

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik III - Großhadern  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. W. Hiddemann

Extrakorporale Photopherese als Therapie der akuten steroidrefraktären  
Graft-versus-Host Disease nach allogener hämatopoetischer  
Zelltransplantation

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Susanne Fritsch  
aus  
Schrobenhausen  
2010

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Hans-Jochem Kolb

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Dr. Fuat Oduncu  
Prof. Dr. Judith P. Johnson  
Priv. Doz. Dr. Michael Albert

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: Dr. Georg Ledderose

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser,  
FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 09.12.2010

*Meinen Eltern gewidmet*

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Grundlagen</b>	<b>-1-</b>
1.1 Graft-versus-Host-Disease (GvHD)	-2-
1.1.1 Allgemeine Einteilung	-2-
1.1.2 Pathophysiologie	-3-
1.1.2.1 Das 3-Stufen-Modell der GVHD-Entstehung	-3-
1.1.2.2 Regulatorische Zellpopulationen und Chemokine	-5-
1.1.2.3 Toleranzerzeugung	-6-
1.1.3 Inzidenz und prädisponierende Faktoren	-6-
1.1.4 Akute GvHD	-8-
1.1.4.1 Klinische Manifestationen und histopathologische Befunde	-9-
1.1.4.2 Stadieneinteilung und Graduierung	-11-
1.1.4.3 Prävention der akuten GvHD	-13-
1.1.4.4 Therapiemöglichkeiten der akuten GvHD	-14-
1.1.4.5 Prognose der akuten GvHD	-16-
1.1.5 Chronische GvHD	-17-
1.1.5.1 Klinische Manifestationen und Einteilung	-18-
1.1.5.2 Prophylaxe, Therapie und Prognose der chronischen GvHD	-19-
1.2 Extrakorporale Photopherese (ECP)	-21-
1.2.1 Funktionsweise der ECP	-21-
1.2.1.1 Photoaktivierung des Buffy Coat	-22-
1.2.1.2 Apoptose	-23-
1.2.1.3 Immunmodulatorische Effekte und pathophysiologischer Hintergrund	-24-
1.2.1.3.1 Vakzinierung	-24-
1.2.1.3.2 Toleranzinduktion	-25-
1.2.1.3.3 Effekte auf dendritische Zellen	-25-
1.2.2 ECP in der Behandlung der GvHD	-27-
1.2.2.1 Einsatzmöglichkeiten bei der akuten GvHD	-27-
1.2.2.2 ECP als Therapie der chronischen GvHD	-29-

1.2.3	Andere Anwendungsgebiete und Therapieresultate	-30-
1.3	Zielsetzung und Bedeutung der Arbeit	-31-
<b>2</b>	<b>Patienten und Methoden</b>	<b>-33-</b>
2.1	Patientencharakteristika	-33-
2.2	Therakos® Photopherese-System	-35-
2.2.1	Geräteaufbau	-36-
2.2.2	Funktionsweise	-38-
2.2.3	8-Methoxypsoralen (8-MOP)	-40-
2.3	Anwendung der ECP	-41-
2.3.1	Indikationsstellung und Definition der Steroidrefraktärität	-41-
2.3.2	Patientenbezogene Behandlungsvoraussetzungen	-42-
2.3.3	Behandlungsfrequenz	-42-
2.3.4	Definition der Kriterien des Ansprechens anhand der Steroideinsparung	-42-
2.4	Datenerhebung und –auswertung	- 44-
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>-45-</b>
3.1	Akute GvHD	-45-
3.1.1	Schweregrad der akuten GvHD	-45-
3.1.2	Organverteilung der akuten GvHD	-47-
3.1.3	Zeitpunkt des GvHD-Auftretens	-48-
3.2	Durchführung der extrakorporalen Photopherese	-48-
3.2.1	Zeitpunkt, Frequenz und Dauer der Therapie	-49-
3.2.2	Applikation weiterer Immunsuppressiva	-49-

3.2.3	Nebenwirkungen der ECP	-50-
3.3	Ansprechen der ECP-Therapie	-51-
3.3.1	Ansprechraten des Patientenkollektivs	-51-
3.3.2	Steroidreduktion des Gesamtkollektivs	-52-
3.3.3	Zeitpunkt des Ansprechens	-53-
3.3.4	Ausprägung der akuten GvHD 30 und 100 Tage nach Start der ECP	-56-
3.3.5	Ansprechraten bei Kombination der ECP mit Sirolimus	-57-
3.4	Überleben der GvHD-Patienten	-58-
3.4.1	Überleben	-58-
3.4.1.1	Überleben nach Ausprägung der GvHD	-59-
3.4.1.2	Überleben nach Ansprechen auf die ECP	-61-
3.4.1.3	Überleben nach Spendertypen und Spendergeschlecht	-62-
3.4.1.4	Überleben nach Organverteilung	-64-
3.4.1.5	Überleben in Abhängigkeit der immunsuppressiven Begleitmedikation	-66-
3.4.1.6	Überleben in Abhängigkeit einer Mikroangiopathie	-66-
3.4.1.7	Überleben in Abhängigkeit vom Zeitpunkt des ECP-Therapiestarts	-68-
3.4.1.8	Überleben in Abhängigkeit vom Zeitpunkt des GvHD-Auftretens	-69-
3.4.2	Transplantationsassoziierte Mortalität (TRM) an Tag 100 und Tag 365 nach Stammzelltransplantation	-70-
3.4.3	Todesursachen	-71-
3.5	Begleitende Virusinfektionen und –reaktivierungen	-73-
3.5.1	Virusnachweis in der Hautbiopsie	-73-
3.5.2	Virusnachweis im Gastrointestinaltrakt	-74-
3.5.3	Virusnachweis im Blut	-76-
3.5.4	Virusnachweis in anderen Organen	-77-
3.6	Chronische GvHD nach ECP	-77-
3.6.1	Inzidenz der chronischen GvHD nach ECP-Therapie	-77-
3.6.2	Applikationsraten einer erneuten ECP bei chronischer GvHD	-78-

3.7	Charakterisierung der CR- und PR-Patienten	-78-
3.7.1	Transplantationsspezifische Eigenschaften	-78-
3.7.2	Schwere und Verteilung der GvHD	-80-
3.7.3	Überleben und Todesursachen	-82-
3.7.4	CR/PR-beeinflussende Faktoren	-82-
3.7.5	CR-begünstigende Faktoren	-83-
3.8	Photographische Darstellung des Ansprechens	-84-
3.9	Gesamtübersicht in tabellarischer Form	-87-
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>-88-</b>
4.1	Beurteilung des Patientenkollektivs bezüglich Schwere und Organverteilung der GvHD	-88-
4.2	Beurteilung des Ansprechens	-89-
4.3	Überlebensraten	-91-
4.3.1	Das Überleben beeinflussende Parameter	-91-
4.3.2	Überleben im Vergleich zu anderen ECP-Studien	-94-
4.3.3	Überleben im Vergleich zu anderen Zweitlinientherapien	-95-
4.4	Virusinfektionen und –reaktivierungen	-96-
4.5	Chronische GvHD und Todesursachen	-97-
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>-99-</b>
<b>6</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>-101-</b>
<b>7</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>-104-</b>

<b>8</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>-106-</b>
<b>9</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>-109-</b>
<b>10</b>	<b>Danksagung</b>	<b>-129-</b>
<b>11</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>-130-</b>

# 1 Grundlagen

Die allogene hämatopoetische Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation stellt bei vielen hämatologischen Krankheitsentitäten die einzige kurative Therapieoption dar. Sowohl maligne Erkrankungen wie akute myeloische oder lymphatische Leukämien und Lymphome als auch nicht-maligne Erkrankungen wie die schwere aplastische Anämie (SAA) werden zunehmend mittels allogener Stammzelltransplantation (SCT) einer möglicherweise langanhaltenden Remission oder Heilung zugeführt. Die allogene SCT baut ihre Wirksamkeit zum einen auf die zytotoxische und immunsuppressive Konditionierung auf, zum anderen spielt der Graft-versus-Leukämie (GvL) - Effekt zur Eliminierung potentieller residualer Leukämiezellen eine große therapeutische Rolle (Schleuning, 2000). In den letzten Jahren kam es durch wissenschaftlichen Fortschritt zu neuen und veränderten Indikationsstellungen einer allogenen SCT. Beispielsweise führte die Entwicklung des Tyrosinkinaseinhibitors Imatinib zur Therapie der Philadelphia-Chromosom-positiven chronischen myeloischen Leukämie (CML) zu einem Rückgang der allogenen SCT bei der CML. Im Gegensatz dazu wurde bei den Leukämien und Lymphomen vermehrt die Indikation zur allogenen SCT auch bei risikoärmeren Formen und zu einem früheren Zeitpunkt der Erkrankung gestellt. Daneben stieg die Altersgrenze, unterhalb derer eine SCT aufgrund der körperlichen Erfordernisse des Patienten durchgeführt werden kann, durch Anwendung dosisreduzierter Konditionierungsschemata mit verringerter Toxizität an. Die Erschließung neuer Stammzellquellen wie die Cord-blood-Transplantation oder die haploidentische Stammzelltransplantation stellen zudem bei fehlendem HLA (Human Leukocytes Antigen) - identischen Spender neue Stammzellquellen dar (Copelan, 2006; Gratwohl et al., 2007; Ljungman et al., 2006). Trotz aller Fortschritte auf dem Gebiet der allogenen SCT bleibt jedoch weiterhin die bei ca. 40% der Patienten auftretende Graft-versus-Host-Disease (GvHD) sowie ihre erfolgreiche Therapie eine große Schwierigkeit. Die GvHD trägt im Wesentlichen zu einer erhöhten Morbidität und Mortalität der Posttransplantationspatienten bei, die sich bezüglich ihrer Grunderkrankung in Remission befinden.

## 1.1 Graft-versus-Host-Disease

Die GvHD ist die Folge einer immunologischen Reaktion der Spender-T-Lymphozyten gegen die Alloantigene des Empfängers, die von speziellen antigenpräsentierenden Zellen (APCs) immunogen auf der Oberfläche präsentiert werden. Sie manifestiert sich bevorzugt an Haut, Darm und Leber. Ursprünglich wurde die GvHD 1951 von Lorenz et al. bei Mäusen als sogenannte „zweite Krankheit“ nach der Strahlenkrankheit und Rettung der Blutbildung durch Transplantation von allogener Knochenmark und allogenen Milzzellen beschrieben (Lorenz et al., 1951; Van Bekkum et al., 1967). Derselbe Effekt wurde auch bei den ersten allogenen Transplantationen beim Menschen offensichtlich. Nach Billingham et al. müssen insgesamt drei Bedingungen erfüllt sein, damit es zur Entwicklung einer GvHD kommen kann: Applikation immunkompetenter Zellen, Histoinkompatibilität zwischen Empfänger und Spender sowie Unfähigkeit des Empfängers, die transplantierten Zellen zu zerstören (Billingham et al., 1966). Die Entdeckung des Major-Histokompatibilitäts-Komplexes (MHC) und der Human Leukocyte Antigene (HLA) erlaubten die Auswahl geeigneter Spender. HLA-Antigene sind Genprodukte des MHCs, sie werden auf der Oberfläche aller kernhaltigen Zellen exprimiert und sind essentiell für eine allogene Immunreaktion (Krensky et al., 1990; Petersdorf et al., 2006). Auch bei kompletter Kompatibilität der HLA-Merkmale von Empfänger und Spender kann es trotz prophylaktischer immunsuppressiver Maßnahmen zum Auftreten einer GvHD kommen. Ziele dieser Reaktion sind die Minor-Histokompatibilitäts-Antigene (MiHAs). Die GvHD stellt die häufigste Komplikation nach allogener SCT dar und ist damit leider für einen Großteil der Morbidität und transplantationsassoziierten Mortalität (TRM) verantwortlich (Deeg, 2007).

### 1.1.1 Allgemeine Einteilung

Bei der GvHD werden grundsätzlich zwei Formen voneinander unterschieden. Die akute GvH-Reaktion tritt bis Tag 100 nach hämatopoetischer Knochenmark- und Stammzelltransplantation auf; ab Tag 100 spricht man schließlich von einer chronischen GvHD. Diese traditionelle Einteilung wird mittlerweile um eine neue

Einteilung, welche durch die National Institutes of Health (NIH) Consensus Conference geschaffen wurde, erweitert. Grund dafür ist die Vielfältigkeit des GvHD-Auftretens: zum einen können vor Tag 100 bereits Symptome vorhanden sein, welche eher typisch für eine chronische GVHD sind, zum anderen kann die akute Form über Tag 100 hinaus fortbestehen ohne klinische Zeichen einer chronischen GvHD (Filipovich et al., 2005).

### 1.1.2 Pathophysiologie

Bei der Genese der GvHD wirken zahlreiche Effektorzellen, inhibitorische und inflammatorische Zytokine mit und es kommen diesbezüglich fortlaufend neue Erkenntnisse hinzu. Die GvHD stellt eine komplexe Interaktion zwischen körpereigener Immunität und Immunreaktion des Transplantates dar.

#### 1.1.2.1 Das 3-Stufen-Modell der GvHD-Entstehung

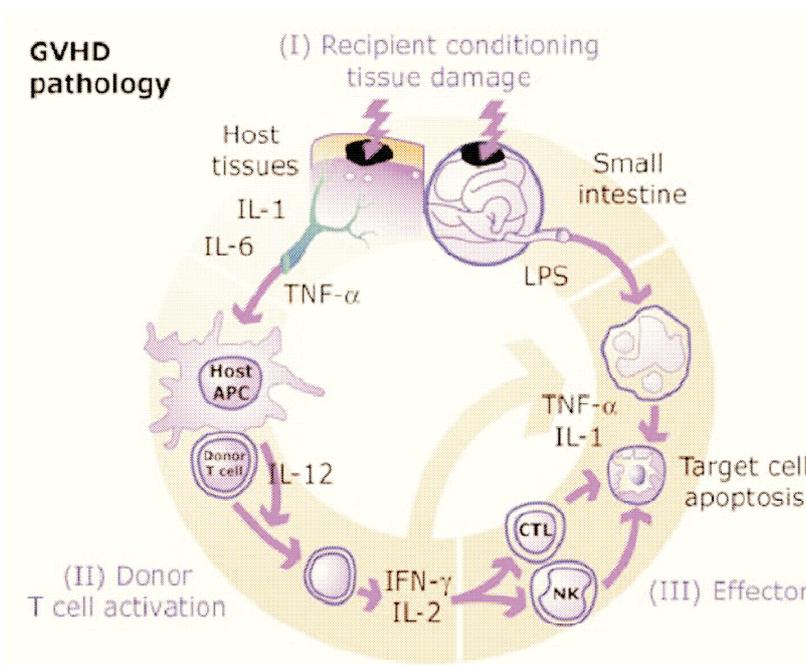
Die Entstehung einer GvH-Reaktion, wie wir sie zum jetzigen Zeitpunkt verstehen, läuft in drei Schritten ab, wie in Abbildung 1 dargestellt (Ferrarra et al., 2005; Ferrarra et al., 2006; Hill et al., 2000; Reddy et al., 2003):

Im Rahmen von Vortherapien des Patienten, vorangehenden Infektionen sowie durch die Ganzkörperbestrahlung und zytotoxischen Therapien, welche zur Konditionierung des Patienten vor SCT erfolgen, kommt es zu einer Schädigung, nicht nur von Immunzellen, sondern auch von endothelialen und epithelialen Zellen. Diese führt zur Ausschüttung großer Mengen inflammatorischer Zytokine wie beispielsweise Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) und Interleukin-1 (IL-1) und fördert dadurch die Aktivierung antigenpräsentierender Zellen des Empfängers. Hier spielen vor allem dendritische Zellen (DCs) eine große Rolle, da unterschiedliche Teilgruppen der DCs zur GvHD-Modulation beitragen. Besonders wichtig scheint die Gewebeschädigung des Gastrointestinaltrakts zu sein, welche die systemische Translokation immunstimulierender Produkte wie Lipopolysaccharide (LPS) ermöglicht, die die Aktivierung der APCs fördern (Hill et al., 2000). Die APCs

präsentieren neben den MHC-Molekülen auch Minor-Histokompatibilitäts-Antigene gegenüber den Donor-T-Zellen (Shlomchik et al., 1999).

