic thrombocytopenic purpura after allogeneic stem cell transplantation: a survey of the European Group for Blood and Marrow Transplantation

Br J Haematol 118, 1112-1119

Rutuu T, Barosi G, Benjamin RJ, Clark RE, George JN, Gratwohl A, Holler E, Iacobelli M, Kentouche K, Lämmle B (2007): Diagnostic criteria for hematopoietic stem cell transplant-associated microangiopathy: results of a consensus process by an International Working Group

Haematologica 92, 95-100

Shimoni A, Yeshurun M, Hardan I, Avigdor A, Ben-Bassat I, Nagler A (2004): Thrombotic microangiopathy after allogeneic stem cell transplantation in the era of reduced-intensity conditioning: The incidence is not reduced

Biol Blood Marrow Transplant 10, 484-493

Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, McDonald GB, Striker GE, Sale GE, Hackman R, Tsoi MS, Storb R, Thomas ED (1980): Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients.

Am J Med 69, 204-17

Stavrou E, Lazarus HM (2010): Thrombotic Microangiopathy in Haematopoietic Cell Transplantation: an Update

Mediterr J Hematol Infect Dis 2, e2010033 (nur Online-Publikation)

Studt JD (2008): Thrombotische Mikroangiopathien
Hämostaseologie 28, 358–364

Sung AD, Chao NJ (2013): Concise Review: Acute Graft-Versus-Host Disease: Immunobiology, Prevention, and Treatment
Stem Cells Transl Med 2, 25-32

Trautinger F, Just U, Knobler R (2012): Photopheresis (extracorporeal photochemotherapy)
Photochem Photobiol Sci 12, 22-28

Uderzo C, Bonanomi S, Busca A, Renoldi M, Ferrari P, Iacobelli M, Morreale G, Lanino E, Annaloro C, Volpe AD (2006): Risk Factors and Severe Outcome in Thrombotic Microangiopathy After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation
Transplantation 82, 638-644

Wolff D, Wilhelm S, Hahn J, Gentilini C, Hilgendorf I, Steiner B, Kahl C, Junghanss C, Hartung G, Casper J (2006): Replacement of calcineurin inhibitors with daclizumab in patients with transplantation-associated microangiopathy or renal insufficiency associated with graft-versus-host disease
Bone Marrow Transplant 38, 445-451

Wolff D, Gerbitz A, Ayuk F, Kiani A, Hildebrandt GC, Vogelsang GB, Elad S, Lawitschka A, Socié G, Pavletic SZ (2010): Consensus Conference on Clinical Practice in Chronic Graft-versus-Host Disease (GVHD): First-Line and Topical Treatment of Chronic GVHD
Biol Blood Marrow Transplant 16, 1611-1628

Woywodt A, Scheer J, Hambach L, Buchholz S, Ganser A, Haller H, Hertenstein B, Haubitz M (2004): Circulating endothelial cells as a marker of endothelial damage in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation
Blood 103, 3603-3605

Zomas A, Saso R, Powles R, Mackay H, Singhal S, Treleaven J, Mehta J (1998): Red cell fragmentation (schistocytes) after bone marrow transplantation
Bone Marrow Transplant 22, 777-780

Danksagung

Zunächst möchte ich mich ganz herzlich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Gerald Wulf für die Überlassung dieses spannenden Themas und die intensive Betreuung sowie bei Prof. Dr. Lorenz Trümper, unter dessen Abteilungsleitung die Durchführung meiner Forschungsarbeit stattfand, bedanken. Beide ermöglichten mir im Oktober 2013 die Teilnahme an der Jahrestagung der DGHO.

Weiterhin möchte ich mich bei meiner Betreuerin Dr. Andrea Dohm für die schnelle und kompetente Hilfe bei kleinen und größeren Problemen sowie die vielen wertvollen Anregungen bedanken. Auch von Anke Hesse, der Case-Managerin im Bereich Stammzelltransplantation, bekam ich wertvolle organisatorische Unterstützung während der Datenerhebung. Weitere Anregungen erhielt ich von vielen weiteren Mitarbeitern der Abteilung Hämatologie und Onkologie, insbesondere während der angeregten Diskussion im Rahmen meines Journal Club-Vortrags.

Für die thematische Einführung in das Gebiet der extrakorporalen Photopherese und die Unterstützung bei der Datenerhebung möchte ich mich ganz herzlich bei der Abteilung für Transfusionsmedizin der Universität Göttingen, insbesondere bei Dr. Jens-Holger Maas, bedanken.