Im zweiten Schritt ereignet sich nun eine Aktivierung der T-Lymphozyten des Spenders, welche ihrerseits Interferon- $\gamma$  (INF-  $\gamma$ ), IL-2 und TNF- $\alpha$  ausschütten und auf diesem Wege zu einer T-Zell-Expansion und –Aktivierung führen. Das Muster der Zytokinausschüttung hängt hierbei von der alloantigenen Präsentation ab und wirkt sich auf die Verteilung der T-Helferzellen-1 (IL-2, TNF- $\alpha$ ) und T-Helferzellen-2 (IL-4, IL-10) aus (Ferrarra et al., 2005).

Die sich nun anschließende zelluläre und inflammatorische Effektorphase besteht aus einer komplexen Kaskade, an der auf der zellulären Ebene zytotoxische Effektorzellen und Natural-Killer (NK)-Zellen beteiligt sind und auf der inflammatorischen Ebene Zytokine wie TNF- $\alpha$ , IL-1 und Nitritoxid (NO). Die Gewebe- und Organschädigung entsteht letztendlich durch eine Interaktion der körpereigenen Immunantwort (Effektorzellen wie NK-Zellen und LGLs) mit der alloreaktiven Immunreaktion (T-Zellen).



**Abbildung 1:** Das 3-Stufen-Modell der GvHD-Genese nach Hill et al., 2000

### 1.1.2.2 Regulatorische Zellpopulationen und Chemokine

Neueren Erkenntnissen zufolge spielen in der Pathophysiologie der GvHD zusätzlich regulatorische Chemokine, regulatorische APCs sowie mesenchymale Stammzellen (MSC) und regulatorische T-Zellen ( $T_{reg}$ ) eine tragende Rolle (Tse et al., 2003; Wysocki et al., 2005).

Neben den APCs des Empfängers können auch Spender-APCs die GvH-Reaktion verstärken, indem sie die Proteine des Empfängers im Sinne eines „Cross priming“ den Spender-T-Zellen darbieten (Auffermann-Gretzinger et al., 2002; MacDonald et al., 2005). Da sich die Gruppe der dendritischen Zellen aus unterschiedlichen Teilgruppen zusammensetzt wie den Langerhans Zellen der Haut, den von Monozyten abgeleiteten DCs (mDCs) und den Makrophagen, nehmen zahlreiche Zellgruppen Einfluss auf die Entstehung der GvHD, und deren exakte Aufgabe ist aktuell Gegenstand multipler wissenschaftlicher Untersuchungen (Banchereau et al., 1998; Duffner et al., 2004).

Daneben werden auch nicht-hämatopoetische Zellen wie vom Knochenmark abstammende mesenchymale Stammzellen auf ihre immunregulatorische Wirksamkeit in der Genese der GvHD und im therapeutischen Bereich untersucht (Tse et al., 2003). Im Tiermodell zeigte sich ein inhibitorischer Effekt der MSCs auf die GvHD (Tian et al., 2008).

Regulatorische T-Zellen ( $T_{reg}$ ) greifen ebenso in das komplexe Geschehen einer GvH-Reaktion mit ein. Diese  $CD4^+CD25^+$  Zellen werden zum einen zur Erhaltung der Selbsttoleranz benötigt (Shevach, 2001), zum anderen erzeugen sie Toleranz gegenüber allogenen Organtransplantaten und verhindern in Knochenmarktransplantationsmodellen die Ausbildung einer tödlich verlaufenden GvHD (Cohen et al., 2002; Hoffmann et al., 2002; Taylor et al., 2002). Daneben können  $T_{reg}$  des Spenders die GvHD supprimieren ohne den GvL-Effekt zu zerstören. Im Mausmodell inhibieren  $T_{reg}$  die GvHD über MHC I und MHC II und unterdrücken die frühe T-Zell-Expansion und deren IL-2-Rezeptorexpression im Rahmen der GvH-Reaktion (Edinger et al., 2003).

Das Zusammenspiel und das Potential all dieser Effektorzellen in der Genese und Aufrechterhaltung der GvHD ist weiterhin Gegenstand wissenschaftlicher Bestrebungen.

### 1.1.2.3 Toleranzerzeugung

Im Gegensatz zur Transplantation solider Organe wie beispielsweise Lunge oder Leber sind Patienten nach allogener Stammzelltransplantation nicht lebenslang auf immunsuppressive Medikamente angewiesen, da sich im Lauf der Zeit eine sogenannte Toleranz zwischen den Spender-Stammzellen und dem Empfängergewebe entwickelt. Man unterscheidet eine zentrale Toleranz, welche vom Thymus durch Elimination alloreaktiver Zellen vermittelt wird, und eine periphere Toleranz. Letztere spielt bei Erwachsenen, bei denen sich der Thymus für gewöhnlich zurückgebildet hat, die Hauptrolle. Die periphere Toleranz bedeutet eine Kontrolle der alloreaktiven Zellen durch Lymphozyten (Marshall, 2006). Die Zellpopulation, welche als entscheidend für die Entstehung und Erhaltung einer Toleranz nach allogener SCT identifiziert wurde, ist die Gruppe der CD4+CD25+ regulatorischen T-Zellen (Sakaguchi et al., 1995). Diese Zellen sind in der Lage, ohne Verlust des Graft-versus-Tumor-Effektes selektiv die GvHD zu hemmen und kontrollieren. Neben der Sekretion von Zytokinen ist dabei der direkte Zell-Zell-Kontakt entscheidend (Edinger et al., 2003; Marshall, 2006). Im Rahmen der chronischen GvHD lassen sich vermehrt T<sub>reg</sub> im peripheren Blut nachweisen, nach Abklingen der GvHD geht die Anzahl der T<sub>reg</sub> zurück (Clark et al., 2004). Die Rolle der T<sub>reg</sub> im Rahmen der ECP wird unter 1.2.1.3.2 näher erläutert.

### 1.1.3 Inzidenz und prädisponierende Faktoren

Die GvHD stellt die häufigste Komplikation nach allogener Knochenmarktransplantation und PSCT dar. Neben Rezidiven der Grunderkrankung und nicht-kontrollierbaren Infektionen durch Bakterien, Viren oder Pilze trägt sie zu einem Großteil der Posttransplantationsmortalität bei. Ungefähr 40% aller Patienten entwickeln im Anschluss an die SCT eine relevante akute GVHD (Grad II-IV); abhängig von bestimmten Risikofaktoren kann der Anteil der betroffenen Patienten zwischen 10% und 80% schwanken (Deeg, 2007).

Die Risikofaktoren für die Entwicklung einer GvHD lassen sich in zwei Gruppen aufteilen: zum einen die Faktoren, die durch den Spender bedingt sind, zum anderen die Faktoren auf Seiten des Empfängers.

<u>Spenderabhängige Risikofaktoren</u>	<u>Empfängerabhängige Risikofaktoren</u>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• HLA-Kompatibilität</li> <li>• Mismatch des Geschlechts</li> <li>• Alloimmunisierung durch Geburten oder Transfusionen</li> <li>• Stammzellquelle (PBSC&gt;KM&gt;CB)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hohes Alter</li> <li>• Konditionierung</li> <li>• GvHD-Prophylaxe</li> </ul>

**Tabelle 1:** Risikofaktoren für die Entwicklung einer Graft-versus-Host Disease nach Apperley et al., 2008

Die HLA-Kompatibilität zwischen Empfänger und Spender ist eines der Hauptkriterien, von denen eine GvHD abhängt. Bei verwandten HLA-identischen Spendern ist dementsprechend das Risiko einer GvHD geringer als bei unverwandten Spendern oder gar Spendern mit HLA-Mismatch (Kanda et al., 2003; Wojnar et al., 2006). Geschlechtsdifferenz zwischen Spender und Empfänger zählt ebenso zu den Faktoren, die eine GvHD bedingen können, wobei weibliche Spender bei männlichen Empfängern als Risikofaktor gelten (Saliba et al., 2007). Zusätzlich stellen Spenderinnen mit vorangegangener Schwangerschaft oder Spender, die selbst schon Transfusionen von Blutprodukten erhalten haben, durch die sogenannte Alloimmunisierung eine größere Gefahr dar (Nash et al., 1992; Remberger et al., 2008). Die für die allogene Transplantation gewählte Stammzellquelle hat ebenso Einfluss. Hier tragen periphere Blutstammzellen (PBSC) das größere Risiko gegenüber allogenen Knochenmark (KM). Cord Blood (CB)-Transplantationen sind nach bisherigen Erkenntnissen mit der geringsten GvHD-Rate unter den drei Stammzellquellen assoziiert (Brunstein et al., 2007; Cutler et al., 2001). Nach neuerem Kenntnisstand spielen aber auch MiHAs eine große Rolle. Diese werden von Regionen außerhalb des MHC kodiert, manche werden auch auf malignen Zellen exprimiert, was speziell einen GvL-Effekt induzieren kann. Zusätzlich modulieren, wie bereits bei der Pathophysiologie der GvHD erwähnt, inflammatorische und inhibitorische Zytokine und ihre Rezeptoren die GvH-Reaktion. Für die Zukunft wird voraussichtlich eine Typisierung von Genen, die diese Immunmodulatoren betreffen, zur bekannten HLA-Typisierung hinzutreten (Baron et al., 2007; Dickinson et al., 2005).

Auf Seiten der Empfängerkriterien ist sicherlich das Alter des Patienten einer der Hauptrisikofaktoren. Ältere Patienten entwickeln wohl eher eine GvHD als jüngere.

Die Ursache dafür ist nicht hinreichend geklärt. Ältere Empfänger-APCs scheinen hierbei mit einer höheren GVHD-Rate verknüpft zu sein (Kanda et al., 2003; Ordemann et al., 2002; Urbano-Ispuza et al., 2002). Durch dosisreduzierte und nicht-myeloablative Konditionierungsschemata, die vor allem bei älteren Patienten aufgrund verringerter Toxizität zum Einsatz kommen, tritt die GvHD später und verzögert auf. Als ursächlich hierfür wird das Vorhandensein sogenannter gemischter Chimärismen, die das Fortbestehen von Empfängerzellen widerspiegeln, verantwortlich gemacht (Mielcarek et al., 2005). Zusätzlich ist die Rate und Intensität akuter GvHD in bisherigen Studien geringer als bei Patienten mit konventioneller dosisintensiver Konditionierung (Aoudjhane et al., 2005; Le Blanc et al., 2004).

Die Rate an chronischer GvHD ist bei beiden Konditionierungsstrategien ähnlich hoch (Deeg et al., 1991; Mielcarek et al., 2003). Die GvHD Prophylaxe mit Cyclosporin A (CyA) ergab ein Dosis- und Metabolitenspiegel-abhängiges Risiko für die Entwicklung einer GvHD: Patienten mit suffizienten CyA-Spiegeln entwickelten weniger GvHD als Patienten mit zu niedrigen Metabolitenspiegeln kurz vor Engraftment (Kanda et al., 2006). Die Kombination von CyA mit Mycophenolat Mofetil (MMF) erbrachte keinen signifikanten Vorteil gegenüber einer alleinigen GvHD-Prophylaxe mit CyA (Mohty et al., 2004).

Die chronische GvHD tritt ungefähr bei 20%-70% der Patienten auf, welche die ersten drei Monate nach Transplantation überleben. Bei der ausgeprägten chronischen GvHD ließen sich keine signifikanten Unterschiede in der Inzidenz zwischen PBSC und KM als Stammzellquelle feststellen, PBSC scheinen aber in manchen Auswertungen ein höheres Risiko für eine chronische GvHD mit sich zu bringen. Die Therapiedauer jedoch, um die GvHD adäquat zu behandeln, ist in der PBSC-Gruppe länger (Flowers et al., 2002; Lee SJ, 2005).

#### 1.1.4 Akute GvHD

Obwohl mittlerweile die klassische Unterteilung zwischen akuter und chronischer GvHD, bezogen auf Tag 100 nach SCT, zunehmend verlassen wird, existieren weiterhin Unterschiede in der Art und Weise der klinischen Manifestationen, der Graduierung, der Therapie und Prognose dieser beiden Formen der GvHD, welche

eine Differenzierung dieser beiden Krankheitsbilder weiterhin notwendig machen. Die akute GvHD tritt normalerweise frühestens mit Beginn der hämatopoetischen Regeneration auf, entsprechend ungefähr ab Tag +15 bis +25 nach allogener SCT (Deeg, 2007). Bei dosisreduzierten Konditionierungen kann es jedoch auch deutlich später zur Entwicklung einer akuten GvHD kommen (Couriel et al., 2004a).

#### 1.1.4.1 Klinische Manifestationen und histopathologische Befunde

Die akute GvHD manifestiert sich bevorzugt an drei Organen: Haut, Leber und Darm. Es können jedoch auch andere Organe betroffen sein, wie beispielsweise Gelenke, Augen oder Mundschleimhaut. Die Patienten entwickeln des öfteren Fieber, einen eingeschränkten Allgemeinzustand und bei schwereren Formen Gewichtsverlust. Histopathologisch findet man in den Gewebeschichten, die hauptsächlich für Regeneration und Proliferation verantwortlich sind, nämlich die Epithelien, oft Zellapoptosen und lymphozytäre Infiltrationen nebeneinanderliegend, was als „Satellitenzellnekrosen“ bezeichnet wird.

Die Hauterscheinungen treten meistens in Form eines makulopapulösen Exanthems auf, welches oft am Stamm beginnt, jedoch unterschiedlichste Verteilungsmuster aufweist. Bei manchen Patienten wiederum sind anfangs primär die Fußsohlen und Handflächen betroffen. Das Exanthem kann Juckreiz auslösen oder mit Schmerzen verbunden sein. In besonders ausgeprägten Fällen kann es auch zu Blasenbildung und Hautablösung kommen, verbunden mit einem Proteinverlust. Die Einschätzung der Schwere erfolgt nach Prozenten der betroffenen Areale auf die Gesamtoberfläche des Körpers bezogen. Durch Biopsie einer betroffenen Hautstelle lassen sich manchmal die klassischen histopathologischen Zeichen einer GvHD nachweisen, gelegentlich ist eine Unterscheidung von einem Arzneiexanthem aber nicht möglich. Virusexantheme dagegen sind, falls vorhanden, mittels Virus-Polymerase-Kettenreaktion (PCR) nachzuweisen. Im Falle einer Haut-GvHD würde man eine epidermotrope lymphozytäre Infiltration mit vakuolärer Degeneration der Epidermalzell- und Basalzellschicht sehen sowie zusätzlich eine gestörte epidermale Reifung und Keratinozytennekrosen. Diese Veränderungen finden sich charakteristischerweise in der Nähe der dermo-epidermalen Verbindungen. Oft schwierig zu erkennen sind die charakteristischen „Satellitenzellnekrosen“ (Aractingi

et al., 1998; Häusermann et al., 2008; Jacobsohn et al., 2007b; Johnson et al., 1998).

Die akute GvHD der Leber äußert sich in einer Hepatopathie mit Anstieg der Cholestaseparameter im Serum des Patienten. Teilweise tritt ein Ikterus mit hohen Bilirubinwerten auf. Die Transaminasen zeigen meist keine spezifische Reaktion, können aber auch ein hepatitisches Bild wie bei einer Virushepatitis anzeigen (Akpek et al., 2002). Palpatorisch und sonographisch kann die Leber vergrößert sein. Die Diagnose einer Leber GvHD ist schwer zu stellen, da auch andere Ätiologien für die beobachteten Leberwertveränderungen verantwortlich sein können: Toxizität durch Medikamente, Infektionen oder die Veno-occlusive disease (VOD, Lebervenenverschlusskrankheit). Gewissheit bringt schließlich eine transvenöse Leberbiopsie, falls die Biopsie ausreichend groß ist. Falls erkennbar, sieht man teilweise nekrotische Hepatozyten, segmentale Zerstörung der kleinen Gallengänge, Veränderungen im periduktalen Epithel sowie Gallengangsatypien, aber normalerweise keine Sklerose. Eine virale oder toxische Genese der Leberveränderungen kann mittels Biopsie von der GvHD unterschieden werden (Jacobsohn et al., 2007b; Mc Donald, 2006).

Die Darm-GvHD führt bei den betroffenen Patienten zu Übelkeit und grünlich-wässrigen Durchfällen, die ein hohes Maß an Frequenz und Stuhlvolumen erreichen können. Je nach Intensität der Ausprägung kommen auch starke Blutbeimengungen hinzu, die eine Hämoglobin-Wirksamkeit aufweisen und schwer zu kontrollieren sind. Einhergehend mit der Darm-GvHD treten Eiweißverluste, Gewichtsverlust, abdominelle Schmerzen und eine Schwächung des Allgemeinzustandes auf (Martin et al., 2004; Ross et al., 2005). Eine milde Variante der Darm-GvHD mit Symptomen wie Übelkeit, Appetitlosigkeit und gegebenenfalls Erbrechen betrifft nur den oberen Gastrointestinaltrakt und ist besser mittels Immunsuppressiva in den Griff zu bekommen als die ausgeprägtere GvHD des unteren Dün- und Dickdarms. Bioptisch kann eine Virusinfektion nicht immer von der GvHD unterschieden werden, wobei vor allem die Infektion mit Cytomegalie-Viren (CMV) ein ähnliches klinisches Bild hervorruft und auch mit der Darm-GvHD kombiniert sein kann (Jacobsohn et al., 2007 b). Im Falle der GvHD sieht man in den Epithelien der Darmkrypten lymphozytäre Infiltrationen, die mit apoptotischen Zellen benachbart sind. CMV-Befall kann eventuell in Form von Riesenzellbildung mit hellen

Einschlusskörperchen sichtbar werden, bei frischen Infektionen gelingt jedoch oft nur der Nachweis von CMV-Early-Antigen.



**Abbildung 2:** Makulopapulöses Exanthem einer akuten Haut-GvHD (links), flüssig-blutige Diarrhoe bei schwerer Darm-GvHD (rechts)

#### 1.1.4.2 Stadieneinteilung und Graduierung

Die akute GvHD wird seit 1974 nach den klassischen Glucksberg Seattle (GS) Kriterien in Stadien und Grade eingeteilt. Die Stadien spiegeln die Schwere der Ausprägung in den einzelnen Organsystemen, welche Haut, Leber und Darm umfassen, wieder. Die Graduierung zeigt die Gesamtausprägung, also die Organmanifestationen in Kombination an. Nach Glucksberg et al. fließt in die Graduierung auch der Allgemeinzustand des Patienten mit ein. Diese Aufteilung wurde 1995 modifiziert, indem die Einschätzung des Performance Status weggelassen wurde (Glucksberg et al., 1974; Przepiorka et al., 1995).

<b>Stadium</b>	<b>Haut (makulopapulöses Exanthem)</b>	<b>Leber (Bilirubin)</b>	<b>Darm (Durchfälle)</b>	<b>Klinischer Zustand</b>
<b>1</b>	< 25% der Körperoberfläche	2 - 3 mg/dl	> 500 ml	normal
<b>2</b>	25-50% der Körperoberfläche	3,1 - 6 mg/dl	> 1000 ml	leichte Einschränkung
<b>3</b>	generalisierte Hautrötung	6,1 - 15 mg/dl	> 1500 ml	mäßige Einschränkung
<b>4</b>	generalisierte Hautrötung mit Blasenbildung, Desquamation	> 15 mg/dl	starke abdominelle Schmerzen ± Ileus	schwere Einschränkung

**Tabelle 2:** Stadieneinteilung der akuten GvHD in den Organsystemen nach Glucksberg et al., 1974

<u>Grad</u>	<u>Haut</u>	<u>Leber</u>	<u>Darm</u>
I	Stadium 1-2	0	0
II	Stadium 3 oder	Stadium 1 oder	Stadium 1
III	-----	Stadium 2 – 3 oder	Stadium 2 - 4
IV	Stadium 4 oder	Stadium 4	-----

**Tabelle 3:** Graduierung der akuten GvHD nach der Consensus Conference 1995 (Przepioraka et al., 1995)

Im Jahr 1997 wurde schließlich durch die International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) eine weitere Klassifizierung der akuten GvHD eingeführt, der IBMTR Severity Index, welcher die stärkste Ausprägung der GvHD mit der TRM und dem Therapieversagen (TF) korrelieren soll, ohne subjektive Messwerte wie den Performancestatus des Patienten einzubeziehen. Ursächlich dafür war die Beobachtung, dass oft Patienten mit demselben Grad an GvHD, aber unterschiedlichem Organverteilungsmuster, signifikante Unterschiede in TRM und TF hatten (Rowlings et al., 1997).

<u>Index</u>	<u>Haut</u> <u>(maximales Stadium)</u>	<u>Leber</u> <u>(maximales Stadium)</u>	<u>Darm</u> <u>(maximales Stadium)</u>
A	1	0	0
B	2	1 – 2	1 - 2
C	3	3	3
D	4	4	4

**Tabelle 4:** IBMTR Severity Index nach Rowlings et al., 1997, die Stadienangaben entsprechen denen des Glucksberg Seattle Scores

Verschiedene Studien versuchten, einem der beiden Graduierungssysteme einen prognostischen Vorteil zuzuweisen. Cahn et al. konnten zwar dem GS Score eine bessere Voraussagekraft für das kurzfristige Überleben zuweisen, der IBMTR Severity Index dagegen zeigte weniger Fehler in der Abweichung der Einschätzung des Schweregrades von einem Beobachter zum anderen. Insgesamt ließ sich also kein eindeutiger Vorteil für eines der beiden Systeme feststellen (Cahn et al., 2005). Eine weitere Analyse mit kleinerer Patientenzahl wiederum ergab einen prädiktiven Vorteil für den IBMTR Severity Index bezüglich TRM und TF (Martino et al., 1999). Im klinischen Alltag hat bis heute der GS Score die größere Präsenz.

#### 1.1.4.3 Prävention der akuten GvHD

Da die akute GvHD eine der Hauptkomplikationen nach allogener SCT darstellt, gleichzeitig aber der GvL-Effekt eine wichtige Rolle in der Therapie der Grunderkrankung spielt, ist die optimale GvHD-Prophylaxe immer noch eines der Hauptthemen wissenschaftlicher Bestrebungen.

Die seit über 20 Jahren angewandte Kombination eines Calcineurin-Inhibitors (CyA, Tacrolimus) mit drei oder vier Gaben niedrig-dosiertem Methotrexat (MTX) erweist sich in der Prävention der akuten GvHD bis heute als eine der wirksamsten Optionen bei myeloablativer Konditionierung (Storb et al, 1986; Zikos et al., 1998). Der Vergleich zwischen CyA und Tacrolimus in Kombination mit MTX erbrachte zwar eine signifikant niedrigere Rate akuter GvHD im Tacrolimus-Arm, der Anteil chronischer GvHD und das Gesamtüberleben waren jedoch vergleichbar (Nash et al, 2000). Für Patienten, die eine dosisreduzierte Konditionierung erhalten, zeigte sich in einigen Studien die Kombination von CyA mit MMF als sinnvoll (Niederwieser et al., 2003; Schmid et al., 2006). Daneben kommen aktuell auch Sirolimus und Tacrolimus in Kombination erfolgreich als prophylaktische Immunsuppression zur Anwendung. In seltenen Fällen erfolgt auch der Einsatz des monoklonalen Anti-CD52-Antikörpers Alemtuzumab (Kottaridis et al., 2000).

Da die T-Zellen für die Ausprägung der GvHD verantwortlich gemacht werden, war einer der Versuche, eine GvHD zu verhindern, die T-Zell-Depletion des Transplantats ex vivo. Durch eine erhöhte Rate an Abstossungen, Rezidiven und Infektionen konnte jedoch weder das Gesamtüberleben (OS), das krankheitsfreie Überleben (DFS) noch die TRM im Vergleich zu einem nicht-depletierten Transplantat verbessert wurden, so dass diese Methode mittlerweile in den Hintergrund getreten ist (Marmont et al., 1991). Die T-Zell-Depletion in vivo durch Antithymozytenglobulin (ATG)-Applikation vor Transplantation dagegen ist ein heute gängiges und etabliertes Schema zur Prophylaxe der GvHD, da zum einen die Immunantwort des Spenders gedämpft wird und zum anderen die Spender T-Zellen verringert werden (Finke et al., 2000; Holler et al., 1998; Zander et al., 1999). Patienten, die im Rahmen der Konditionierung eine Total Lymphoid Irradiation (TLI) und eine T-Zell-Depletion mittels ATG erhalten hatten, entwickelten keine oder nur eine sehr geringe GvHD (Lowsky et al., 2005).

<b>Immunsuppressivum</b>	<b>Wirkmechanismus</b>
Cyclosporin A (CyA)	Calcineurininhibitor: Blockade der T-Zell-Aktivierung
Tacrolimus	Calcineurininhibitor: Blockade der T-Zell-Aktivierung
Mycophenolat Mofetil (MMF)	Inhibierung der DNA-Synthese: Lymphozytenapoptose
Sirolimus	Makrolidantibiotikum: Blockade der B- und T-Zell-Aktivierung
Methotrexat (MTX)	Antimetabolit, Folsäureantagonist
Antithymozytenglobulin (ATG)	Vom Kaninchen oder Pferd abstammender Antikörper gegen humane T-Zellen

**Tabelle 5:** Immunsuppressiva zur GvHD-Prophylaxe, modifiziert nach Apperley et al., 2008

#### 1.1.4.4 Therapiemöglichkeiten der akuten GvHD

Therapie der Wahl beim erstmaligen Auftreten einer akuten GvHD ist die intravenöse Gabe von Glukokortikosteroiden. Der Wirkmechanismus besteht zum einen in einer Lyse der Lymphozyten während der Interphase, zum anderen wirken antiinflammatorische Mechanismen (Deeg, 2007). Die Start-Dosis beträgt 2 mg Prednisolon/kg Körpergewicht (KG), wobei manche Zentren auch höhere Dosen applizieren, nämlich 3-4 mg/kg KG. Das Therapieansprechen wird bei einer höheren Startdosis nach drei Tagen beurteilt. Patienten, die bis zu diesem Zeitpunkt keinen adäquaten Rückgang der GvHD Erscheinungen aufweisen, benötigen zügig eine Zweitlinientherapie (Hsu et al., 2001; Van Lint et al., 2006). Bei Patienten, die ein Ansprechen auf die Steroidtherapie zeigen, kann die Dosis langsam reduziert werden, beispielsweise um 10% alle zwei bis drei Tage. Eine primäre Dosisintensivierung der Prednisolon-Therapie auf initial 10 mg/kg KG konnte kein verlängertes Überleben und keine reduzierte TRM gegenüber der konventionellen Dosierung mit 2 mg/kg KG bewirken (Van Lint et al., 1998). Ein komplettes Ansprechen auf die Steroidtherapie zeigen im Schnitt 25-40% der Patienten, abhängig von der anfänglichen Schwere der GvHD. Eine relevante klinische Verbesserung der Symptome lässt sich bei ungefähr 40-50% der Patienten mit GvHD II-IV° feststellen (Martin et al., 1990; Weisdorf et al., 1990). Hauptprobleme der längerfristigen Steroidtherapie sind an erster Stelle die gesteigerte Rate schwerer, lebensbedrohlicher Infektionen, daneben die osteonekrotische Wirkung, Blutzuckerentgleisungen und Unruhezustände.

Für Patienten, die als steroidrefraktär gelten, existieren zahlreiche Strategien, aber nur wenige kontrollierte Studien über die Anwendung von Zweitlinientherapien. Bis dato konnte sich kein wissenschaftlich belegter Ansatz als die erfolgversprechendste Therapie bei Steroidrefraktärität etablieren. Durchschnittlich liegen die Ansprechraten in der Zweitlinienlinientherapie zwischen 35 und 70% mit einem 1-Jahres-Überleben von nur 30%. Neben der GvHD spielen als Todesursache vor allem infektiöse Komplikationen die Hauptrolle (Bacigalupo, 2007; Deeg, 2007; Kim, 2007).

<b>Zweitlinien-Therapie</b>	<b>Beispiel</b>
Immunsuppressive Substanzen	Tacrolimus, Sirolimus, MMF (falls nicht zur Prophylaxe)
Orale nicht-resorbierbare Steroide	Budesonid (Entocort®) bei Darm -GvHD
T-Zell-Antikörper	Antithymozytenglobulin (ATG)
Monoklonale Antikörper	Anti-IL-2-Rezeptor-AK: Daclizumab (Zenapax®) Anti-TNF $\alpha$ -AK: Infliximab, Etanercept Anti-CD3-AK: OKT3 Anti-CD52-AK: Alemtuzumab (Campath®)
Inhibitor der Adenosin-Deaminase	Pentostatin
Zelltherapien	Mesenchymale Stammzellen (MSC)
Extrakorporale Therapie	Extrakorporale Photopherese (ECP)

**Tabelle 6:** Therapiemöglichkeiten der steroidrefraktären akuten GvHD, modifiziert nach Apperley et al., 2008

Die Kombination von Prednisolon 5 mg/kg KG mit ATG bei Patienten, die nicht auf die initiale Steroidtherapie ansprachen, erbrachte keinen signifikanten Vorteil im Überleben oder in der TRM gegenüber der Steroid-Monotherapie. Das 5-Jahres-Überleben war 34% in der ATG-Gruppe gegenüber 36% in der Steroid-Monotherapie-Gruppe (Van Lint et al, 2006).

Die Anwendung monoklonaler Antikörper, wie beispielsweise des IL-2-Rezeptor-AK Daclizumab, zeigte zwar ein Ansprechen der GvHD, ein großes Problem stellt hier aber die erhöhte Infektionsrate dar (Antin et al., 2004). Antikörper, die gegen TNF- $\alpha$  gerichtet sind, wie Infliximab, oder gegen den TNF- $\alpha$ -Rezeptor, wie Etanercept, erwiesen sich ebenfalls in der Second-Line-Therapie erfolgreich mit Ansprechraten bis zu 70% und vollständigem Ansprechen bei bis zu 60% der Patienten (Couriel et al., 2004 b; Uberti et al., 2005). Negativ dagegen ist auch bei dieser

Therapiestrategie die hohe Rate an Infektionen, insbesondere Pilzinfektionen (Marty et al., 2003), weshalb der Einsatz kritisch zu sehen ist. Die Immunsuppressiva, die auch in der Prophylaxe der GvHD erfolgreich und häufig Anwendung finden, können selbstverständlich auch im Rahmen der Therapie eingesetzt werden. MMF beispielsweise erreichte bei der Zweitlinientherapie Ansprechraten bis zu 40-50% und ein 2-Jahres-Überleben von 26%, wobei die Fallzahl eher gering und der Effekt nicht sicher MMF alleine zuzuschreiben war (Deeg, 2007). Die Therapie der steroidrefraktären GvHD mit Sirolimus resultierte in guten Ansprechraten, nämlich 57%, jedoch traten bei der Hälfte der Patienten entweder Nebenwirkungen wie Myelosuppression oder ein hämolytisch-urämisches Syndrom oder ein Therapieversagen auf, was zum Absetzen des Medikaments führte. Von den Patienten, die ein Therapieansprechen zeigten, überlebten 50% mehr als 400 Tage nach Transplantation (Benito et al., 2001). Pentostatin, ein Inhibitor der Adenosin-Deaminase, welcher zum Zelltod von T- und NK-Zellen führt, konnte zwar bei 64% der Patienten eine komplette Remission der GvHD bewirken, das 1-Jahres-Überleben lag aber auch hier nur bei 26% (Foss et al., 2006; Margolis et al., 2000). Ein seit einigen Jahren durchgeführter neuer Therapieansatz bei Patienten mit schwerster GvHD (Grad III-IV) ist die Applikation von MSCs, welche einen immunmodulatorischen und Gewebe-regenerierenden Effekt haben. Bei 19 von 40 behandelten Patienten (47,5%) erzielte man ein komplettes Ansprechen der GvHD und bei neun (22,5%) eine Besserung der Symptomatik (Le Blanc et al., 2006; Ringden et al., 2006).

Ein relativ neues, zunehmend etabliertes Verfahren zur Therapie der GvHD stellt die extrakorporale Photopherese dar, zu der an späterer Stelle noch genauer berichtet wird.

#### 1.1.4.5 Prognose der akuten GvHD

Entscheidend für die Prognose der akuten GvHD ist das Ansprechen auf die Erstlinientherapie, welches unmittelbar mit dem Überleben korreliert (Deeg, 2007). Ungefähr 25 bis 40% der Patienten zeigen auf die Therapie mit Glukokortikoiden einen kompletten Rückgang der akuten GvHD, abhängig von der Organverteilung und dem Schweregrad der Immunreaktion (Deeg, 2007; Weisdorf et al., 1990). Der

Teil der Patienten, der leider auf eine Steroidtherapie kein suffizientes Ansprechen erreicht, hat eine deutlich erhöhte TRM gegenüber den Steroid-Respondern, teilweise über 60% (Bacigalupo, 2007; Van Lint et al., 2006). Diese resultiert nicht alleine aus der Schwere der GvHD, sondern auch aus der deutlich erhöhten Infektionsrate unter mehrfacher immunsuppressiver Therapie. Ein weiteres Folgeproblem der akuten GvHD ist nicht zuletzt das erhöhte Risiko, eine ausgeprägte chronische GvHD zu entwickeln.

### 1.1.5 Chronische GvHD

Die chronische GvHD ist neben Infektionen eines der Langzeitprobleme nach allogener KMT und PBSCT, da sie die Lebensqualität der Betroffenen teilweise stark einschränkt und gleichzeitig einen großen Beitrag zur Non-Relapse-Mortalität leistet (Wingard et al., 1989). Ungefähr 20 bis 70% der Patienten, die Tag 100 nach Transplantation überleben, entwickeln eine chronische GvHD (Zorn et al., 2005). Das Risiko, eine chronische GvHD zu erleiden, wird durch folgende Faktoren begünstigt (Atkinson et al., 1990; Eisner et al., 1995; Wagner et al., 1998):

<b><u>Spenderabhängige Risikofaktoren</u></b>	<b><u>Empfängerabhängige Risikofaktoren</u></b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PBSC anstelle von KM als Stammzellquelle</li> <li>• Donor-Lymphozyten-Infusion (DLI)</li> <li>• Weiblicher Spender für männlichen Empfänger</li> <li>• Fremdspender oder HLA-Mismatch-Spender</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hohes Patientenalter</li> <li>• Vorgehende akute GvHD</li> <li>• Kortikosteroid-Therapie an Tag +100 nach PBSCT/KMT</li> </ul>

**Tabelle 7:** Risikofaktoren für die Entwicklung einer chronischen GvHD modifiziert nach Apperley et al., 2008

Die genaue Pathophysiologie der chronischen GvHD ist bis heute nicht komplett verstanden worden. Die systemische Dysregulation des Immunsystems spielt eine Hauptrolle, vermittelt über TH2-Zellen und resultierend in einem gleichzeitigen Auftreten von Alloimmunität, Autoimmunität und Immundefizienz (Lee et al., 2003; Ratanatharathorn et al., 2001).

### 1.1.5.1 Klinische Manifestationen und Einteilung

Die klinische Symptomatik der chronischen GvHD (cGvHD) reicht von Veränderungen eines isolierten Organs bis hin zu vielfältigsten Beeinträchtigungen mehrerer Organsysteme. Oft ähneln die Erscheinungsbilder denen bestimmter Autoimmunerkrankungen wie dem Sjögren-Syndrom oder der Sklerodermie. Häufig sind mucositishe Veränderungen, die von Erythemen über lichenoider Erscheinungen und Ulcerationen bis hin zu Schleimhautatrophie und Xerostomie reichen (Redding et al., 1998). Bei der chronischen Haut GvHD unterscheidet man grundsätzlich zwei Stadien: die lichenoider und die sklerodermiformer GvHD. Erstere tritt meist früher im Verlauf auf und manifestiert sich bevorzugt an Handflächen und Fußsohlen sowie periorbital, an den Ohren, aber auch an der Glans penis oder an der vaginalen Schleimhaut. Die sklerodermiformer GvHD bildet entzündliche Läsionen und Ulzerationen vor allem an den Extremitäten, bei Progression entsteht eine systemische Sklerose. Die inflammatorischen Reaktionen enden schließlich in fibrotischem Gewebeumbau, was zu Kontrakturen und Mobilitätseinschränkungen führt (Aractingi et al., 1998; Basuk et al., 1987). Von einer schwerwiegenden Sicca-Symptomatik können sämtliche Schleimhäute betroffen sein, wobei gerade an den Augen durch die Keratokonjunktivitis sicca eine Visuseinschränkung bis hin zum kompletten Visusverlust entstehen kann. Die chronische Leber GvHD äußert sich in einer Cholestase, ein isolierter Befall der Leber ist eher selten, genauso das Auftreten einer Zirrhose (Strasser et al., 1999). Einschränkungen in der Lebensqualität bringt die chronische GvHD des Gastrointestinaltrakts durch beispielsweise Ösophagitis und Ösophagusstrikturen, resultierend in Dysphagie, sowie durch Pseudoobstruktionen und Dysmotilität mit sich (McDonald et al., 1981). Manche Patienten wiederum leiden an ausgeprägten Lungenveränderungen unter dem Bild einer Bronchiolitis obliterans, welche schließlich in einer progredienten Atemwegsobstruktion mit respiratorischem Versagen enden kann (Epler, 1988). Diese Patientengruppe spricht oft schlecht auf jegliche Art von Therapie an. Beteiligungen des zentralen Nervensystems sowie Myositiden, Myasthenia gravis und andere Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises sind nicht sehr häufig, treten aber durchaus im Rahmen der chronischen GvHD auf (Tse et al., 1999). Das Hauptproblem der ausgedehnten und lange anhaltenden GvHD ist jedoch die Immunschwäche, die opportunistischen Infektionen durch Pilze, Viren oder

Pneumocysten Raum bietet, insbesondere bei Patienten, die unter Langzeit-Immunsuppression mit Kortikosteroiden stehen (Fraser et al., 2007).

Die chronische GvHD wurde früher in eine begrenzte (limited) oder ausgedehnte (extensive) Form eingeteilt. Eine neuere Klassifizierung bezieht die Anzahl betroffener Organe und den Schweregrad, mit dem jedes Organ involviert ist, mit ein. Score 0 bedeutet dementsprechend keine Symptome, Score 1 milde Symptome, Score 2 mäßig starke Symptome und Score 3 eine ausgeprägte, schwere Symptomatik am jeweiligen Organsystem. Die Gesamtausprägung wird schließlich nach Anzahl der betroffenen Organe abgeschätzt.

<u>Anzahl der Organe</u>	<u>Milde cGvHD</u>	<u>Mäßig starke cGvHD</u>	<u>Schwere cGvHD</u>
1 Organ	Score 1	Score 2	Score 3
2 Organe	Score 1	Score 2	Score 3
≥ 3 Organe		Score 1	Score 3
Lungenbefall		Score 1	Score 2

**Tabelle 8:** Scoring der chronischen GvHD zur Einschätzung des Gesamt-Schweregrades modifiziert nach Apperley et al., 2008; Filipovich et al., 2005

Eine weitere Einteilung der vielfältigen Symptome und Manifestationen der chronischen GvHD wurde durch die NIH Working Group vorgenommen, welche „diagnostische Zeichen“, „charakteristische Zeichen“, „andere Merkmale der chronischen GvHD“ und „allgemeine Zeichen oder Symptome“ unterscheidet (Filipovich et al., 2005).

#### 1.1.5.2 Prophylaxe, Therapie und Prognose der chronischen GvHD

Der Versuch, eine prophylaktische Therapie gegen das Auftreten einer chronischen GvHD zu etablieren, erzeugte keine geringere Inzidenz der Erkrankung. Weder die Kombination von Tacrolimus mit MMF, noch eine verlängerte Applikation von CyA bis 24 Monate nach SCT für Patienten mit akuter GvHD in der Vorgeschichte konnten eine Verringerung der ausgedehnten chronischen GvHD und ein verbessertes Überleben gewährleisten (Fraser et al., 2007; Kansu et al., 2001). Bis heute existieren also keine gesicherten Ansätze, die eine Prophylaxe der chronischen GvHD darstellen würden.

Kommt es nun zu einer relevanten chronischen GvHD stehen mehrere Therapiemöglichkeiten zur Verfügung. Zum einen findet die Kombination von Steroiden in einer anfänglichen Dosierung von 1-2 mg/kg KG mit oralem CyA Anwendung, welche aber durch die oft lange anhaltende Steroidtherapie Probleme durch Infektionen und steroidspezifische Nebenwirkungen aufwirft. Die Erfolgsraten liegen bei einem 4-Jahres-Überleben von 50 bis 70% (Sullivan et al., 1988). Der Versuch, die initiale Therapie der chronischen GvHD durch Addition von beispielsweise Thalidomid, welches immunmodulatorisch wirksam ist, zu verbessern, erbrachte weder günstigere Ansprechraten als die alleinige Therapie mit Prednisolon und CyA, noch Vorteile im Überleben (Arora et al., 2001). Derzeit laufen viele Bestrebungen, die initiale Therapie der chronischen GvHD zu optimieren. Insgesamt ist die Evaluation des Ansprechens gerade bei Patienten mit sklerodermiformen Hautveränderungen aufgrund des oft langsamen Rückgangs der Manifestationen schwierig einzuschätzen (Vogelsang, 2001). Bei Versagen der Erstlinientherapie kommen, wie auch bei der akuten GvHD, Substanzen wie MMF, Tacrolimus, Sirolimus oder Pentostatin mehr oder weniger erfolgreich zum Einsatz mit Response-Raten bis 80% und einem 3-Jahresüberleben von teilweise über 50% (Jacobsohn et al., 2007 a; Jurado et al., 2007; Tzakis et al., 1991; Vogelsang, 2001). Ein neuer Ansatz bezieht die Rolle von B-Zellen in der Pathogenese der chronischen GvHD mit ein. Der monoklonale Anti-B-Zell-AK Rituximab, der gegen CD20 auf der Oberfläche der B-Lymphozyten gerichtet ist, zeigte in einer Phase I/II-Studie bei 21 refraktären Patienten nach durchschnittlich 38 Zyklen eine Ansprechrate von 70% und eine Ansprechdauer von einem Jahr. Dieser Erfolg war jedoch beschränkt auf Patienten mit kutaner und muskuloskelettaler Manifestation der chronischen GvHD (Cutler et al., 2006). Ein relativer neuer, aber erfolgsversprechender Therapieansatz ist zudem die extrakorporale Photopherese (ECP), welche in letzter Zeit gerade bei der chronischen GvHD gute Resultate erzielt hat (siehe Abschnitt 1.2.2.2).

Besonders wichtig in der Behandlung chronischer GvHD Patienten ist eine adäquate Infektionsprophylaxe, da immer noch der Großteil der Patienten, der nicht überlebt, an Infektionen durch Pilze, Viren, Pneumocystis carinii oder Bakterien (bevorzugt Hämophilus influenzae und Streptokokkus pneumoniae) verstirbt. Daneben spielen supportive Therapiemaßnahmen eine große Rolle: Tränenersatz für Patienten mit Keratokonjunktivitis sicca, Ursodeoxycholsäure bei hepatischer

GvHD, Osteoporoseprophylaxe und –therapie, krankengymnastische Therapie und parenterale Ernährung bei Wasting-Syndrom (Apperley et al., 2008; Vogelsang, 2001).

Die Prognose der chronischen GvHD wird natürlich in erster Linie vom Schweregrad der Ausprägung bestimmt und, davon abhängig, an zweiter Stelle durch die Dauer und Notwendigkeit immunsuppressiver Therapiemaßnahmen. Die Evaluation prädiktiver Faktoren erbrachte das Resultat, dass ein direkter Übergang von einer akuten GvHD in eine chronische GvHD sowie lichenoide Hautmanifestationen und ein Serum-Bilirubin-Wert von mehr als 1,2 mg/dl zu Beginn der cGvHD sich unabhängig voneinander als negative Faktoren für das Überleben erweisen. Die 6-Jahresüberlebensrate lag für Patienten ohne einen dieser Faktoren bei 70%, bei Vorhandensein eines Faktors bei 43% und bei zwei oder allen drei Faktoren bei nur 20%. Durchschnittlich lebten in dieser Analyse noch 42% der chronischen GvHD Patienten nach 10 Jahren. Andere Studien wiederum konnten Thrombozytenwerte von weniger als 100 000/ $\mu$ l bei Beginn der chronischen GvHD als negativen prognostischen Faktor evaluieren (Vogelsang, 2001; Wingard et al., 1989).

## 1.2 Extrakorporale Photopherese (ECP)

Die ECP stellt ein seit 1970 etabliertes Verfahren dar, welches aus einer extrakorporalen Photochemotherapie von Leukozyten besteht, mit UVA-Licht (UV: ultraviolettes Licht) und Psoralen arbeitet und primär für die Therapie von Psoriasis eingesetzt wurde (Parrish et al., 1974). Im Folgenden werden zum einen die Funktionsweise der ECP und deren Möglichkeiten im Rahmen der GvHD-Therapie erörtert und zum anderen die weiteren Anwendungsbereiche der ECP beschrieben. Die praktische Durchführung wird unter 2.2 erläutert.

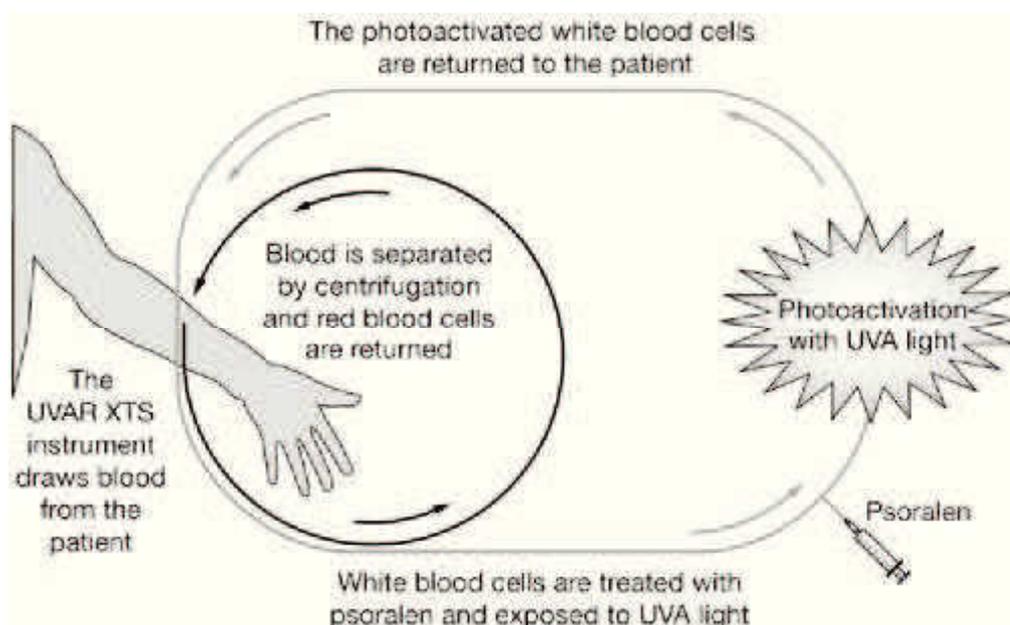
### 1.2.1 Funktionsweise der ECP

Die ECP nutzt bei ihrem Wirkmechanismus UVA-Licht (Wellenlänge 320-400 nm) und die photoaktive Substanz 8-Methoxypsoralen (8-MOP).

UVA-Licht besitzt im Vergleich zu UVB-Licht ein deutlich niedrigeres Energiepotential, wird von der DNA geringer absorbiert und kann dadurch nur wenige und geringe biologische Effekte auslösen. Um eine adäquate Wirkung zu erzielen, benötigt UVA-Licht eine photosensibilisierende Substanz, welche das UV-Licht absorbieren und indirekte Effekte bewirken kann (Cridland et al., 1994). Im Falle der ECP stellt 8-MOP diesen Sensitizer dar. 8-MOP ist ein Pflanzenextrakt aus Psoralea-Pflanzen und wurde bereits 1947 als die aktive Substanz in der Ammi-Majus-Pflanze beschrieben.

#### 1.2.1.1 Photoaktivierung des Buffy Coat

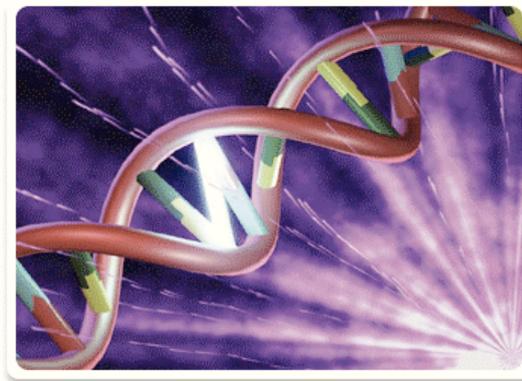
Bei jeder ECP-Anwendung werden ungefähr 5-10% der mononukleären Zellen eines Patienten mittels Zentrifugation von den restlichen Blutbestandteilen getrennt. Erythrozyten und Plasma werden dem Patienten sogleich reinfundiert, während die Leukozyten mit dem Photosensitizer 8-MOP versetzt und anschließend dem UVA-Licht ausgesetzt werden.



**Abbildung 3:** Schematische Darstellung des ECP-Verfahrens nach Marshall, 2006

Die Kombination von 8-MOP und UVA resultiert in einer Aktivierung von 8-MOP, welches als relativ kleines Molekül schnell in die Zelle und deren Kern wandern

kann. In Abwesenheit von UVA-Licht ist 8-MOP biologisch inaktiv, durch die Aktivierung mit UVA-Licht ist es nun aber in der Lage, kovalente Bindungen mit den Pyrimidinbasen der DNA zu formen und die beiden DNA-Stränge zu vernetzen. Zusätzlich kann 8-MOP im aktivierten Zustand Proteine und Lipide an sich binden (Heshmati, 2003). Nach Abschalten des UVA-Lichts springt 8-MOP innerhalb eines Sekundenbruchteils wieder in seine inaktive Form zurück. Im Anschluss an die Photoaktivierung werden die behandelten Zellen dem Patienten wieder intravenös zurückgegeben.



**Abbildung 4:** Vernetzung der beiden DNA-Stränge unter 8-MOP/UVA-Einfluß, nach Therakos Photopheresis

#### 1.2.1.2 Apoptose

Der exakte Wirkmechanismus der ECP-Behandlung ist bis dato nicht komplett aufgeschlüsselt und verstanden worden und bleibt daher Gegenstand zahlreicher wissenschaftlicher Untersuchungen. Die photoaktivierten mononukleären Zellen, welche auch die für die GvHD verantwortlichen T-Zellen enthalten, verlieren in vitro ihre Proliferationsfähigkeit und gehen nach wenigen Stunden in Apoptose (Truitt et al., 1999). Der Effekt der ECP lässt sich jedoch nicht alleine durch die geringe Zahl an apoptotischen reinfundierten T-Zellen erklären. Denn zum einen wird die Mehrzahl der pathogenen T-Zellen, die in den durch die GvHD betroffenen Organen sitzen, durch die ECP-Prozedur nicht direkt erfasst. Zum anderen befinden sich die reinfundierten Zellen zum Zeitpunkt der Reinfusion noch nicht in Apoptose. Es

müssen also indirekte Mechanismen bei der Wirkungsweise der ECP eine große Rolle spielen.

#### 1.2.1.3 Immunmodulatorische Effekte und pathophysiologischer Hintergrund

In verschiedenen Tiermodellen konnten bisher einige Pathomechanismen der ECP eruiert werden, welche sowohl in einer Anti-Tumor-Aktivität als auch in einer Reduktion der Alloreaktivität der Donor-T-Lymphozyten und einer Toleranzentstehung resultieren.

So ließ sich im Mausmodell zeigen, dass die ECP selektiv eine bestimmte Immunreaktion gegen einen Stimulus unterdrückt, während andere Immunreaktionen zu einem späteren Zeitpunkt, beispielsweise gegen infektiöse Trigger, unberührt bleiben. Übertragen auf die GvHD bedeutet dies, dass die ECP lediglich die aktiven und für die GvHD-Reaktion verantwortlichen T-Lymphozyten beeinflusst (Maeda A et al., 2005; Suchin et al., 1999). Im Gegensatz zu den konventionellen Immunsuppressiva gibt es keine Hinweise darauf, dass die Anwendung der ECP die Rate an Rezidiven, Infektionen oder Sekundärmalignomen erhöht (Bisaccia et al., 2003; Dall'Amico et al., 2002).

##### 1.2.1.3.1 Vakzinierung

Bezüglich des Anti-Tumor-Effektes der ECP, welcher in der Behandlung von malignen Erkrankungen beobachtet werden kann (siehe 1.2.3), spielt die Vakzinierungs-Hypothese eine entscheidende Rolle.

Nach Berger et al. wird durch die Zellseparation bei der ECP ein Stimulus für Monozyten gesetzt, sich in aktivierte dendritische Zellen zu differenzieren. Diese dendritischen Zellen präsentieren die Tumor-Antigene und führen zu einer Immunantwort mit Produktion und Proliferation von zytotoxischen T-Zellen und NK-Zellen als Effektorzellen (Berger et al., 2001).

#### 1.2.1.3.2 Toleranzinduktion

Die ECP soll ihren Haupt-Wirkmechanismus der selektiven Immunmodulation bei der Therapie der GvHD durch die Induktion von regulatorischen T-Zellen ( $T_{reg}$ ) erlangen (siehe 1.1.2.3). Im Mausmodell konnten Maeda et al. nachweisen, dass die durch ECP induzierten regulatorischen T-Zellen überschießende Kontaktreaktionen verhindern können und, dass diese Fähigkeit ohne die  $T_{reg}$  verloren geht (Maeda A et al., 2005). Übertragen auf den Patienten wurde in einer prospektiven Analyse an 27 ECP-Patienten, von denen 9 eine akute und 18 eine chronische refraktäre GvHD aufwiesen, die Korrelation eines klinischen Ansprechens auf die ECP zur Menge der nachgewiesenen  $T_{reg}$  untersucht. Die mediane Nachbeobachtungszeit in dieser Studie betrug 24 Monate und die mediane Zahl an ECP-Applikationen 20. Es zeigte sich ein deutlicher Anstieg der  $CD4+CD25+$   $T_{reg}$  beim 6. Zyklus ECP (12. Anwendung) bei den Patienten, die auf die ECP angesprochen haben ( $T_{reg}$  20,1% versus 1,8% bei Patienten ohne Ansprechen). Interessanterweise brachte diese Analyse ebenso folgende Tatsache zum Vorschein: der Großteil der ansprechenden Patienten waren Patienten mit chronischer GvHD und somit konnte der deutliche Anstieg der  $T_{reg}$  auch primär bei diesen Patienten verzeichnet werden. Die Autoren vermuten daher, dass die  $T_{reg}$  vor allem bei der Kontrolle der chronischen GvHD eine Rolle spielen und, dass die Immunmodulation durch ECP an unterschiedlichen Punkten in der Pathogenese der GvHD ansetzt (Di Biaso et al., 2009).

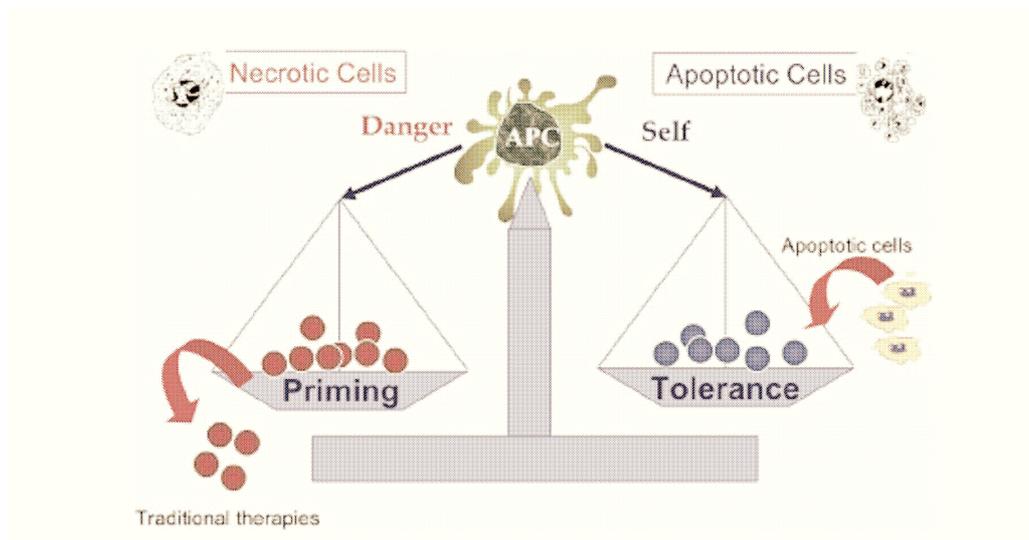
#### 1.2.1.3.3 Effekte auf dendritische Zellen

Die dendritischen Zellen tragen als APCs eine Schlüsselrolle bei der Kontrolle von Immunantworten. Man nimmt an, dass die ECP die dendritischen Zellen zur Produktion von  $T_{reg}$  anregt. Ein potentieller Mechanismus hierbei ist, dass durch das Vorhandensein apoptotischer Zellen nach der ECP es zu einer Ausschüttung von immunsuppressiven Zytokinen (IL-10, TGF- $\beta$ ) kommt, welche die Produktion tolerogener dendritischer Zellen fördert (Savill et al., 2002). Peritt hat diesen Pathomechanismus der ECP im Jahr 2006 näher beschrieben: die durch die ECP in Apoptose gebrachten Zellen werden mittels Phagozyten, also APCs, aufgenommen.

In den APCs werden durch die Aufnahme apoptotischer Zellen verschiedene funktionelle Veränderungen erzeugt (Peritt, 2006):

- Verminderte Produktion proinflammatorischer Zytokine wie TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$
- Erhöhte Produktion antiinflammatorischer Zytokine wie TGF- $\beta$  und IL-10
- Verminderte Fähigkeit, T-Zell-Antworten zu stimulieren
- Deletion von CD8-positiven-T-Effektorzellen
- Induktion von T<sub>reg</sub>

Abbildung 5 verdeutlicht nochmals den Unterschied zwischen Immunsuppression und Immunmodulation:



**Abbildung 5:** Potentieller Mechanismus der GvHD-Toleranz durch ECP, nach Peritt, 2006

Die apoptotischen Zellen bewirken eine Förderung der Selbsttoleranz, vermittelt über APCs, ohne Verlust anderer Abwehrmechanismen, während die konventionellen Immunsuppressiva, die zur GvHD-Therapie eingesetzt werden, die Abwehrreaktion gegenüber infektiösen oder anderen Gefahren durch ihren Wirkmechanismus vermindern.

## 1.2.2 ECP in der Behandlung der GvHD

Die ECP wurde zuerst als Therapie der chronischen GvHD eingesetzt, seit ungefähr zehn Jahren gibt es auch wenige Berichte über die Anwendung im Rahmen der akuten steroidrefraktären GvHD. Die ECP-Therapie ermöglicht es bisweilen, die Dosis an Kortikosteroiden zu reduzieren, was mit Hilfe anderer Zweit- oder Drittlinien-Therapien bei refraktärer GvHD oft nicht bewerkstelligt werden kann (Dall'Amico et al., 2002). Inwieweit die ECP als Prophylaxe der GvHD eingesetzt werden kann und soll, ist bisher nicht genau evaluiert. Aus dem Jahr 2004 existiert ein Bericht über Anwendung der ECP im Rahmen einer dosisreduzierten Konditionierung zusammen mit Pentostatin bei 55 Patienten. Die Raten an akuter und chronischer GvHD waren in dieser Phase II-Studie relativ niedrig mit 9% akuter GvHD und 12% ausgeprägter chronischer GvHD. Des Weiteren zeigten sich kein Einfluss der ECP auf das Engraftment und ein gutes 2-Jahres-Gesamtüberleben von 58% (Miller et al., 2004). Andere Berichte wiederum widerlegen einen Vorteil in der GvHD-Prävention bei Einschluss der ECP in die Konditionierung. Eine multizentrische Phase II-Studie mit 65 Patienten konnte im Vergleich zu anderen myeloablativen Konditionierungsschemata keine niedrigeren GvHD-Raten (44% akut, 26% ausgeprägt chronisch) erreichen (Devergie A, 2004).

### 1.2.2.1 Einsatzmöglichkeiten bei der akuten GvHD

Die ECP kommt bei der akuten GvHD bei Vorliegen einer Steroidrefraktärität als Zweitlinientherapie normalerweise mit initial zwei Anwendungen pro Woche zum Einsatz. Bei Ansprechen kann die Häufigkeit der Therapie auf zwei-wöchentliche Abstände reduziert werden. Eine zeitnahe Anwendung scheint Vorteile im Ansprechen mit sich zu bringen. Die Effizienz der ECP-Therapie bei der steroidresistenten akuten GvHD ist bisher bereits in einigen Vorarbeiten beschrieben worden, von denen die meisten jedoch auf sehr kleine Patientenzahlen Bezug nehmen. Eine Ausnahme bilden 2 Studien, welche von Greinix et al. veröffentlicht wurden: eine Pilotphase mit 21 Patienten und darauf aufbauend eine Phase-II-Studie mit insgesamt 59 Patienten (Pilotstudie: 21 Patienten, Phase-II-Studie: 38 Patienten). Diese Phase-II-Studie ergab zum einen sehr gute bis gute

Ansprechraten der steroidrefraktären Patienten unter ECP-Therapie mit einem kompletten Ansprechen von 82% der Hautmanifestationen und jeweils von 61% der Darm- und Leber-GvHD. Zum anderen zeigte sich, dass ein späterer Beginn der Erstlinien-GvHD-Therapie mit Kortikosteroiden die Chance auf eine komplette Remission der GvHD unter ECP-Therapie signifikant verbessert. Alle Patienten hatten zu Beginn der ECP 2 Sitzungen pro Woche an zwei aufeinanderfolgenden Tagen erhalten und bei Ansprechen weiterhin 2 Zyklen alle zwei bis vier Wochen bis zum maximalen Ansprechen. Bezüglich des Überlebens konnten Patienten, welche komplett auf die ECP-Therapie angesprochen haben, ein Gesamtüberleben von 59% nach vier Jahren erreichen, verglichen mit 11% bei den Patienten ohne komplettes Ansprechen. Folgende Faktoren beeinflussten in dieser Studie negativ das Gesamtüberleben: ein hoher Ausprägungsgrad der GvHD und eine Manifestation an mehreren Organen bei Beginn der ECP, eine höhere Steroiddosis vor ECP und das Nichterlangen einer kompletten Remission unter ECP innerhalb der ersten drei Therapiemonate (Greinix et al., 2006).

Perfetti et al. berichteten 2008 über insgesamt 23 Patienten mit steroidrefraktärer akuter GvHD, welche im Median 10 Zyklen ECP erhalten hatten. In dieser retrospektiven Analyse konnten 52% der Patienten eine komplette Remission der GvHD erreichen. Das Gesamtüberleben lag bei 48% nach einem medianen Follow-up-Zeitraum von 37 Monaten. Unter ECP-Therapie konnte die durchschnittliche Steroiddosis bei der Patientengruppe signifikant von 2,4 mg/kg auf 0,2 mg/kg reduziert werden. Die Raten an kompletten Remissionen differierten bei den unterschiedlichen GvHD-Ausprägungen zwischen 70% bei GvHD Grad II, 42% bei GvHD Grad III und 0% für Patienten mit GvHD Grad IV (Perfetti et al., 2008).

Reference	Patients (n)	Complete or partial response (skin)	Complete or partial response (liver)	Complete or partial response (gut)	Overall survival
Messina et al. (2003) <sup>32</sup>	33	27/33	9/14	15/18	19/33
Greinix (2005) <sup>a</sup>	65	93%	65%	74%	33/65
Smith et al. (1998) <sup>33</sup>	6	—	0/6	—	0/6
Miller et al. (1998) <sup>34</sup>	4	3/3	2/4	3/3	2/4
Sniecinski et al. (1995) <sup>89</sup>	11	1/2	1/11	3/5	7/11
Salvaneschi et al. (2001) <sup>35</sup>	9	8/9	1/5	3/5	6/9
Percentage of patients who responded to ECP (CR/PR in %)	—	83 (50–100)	35 (0–65)	75 (60–100)	—

**Abbildung 6:** Publierte Studien zur ECP-Therapie bei akuter GvHD nach Marshall, 2006

Abbildung 6 enthält einen Überblick über die bisher vorliegenden Daten zur Therapie der akuten GvHD mit ECP (Marshall, 2006). In dieser Auflistung fehlen jedoch die beiden zuvor zitierten und erläuterten Arbeiten von Greinix et al. aus dem Jahr 2006 und Perfetti et al. aus dem Jahr 2008. Wie aus der Übersicht zu erkennen, ist die ECP besonders bei den Hautmanifestationen eine erfolgsversprechende Therapie, obwohl in manchen Berichten auch gute Ansprechraten von Leber und Darm beschrieben werden. Bis heute gibt es keine Daten zu einem Einsatz der ECP in Kombination mit Kortikosteroiden als Erstlinientherapie.

#### 1.2.2.2 ECP als Therapie der chronischen GvHD

Zur Therapie der chronischen GvHD mit ECP existieren deutlich mehr Vorberichte als bei der akuten GvHD. Die ersten Fallreporte und Auswertungen kleiner Patientengruppen stammen aus den Jahren 1994-1996 (Owsianowski et al., 1994; Rossetti et al., 1996). Bei Patienten, die langfristig einer Steroidtherapie in Kombination mit anderen Immunsuppressiva wie beispielsweise MMF aufgrund ihrer schweren chronischen GvHD bedürfen, stellt die ECP eine vielversprechende therapeutische Option dar. Ziel der Therapie ist es letztendlich, langfristig Steroide einzusparen und damit auch die Nebenwirkungen der Steroidtherapie zu minimieren. Außer Rituximab, welches nach Cutler et al. einen steroideinsparenden Effekt in der Therapie der chronischen GvHD haben soll, existieren keine Immunsuppressiva, die diesen Effekt bisher bewirken konnten (Cutler et al., 2006; Lee SJ et al., 2003). Die Häufigkeit der ECP-Sitzungen variiert je nach Patientenfall und Schwere der GvHD individuell, es gibt bis dato keinen vorgeschriebenen Standard. Im Allgemeinen werden anfänglich zwei Sitzungen pro Woche in zweiwöchentlichem Abstand durchgeführt und bei klinischem Ansprechen die Frequenz reduziert.

Im Jahr 2008 zeigte eine prospektiv-randomisierte multizentrische Studie bei insgesamt 95 Patienten mit steroidrefraktärer, vor allem kutaner chronischer GvHD, von denen 48 Patienten ECP zusätzlich zur Standardtherapie erhielten, dass die ECP einen steroideinsparenden Effekt in dieser Situation aufweist. Zusätzlich konnte bei den ECP-Patienten eine Verbesserung des Total Skin Score (TTS),

welcher die Hautveränderungen in zehn Regionen erfasst, um 14,5% im Vergleich zu 8,5% bei Patienten ohne ECP-Therapie nach 12 Wochen verzeichnet werden. 8,3% der Patienten im ECP-Arm erreichten eine mindestens 50%ige Reduktion der Steroiddosis bei gleichzeitiger Abnahme des TTS um mindestens 25%. In der Kontrollgruppe erfüllten diese Kriterien 0% der Patienten (Flowers et al., 2008).

Eine retrospektive Analyse aus dem Jahr 2006 von 71 Patienten mit schwerster chronischer GvHD, welche alle mit ECP behandelt wurden, erbrachte mit Ansprechraten von 61% gute Resultate. Ein besonders gutes Ansprechen ließ sich bei Manifestationen an Haut (Ansprechrate 59%, bei Sklerodermie 42%) und Schleimhäuten (Ansprechrate 77%) sowie Augen (Ansprechrate 67%), Lunge (Ansprechrate 54%) und Leber (Ansprechrate 71%) feststellen. In dieser Analyse konnte eine persistierende Thrombozytopenie als signifikanter Faktor, der mit einem schlechten Ansprechen verknüpft ist, evaluiert werden. Daneben zeigte sich ein Gesamtüberleben von 53% nach einem Jahr. Bei insgesamt 22% konnten die Steroide ein Jahr nach Beginn der ECP-Therapie komplett abgesetzt werden (Couriel et al., 2006).

### 1.2.3 Andere Anwendungsgebiete und Therapieresultate

Die kombinierte Anwendung von Methoxypsoralen und UVA-Licht fand bereits in den 1970er Jahren im Rahmen der sogenannten PUVA-Therapie bei Psoriasis statt (Parrish et al., 1974). Hier kommt es jedoch, im Gegensatz zur ECP, zu einer oralen Methoxypsoralengabe und einer rein lokalen Therapie an der Haut. Die Indikation zur PUVA-Therapie hat sich mittlerweile auf einige andere Hauterkrankungen wie beispielsweise kutane T-Zell-Lymphome (CTCL) ausgeweitet (Morison, 2004). Aus der Beobachtung, dass die PUVA-Therapie bei systemischem Progress der Lymphome wirkungslos war, stammt die Weiterentwicklung zur ECP-Therapie mit direkter Wirkung auf die im Blut zirkulierenden Tumorzellen. So konnten in ersten Patientenberichten über die ECP bei CTCL eine komplette Remission mancher Patienten und ein verbessertes Überleben bei ECP-Patienten im Vergleich zu einer retrospektiven Kontrolle verzeichnet werden (Edelson et al., 1987). Im Jahr 1988 erfolgte schließlich in den USA die FDA-Zulassung der ECP als selektive Immuntherapie bei fortgeschrittenem CTCL. Momentan wird neben den CTCL auch

das Sezary-Syndrom (leukämische Ausschwemmung der Mycosis fungoides) mit ECP behandelt (Lundin et al., 2004). Wie unter 1.2.1.3 näher erläutert, bewirkt die ECP, obwohl nur ein geringer Anteil der Zellen überhaupt der ECP direkt ausgesetzt ist, bei diesen Entitäten die Entwicklung einer systemischen Immunantwort gegen den Tumor sowie eine Reduktion der Tumorzellen. Neuere Studien kombinieren die ECP-Therapie bei kutanen T-Zell-Lymphomen mit immunstimulierenden Substanzen wie beispielsweise  $\text{INF-}\alpha$ , um die zytotoxische T-Zell-Funktion zu fördern. In einer retrospektiven Analyse aus dem Jahr 2002 an 47 Patienten mit fortgeschrittenem CTCL erhielten zwei Drittel der Patienten zusätzlich zur ECP mehrere immunstimulierende Medikamente. Die Kombinationstherapie konnte das Ansprechen der Hautmanifestationen von 75% in der ECP-Monogruppe auf 84% bei der Kombinationstherapie anheben und das mediane Überleben von 65 auf 74 Monate verlängern (Suchin et al., 2002). Bei frühen Stadien des CTCL wird momentan der Einsatz der ECP in klinischen Studien erprobt.

Weitere Anwendungsgebiete der ECP stellen die atopische Dermatitis, die Sklerodermie sowie zunehmend auch die Organtransplantatabstoßung bei soliden Organtransplantationen, hier vor allem der Lunge, dar.

### 1.3 Zielsetzung und Bedeutung der Arbeit

Die Graft-versus-Host Disease stellt eine der häufigsten Komplikationen nach allogener SCT dar und ist für eine hohe Morbidität und Mortalität der Patienten verantwortlich. Gerade Patienten, die auf die Therapie mit Steroiden nicht oder nicht ausreichend ansprechen, haben daher ein hohes Risiko, an den Folgen der GvHD oder an den Nebenwirkungen der GvHD-Therapie, insbesondere Infektionen, zu versterben. Wenngleich die Hochdosis-Steroidgabe Mittel der Wahl in der Behandlung der akuten GvHD ist, so gibt es keinen vielversprechenden Standard für eine Zweitlinien- oder Drittlinientherapie bei Steroidversagern. Hinzu kommt, dass die meisten Substanzen, wie beispielsweise OKT3, Daclizumab oder andere Antikörper, hohe Nebenwirkungsraten haben und durch ihre starke immunsuppressive Wirkung schweren Infektionen den Weg bahnen. Die extrakorporale Photopherese dagegen baut ihren Wirkmechanismus nach

bisherigem Verständnis auf eine Immunmodulation mit Erzeugung einer Toleranz auf und ist eine sehr nebenwirkungsarme Prozedur.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Wirksamkeit der extrakorporalen Photopherese, welche bereits erfolgreichen Einsatz in der Therapie etlicher Hauterkrankungen und in der Behandlung der chronischen GvHD gefunden hat, bei der akuten GvHD-Therapie zu evaluieren. Aufgrund des sehr geringen Nebenwirkungsspektrums und der immunmodulatorischen Effekte der ECP bietet sich die Anwendung bei den akuten GvHD-Patienten an, die eine steroidrefraktäre GvHD aufweisen. Entscheidender Maßstab zur Beurteilung der Effektivität ist zum einen die Einsparung an Steroiden, die durch die ECP erreicht werden kann. Zum anderen stehen natürlich der Überlebensvorteil, das Ansprechen der einzelnen Organmanifestationen und die spätere Entwicklung einer chronischen GvHD im Mittelpunkt der Überlegungen. Anhand der erhobenen Patientendaten soll außerdem versucht werden, die Gruppe der ECP-Patienten zu charakterisieren, die optimal auf die Behandlung anspricht und besonderen Benefit aus der Therapie ziehen kann.

## 2 Patienten und Methoden

Im Folgenden wird zuerst das Kollektiv der Patienten charakterisiert und anschließend die Methode der extrakorporalen Photopherese sowie deren praktische Anwendung beschrieben.

### 2.1 Patientencharakteristika

Insgesamt wurden 30 Patienten mit akuter GvHD nach allogener hämatopoetischer Zelltransplantation in die retrospektive Auswertung eingeschlossen. Alle Patienten unterzogen sich zum ersten Mal der allogenen SCT, wobei manche von ihnen bereits im Rahmen von Vortherapien eine autologe KMT oder SCT erhalten hatten. Die Patienten, welche mit ECP behandelt wurden, waren allesamt auf die GvHD-Therapie mit Steroiden refraktär. Refraktärität ist definiert als eine ausbleibende deutliche Besserung der GvHD-Manifestationen nach 3 Tagen Steroidtherapie oder eine Zunahme der GvHD.

#### **30 Patienten mit akuter GvHD, refraktär auf Steroidtherapie**

- **Alter**

Median	50 Jahre
range	[21-72 Jahre]
- **Geschlecht**

männlich	23
weiblich	7
- **Grunderkrankung**

ALL	1
AML	19
MDS	1
OMF	1
CLL	2
Multiples Myelom	3
B-NHL	3
- **Stadium der Grunderkrankung zum Transplantationszeitpunkt**

komplette Remission	4
partielle Remission	3
refraktär/im Rezidiv	22
ohne Vortherapie	1
- **Spendertyp**

HLA-identisch verwandt	8
HLA-identisch unverwandt	10

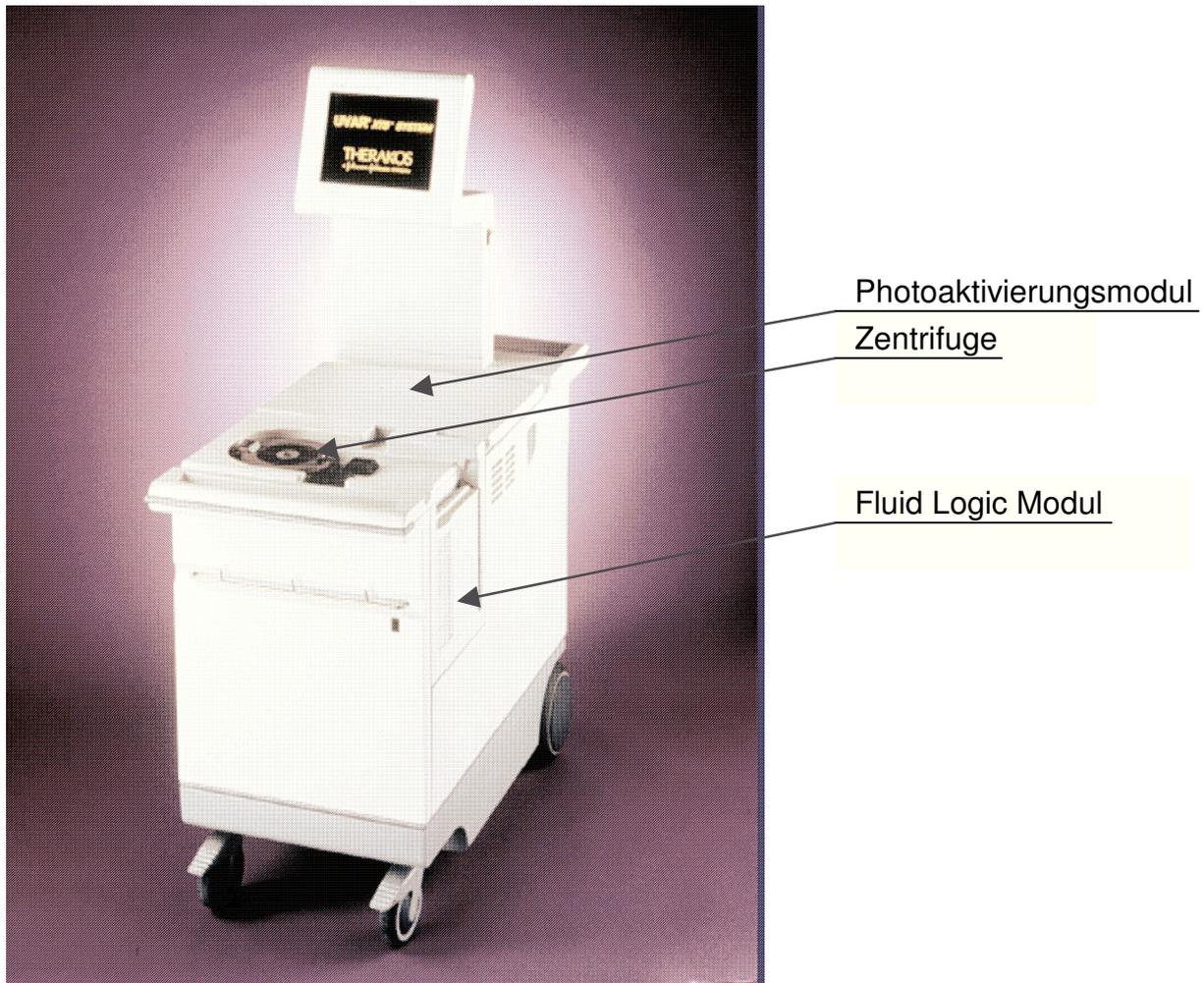
HLA-different verwandt	2
HLA-different unverwandt	10
• <b>Stammzellquelle</b>	
periphere Blutstammzellen	26
Knochenmark	1
Nabelschnurblut	1
KM und CD6-depletierte PBSC	2
• <b>Geschlechtsdifferenz Spender - Empfänger</b>	
männlich in männlich	13
männlich in weiblich	5
weiblich in weiblich	1
weiblich in männlich	10
double cord blood	1
(weiblich/männlich) in weiblich	
• <b>Prophylaktische Immunsuppression</b>	
CyA, MMF	24
CyA, MTX	4
Sirolimus	1
Tacrolimus, Sirolimus	1
• <b>Konditionierungstherapie</b>	
4 Gy TBI / ATG / Endoxan	13
Busulfan / ATG / Endoxan	7
12 Gy TBI / ATG / Endoxan (Eto)	3
Mel / Flu / ATG / Endoxan	3
Zev / Flu / ATG / Endoxan	2
FBM / ATG	1
Rituximab / Flu / Endoxan	1

Nr.	Alter	Diagnose	Geschlecht Empfänger	Stadium	Spender	HLA	Geschlecht Spender	SSC	Konditionierung	IS
1	53	AML	f	refraktär	sib	df	m	mp	4Gy-ATG-CY	CSA-MTX
2	48	MMY	m	PR	unr	id	m	pb	Mel-Flu-ATG-CY	CSA-MMF
3	50	MMY	f	PR	unr	df	m	pb	Mel-Flu-ATG-CY	CSA-MMF
4	41	AML	m	refraktär	unr	id	m	pb	4Gy-ATG-Cy	CSA-MMF
5	57	CLL	m	refraktär	unr	id	f	pb	12Gy-ATG-Cy	CSA-MMF
6	37	AML	m	CR	unr	df	m	pb	4Gy-ATG-CY	CSA-MMF
7	69	AML	m	Rezidiv	unr	id	m	pb	BUS-ATG-CY	CSA-MMF
8	35	AML	m	Rezidiv	sib	id	f	pb	4Gy-ATG-Cy	CSA-MMF
9	50	AML	f	refraktär	sib	id	m	pb	4Gy-ATG-CY	CSA-MMF
10	65	B-NHL	f	Rezidiv	unr	df	m/f	cb	Zev-Flu-ATG-Cy	Tac-Rapa
11	26	AML	m	CR	sib	df	f	mp	4Gy-ATG-CY	CSA-MTX
12	61	AML	m	Rezidiv	unr	df	m	pb	BUS-ATG-Cy	CSA-MMF
13	57	AML	f	Rezidiv	unr	id	m	pb	4Gy-ATG-CY	CSA-MMF
14	72	AML	m	Rezidiv	sib	id	m	pb	FBM-ATG	CSA-MMF
15	21	ALL	m	Rezidiv	unr	df	f	ma	12Gy-ATG-Etoposid	CSA-MTX
16	68	AML	m	CR	unr	id	m	pb	BUS-ATG-CY	CSA-MMF
17	55	MDS	m	unbehandelt	sib	id	f	pb	BUS-ATG-CY	CSA-MMF
18	65	AML	m	Rezidiv	unr	id	m	pb	BUS-ATG-CY	CSA-MMF
19	57	MMY	m	Rezidiv	unr	df	f	pb	Mel-Flu-ATG-CY	CSA-MMF
20	42	AML	m	Rezidiv	sib	id	m	pb	4Gy-ATG-CY	CSA-MMF
21	30	B-NHL	f	PR	unr	df	m	pb	Zev-Flu-ATG-Cy	Rapa-MMF
22	40	AML	m	refraktär	unr	id	m	pb	4 Gy-ATG-Cy	CSA-MMF
23	41	AML	m	refraktär	sib	id	f	pb	4Gy-ATG-CY	CSA-MMF
24	48	OMF	m	refraktär	unr	id	f	pb	BUS-Cy-ATG	CSA-MTX
25	35	AML	m	refraktär	unr	df	m	pb	4Gy-ATG-CY	CSA-MMF
26	22	AML	m	Rezidiv	unr	df	f	pb	4Gy-ATG-Cy	CSA-MMF
27	66	AML	f	Rezidiv	unr	df	f	pb	BUS-ATG-CY	CSA-MMF
28	51	AML	m	refraktär	sib	id	m	pb	4Gy-ATG-CY	CSA-MMF
29	33	CLL	m	refraktär	unr	id	m	pb	12Gy-ATG-CY	CSA-MMF
30	52	B-NHL	m	CR	sib	id	f	pb	Ritux-Flu-CY	CSA-MMF

**Tabelle 9:** Gesamtübersicht aller 30 Patienten (*CR* komplette Remission, *PR* partielle Remission → bezogen auf die Grunderkrankung des Patienten; *unr* unverwandt, *sib* verwandt, *df* different, *id* identisch; *m* männlich, *w* weiblich; *SSC* Stammzellquelle, *pb* periphere Blutstammzellen, *ma* Knochenmark, *mp* Knochenmark und periphere Blutstammzellen an Tag +6, *cb* Cord blood; *Gy* Gray, *CY* Cyclophosphamid=Endoxan; *IS* prophylaktische Immunsuppression, *CSA* Cyclosporin A)

## 2.2 Therakos® Photopherese-System

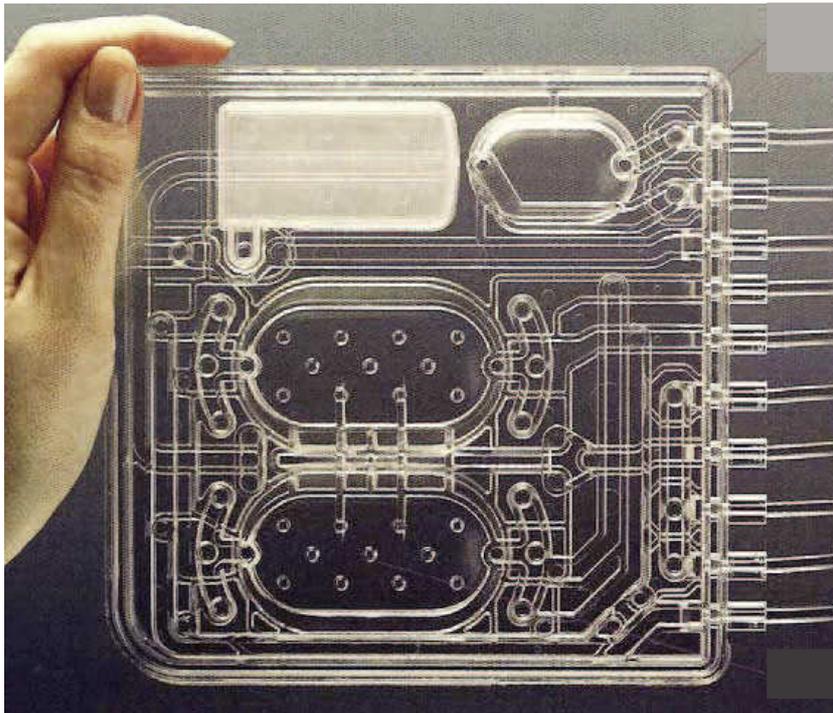
Die Photopherese wurde ausschließlich an den UVAR® XTS™ Geräten der Firma Therakos (Johnson & Johnson Company, Coronation Road, Ascot, Berkshire, SL5 9EY, UK) durchgeführt. Dieses Gerät wurde im Jahr 1998 aus dem Vorgängermodell UVAR® entwickelt. Aktuell befindet sich bereits seit kurzer Zeit ein Nachfolgemodell (CFS™) in Anwendung, welches aber in unserem Zentrum noch nicht zum Einsatz kommt.



**Abbildung 7:** Therakos UVAR® XTS™ Photopherese-System

### 2.2.1 Geräteaufbau

Die drei wesentlichen Komponenten des Photopheresesystems sind die Zentrifuge, das Fluid Logic Modul (FLM) und die Photoaktivierungskammer. In der Zentrifuge werden bei jeder ECP-Behandlung 5-10% der Leukozyten eines Patienten von den restlichen Blutbestandteilen separiert. Im sogenannten Fluid-Logic-Modul laufen alle entscheidenden Infusionssysteme vom Patienten und aus dem Photopheresesystem zusammen. Abbildung 8 zeigt systematisch den Aufbau des Fluid Logic Moduls:



- Zufluss Antikoagulans
- Rückfluss Antikoagulans
- Patientenleitung
- Kochsalzlösung
- } Plasmarückfluss
- Zentrifuge Zufluss
- Zentrifuge Rückfluss
- } Behandlungsleitung

**Abbildung 8:** Therakos UVAR® XTS™ Photopherese-System, Fluid Logic Modul

In der Photoaktivierungskammer findet die eigentliche Therapie mit der Photoaktivierung des Buffy Coat statt.

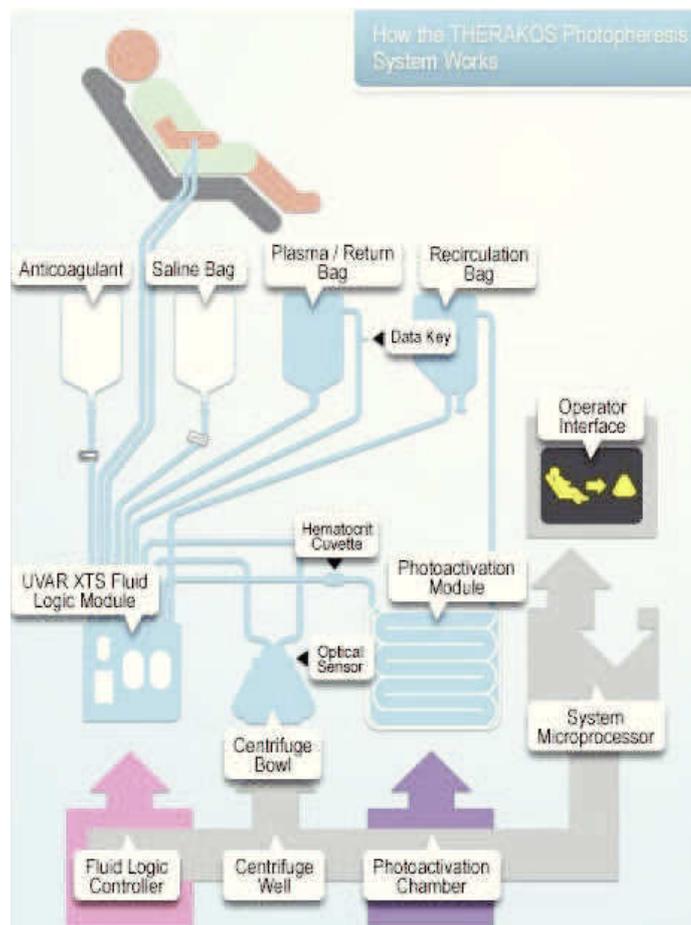


**Abbildung 9:** Therakos UVAR® XTS™ Photopherese-System, Photoaktivierungskammer

Neben diesen drei Hauptbestandteilen enthält jedes Behandlungsset einen elektronischen Datenträger, der Fehlermeldungen bei jeder Behandlung abspeichert und bei Bedarf ausgelesen werden kann.

### 2.2.2 Funktionsweise

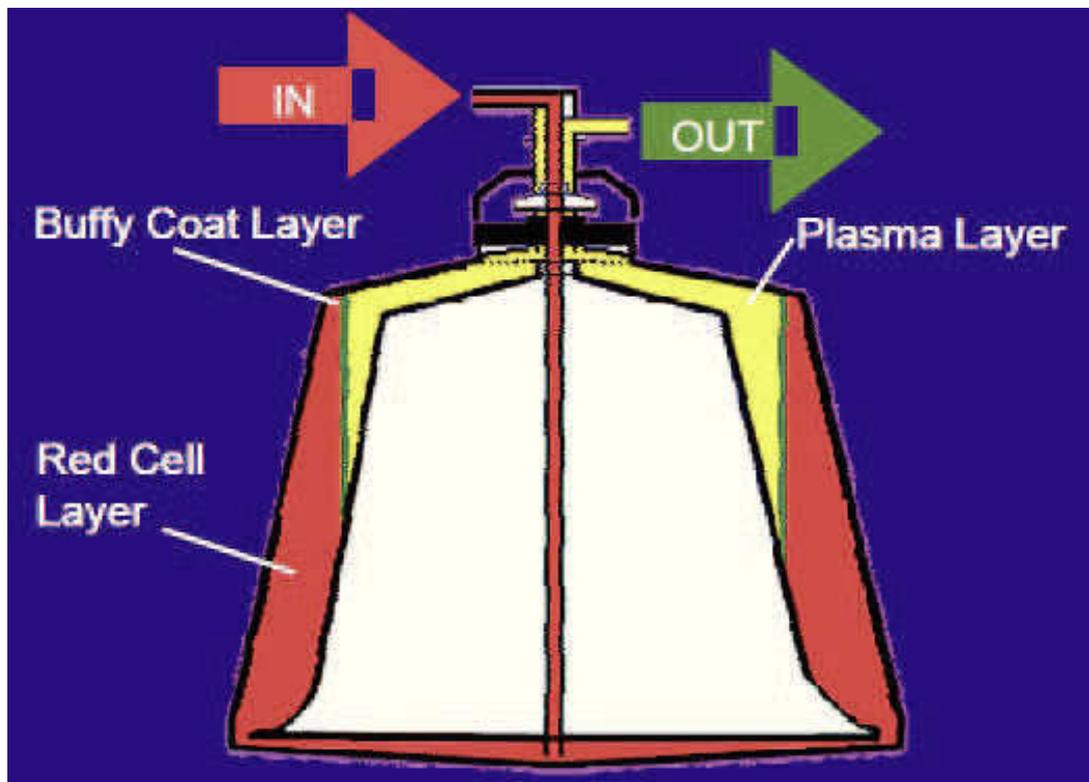
Zur besseren Verständlichkeit der praktischen Vorgehensweise der ECP zeigt Abbildung 10 eine schematische Übersicht über das komplette System und die Verbindung zum Patienten:



**Abbildung 10:** Therakos UVAR® XTS™, schematischer Überblick

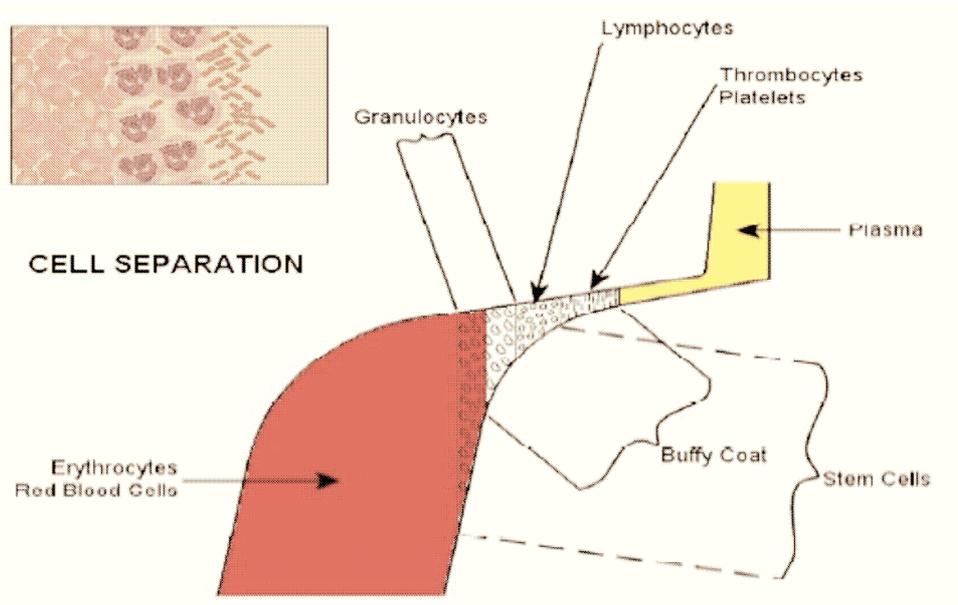
Das vom Patienten mit einer optimalen Flussgeschwindigkeit von 30 ml/min abgezogene Vollblut fließt initial in das FLM und wird dort mit Kochsalzlösung und einer geringen Menge Antikoagulans (Heparin 20 IE/ml Kochsalzlösung NaCl 0,9%)

versetzt. Anschließend wird es aus dem FLM in die Zentrifuge zur Separation von Leukozyten und restlichen Blutbestandteilen weitergeleitet. Erythrozyten und Blutplasma werden dem Patienten reinfundiert. Innerhalb der Zentrifuge ergibt sich im Rahmen des Prozesses folgendes Bild:



**Abbildung 11:** Therakos UVAR® XTS™ Photopherese-System, Haemonetics® Zentrifuge

Die roten Blutkörperchen setzen sich aufgrund ihres höheren Gewichts am Boden und im Außenbereich der Zentrifugenglocke ab, während das Blutplasma im oberen und inneren Bereich verweilt. Zwischen diesen beiden Schichten befindet sich der gewünschte Buffy Coat, welcher Granulozyten, Lymphozyten und auch die Thrombozyten enthält. Das Plasma und ein Teil der Thrombozyten verlässt über den Ablauf die Zentrifuge. Ein optischer Sensor erkennt die Grenze zwischen Erythrozyten und Buffy Coat, welcher elutriert wird und zurück in das FLM und von dort in die Bestrahlungskammer gelangt. Die Erythrozyten werden zusammen mit dem Blutplasma zurück zum Patienten gegeben.



**Abbildung 12:** Therakos UVAR® XTS™ Photopherese-System, schematische Darstellung der Zellseparation

Diese Prozedur wird je nach Größe der Zentrifugenglocke zwischen zweimal und sechsmal wiederholt, bevor ausreichend Buffy Coat gesammelt wurde. Durch Aufteilung der Buffy Coat-Gewinnung in maximal 6 Zyklen mit zwischenzeitlicher Rückgabe der anderen Blutbestandteile wird ein zu großes extrakorporales Volumen vermieden. Nach Erlangen des Buffy Coat befindet sich dieser im Behandlungsbeutel, wo er mit 8-MOP versehen wird. Die applizierte Menge richtet sich nach dem Volumen des Buffy Coats und beträgt 0,017ml/ml Buffy Coat. Nun kommt es in der Photoaktivierungskammer zur UVA-Bestrahlung. Nach stattgefundener Bestrahlung erhält der Patient die behandelten Leukozyten zurück.

### 2.2.3 8-Methoxypsoralen (8-MOP)

8-MOP wird, wie bereits erläutert, als Photosensitizer im Rahmen der ECP verwendet. Der Handelsname des Präparates lautet UVADEX, die Konzentration der Lösung beträgt 0,02mg/ml Methoxsalen. Die Anwendung ist ausschließlich zur Injektion in den gesammelten Buffy Coat außerhalb des Patienten zugelassen. Die Dosis berechnet sich folgendermaßen:

- Behandlungsvolumen Buffy Coat x 0,017 = Menge UVADEX in ml
- Beispiel: Buffy Coat 250ml → 250ml x 0,017 = 4,25ml UVADEX

Die errechnete Menge UVADEX wird unmittelbar vor Beginn der UVA-Bestrahlung in den Behandlungsbeutel injiziert. Die ehemals orale UVADEX-Applikation hatte bisweilen Übelkeit und Erbrechen zur Folge, diese unerwünschten Wirkungen sind bei der extrakorporalen Anwendung nicht beschrieben. Eine Phototoxizität des Medikamentes ist ab einer systemischen Exposition von 30 ng/ml nicht sicher auszuschließen. Die in präklinischen Sicherheitsstudien gemessene Konzentration von Methoxsalen im Plasma nach Reinfusion der ECP-behandelten Leukozyten lag unter 10ng/ml. Die Anwendung erscheint daher absolut unbedenklich.

## 2.3 Anwendung der ECP

Die extrakorporale Photopherese (ECP) kam in unserer retrospektiven Analyse ausschließlich bei akuten GvHD-Patienten zur Anwendung. Nahezu alle Patienten waren zum Beginn der Behandlung noch stationär auf einer Transplantationsstation. Nach Entlassung der Patienten erfolgte bei manchen Patienten eine ambulante Therapiefortsetzung.

### 2.3.1 Indikationsstellung und Definition der Steroidrefraktärität

Die GvHD-Therapie mittels ECP kam für die Patienten in Frage, welche auf die initiale Behandlung mit Hochdosis-Steroiden nicht angesprochen hatten und somit als „steroidrefraktär“ galten. Von Steroidrefraktärität ist auszugehen, wenn nach dreitägiger Prednisolon-Therapie mit 1-2 mg /kg KG alle acht Stunden keine Besserung der GvHD-Symptomatik erreicht werden konnte oder eine Verschlechterung eintrat. Das Ansprechen der Steroidtherapie wurde nach klinischen GVHD-Zeichen (Exanthemausbreitung, Lebewerte, Durchfälle) beurteilt.

### 2.3.2 Patientenbezogene Behandlungsvoraussetzungen

Alle Patienten, welche mit ECP behandelt wurden, waren über die Funktionsweise der Behandlung und deren potentielle Nebenwirkungen aufgeklärt und mit der Therapie einverstanden. Voraussetzung für die Durchführbarkeit der Therapie waren:

- stabile Kreislaufverhältnisse (Blutdruck >100 mm Hg systolisch)
- Hämoglobinwert > 9,5 g/dl
- Thrombozytenzahl >30 G/l
- fehlende Kontraindikationen gegen eine Heparin-gabe

Bei Patienten, die sich aufgrund der ausgeprägten GvHD in einem sehr reduzierten Allgemeinzustand befanden, bestand die Möglichkeit der direkten Durchführung im Krankenzimmer. Alle anderen Patienten wurden in einem separaten, speziell für die Bedürfnisse der KMT-Patienten abgestimmten Raum behandelt, wobei maximal zwei Patienten gleichzeitig anwesend waren.

### 2.3.3 Behandlungsfrequenz

Die ECP erfolgte bei unseren Patienten zweimal wöchentlich, in Einzelfällen bei Beginn der Therapie auch dreimal wöchentlich. Die Behandlungstage mussten hierbei nicht direkt aufeinanderfolgen. Bei Ansprechen und deutlich gebesserten Symptomen wurde die Frequenz auf eine Sitzung pro Woche oder zwei Sitzungen in 14-tägigem Abstand verringert.

### 2.3.4 Definition der Kriterien des Ansprechens anhand der Steroideinsparung

Das Ansprechen der ECP wird in vielen Vorberichten anhand rein klinischer Parameter, die bei der täglichen Untersuchung der Patienten erhoben werden, beurteilt. Da diese Evaluation jedoch eine subjektive Einschätzung mit sich bringt, wurde unser Patientenkollektiv mittels objektiverer Parameter bezüglich des

Ansprechens beurteilt. Die Dosis an Kortikosteroiden (Prednisolon), die ein Patient zur erfolgreichen Therapie der GvHD benötigt, spiegelt oft sehr gut das Ansprechen wieder. Erleiden Patienten eine Verschlechterung der GvHD-Manifestationen, so muss oft die Dosis an Kortikosteroiden hochgesetzt oder langsamer reduziert werden. Ziel der ECP-Therapie ist neben Verbesserung der klinischen GvHD-Erscheinungen eine schnellere Steroidreduktion und somit verminderte Nebenwirkungsrate der Steroide zu erreichen. Aus diesem Grund soll im Folgenden das Ansprechen der ECP anhand der Steroidreduktion beurteilt werden.

Zur objektiven Einschätzung des Therapieerfolgs wurden vier Stufen des Ansprechens festgelegt und die Patienten anschließend diesen Stufen zugeordnet. Die Kriterien des Ansprechens wurden vor Beginn der Auswertung folgendermaßen definiert:

- **CR (komplettes Ansprechen, complete response)**  
Komplettes Absetzen der Steroide und aller anderen Immunsuppressiva
- **PR (partielltes Ansprechen, partial response)**  
Reduktion der Steroiddosis auf 10 mg täglich oder weniger
- **MR (vermindertes Ansprechen, minor response)**  
Reduktion der Steroiddosis auf maximal 50% der Ausgangsdosis vor ECP-Start, aber mehr als 10 mg täglich
- **NR (fehlendes Ansprechen, no response)**  
Erhöhung der Steroiddosis, keine Möglichkeit der Reduktion oder eine Reduktion um weniger als 50% der Ausgangsdosis vor ECP

Der Zeitraum, in welchem die Reduktion erfolgen musste, umfasste den gesamten Nachbeobachtungszeitraum. Hatte ein Patient eine niedrigere Steroiddosis nur für weniger als einen Monat erreicht und musste anschließend wieder mit höheren Dosen behandelt werden, so war das Response-Kriterium der niedrigeren Dosis nicht dauerhaft erfüllt. Zur Verdeutlichung ein Beispiel: Patient A hat eine Reduktion der Steroiddosis auf 10 mg erreicht, was ihn eigentlich der Gruppe der Partiellen Response (PR) zuweisen würde. Aufgrund wieder zunehmender GvHD wird jedoch nach 25 Tagen die Kortikosteroidgabe auf 30 mg angehoben. Dies bedeutet nun, dass der Patient noch keine PR dauerhaft erreicht hat und zur Gruppe der Minor Reponse (MR) gehört.

## 2.4 Datenerhebung und -auswertung

Die 30 Patienten, welche in die Datenerhebung und –auswertung miteinbezogen wurden, wurden alle an der Ludwig-Maximilians-Universität München, Standort Großhadern, in der Transplantationseinheit für hämatopoetische Zelltransplantation behandelt. Die Datenrekrutierung erfolgte retrospektiv anhand der KMT-Verlaufsbögen, Laborwerte und Photophereseberichte.

In den KMT-Verlaufsbögen werden alle ambulanten und stationären Aufenthalte des Patienten ab der ersten ambulanten Visite vor Transplantation dokumentiert. Aus den Bögen gehen sowohl die Indikation zur Transplantation und die Vorerkrankungen des Patienten als auch die klinischen Verläufe (Labor, Mikrobiologie, klinische Visite, Bildgebung, Knochenmark- und Chimärismusbefunde, antimikrobielle Therapie, Immunsuppression) während und nach erfolgter Transplantation hervor. Die Photophereseberichte enthalten die Vitalparameter, applizierten Infusionen, die Dosis von 8-MOP und den Verlauf der jeweiligen Photopheresesitzung. Ebenso werden aktuelle Probleme des Patienten und etwaige Nebenwirkungen festgehalten. Die photographische Dokumentation der Patienten wurde durch die Photoabteilung des Klinikums erstellt.

Die statistische Datenerhebung und –auswertung erfolgte zum einen mit Microsoft Windows-Excel, zum anderen mit dem SPSS17-Statistikprogramm. Die Überlebensanalysen wurden nach Kaplan-Meier, die statistische Signifikanz mit dem Logrank-Verfahren berechnet. Die univariate Analyse erfolgte mit Hilfe des Chi-Quadrat-Verfahrens und der Korrelation nach Pearson sowie dem Exakten Test nach Fisher. Des weiteren wurde die kumulative Inzidenz für das Erreichen der CR/PR mit dem SAS-Programm berechnet.

### 3 Ergebnisse

Für einen vollständigen Überblick über die Effektivität der ECP in der Therapie der GvHD wurden sowohl der Schweregrad der GvHD, die Organverteilung und der Zeitpunkt des Auftretens berücksichtigt, als auch die Möglichkeit der Steroidreduktion unter ECP-Therapie als Maßstab für das Ansprechen sowie das Überleben der Patienten und begleitende Virusinfektionen, die gegebenenfalls die GvHD zusätzlich triggern. Daneben galt das Interesse der Rate an chronischer GvHD, deren Ausprägung und eventueller erneuter ECP-Zyklen.

#### 3.1 Akute GvHD

Die Patienten wurden anhand der aktuell gültigen Stadien- und Gradeinteilung der akuten GvHD nach Glucksberg et al. evaluiert. Eine therapiebedürftige GvHD liegt ab einer Grad II-Ausprägung vor. Somit hatten alle Patienten, bei denen die immunsuppressive Therapie mit Kortikosteroiden begonnen wurde, mindestens diesen Grad erreicht.

##### 3.1.1 Schweregrad der akuten GvHD

Der Schweregrad der akuten GvHD wurde nach der stärksten Ausprägung, die erreicht wurde, benannt. Es zeigt sich folgende Verteilung:

<u>Grad akute GvHD</u>	<u>Patientenzahl</u>
II	7
III	13
IV	10

**Tabelle 10:** Häufigkeit der GvHD-Schweregrade

Es entwickelten zwei Drittel der steroidrefraktären Patienten eine milde oder mäßige GvHD (Grad II und III) und das restliche Drittel eine schwerste GvHD (Grad IV).

Betrachtet man die verschiedenen Spendertypen, so erhält man diese Ausprägung der GvHD in den einzelnen Subgruppen:

<u>Spendertyp</u>	<u>Grad akute GvHD</u>	<u>Patientenzahl</u>
HLA-identisch verwandt	II	2
	III	3
	IV	3
HLA-identisch unverwandt	II	2
	III	5
	IV	3
HLA-different verwandt	II	0
	III	1
	IV	1
HLA-different unverwandt	II	3
	III	4
	IV	3

**Tabelle 11:** GvHD-Ausprägung abhängig vom Spendertyp

Die einzelnen Spendergruppen unterscheiden sich nur geringfügig in der Schweregradverteilung der GvHD mit vorwiegend Grad III und Grad IV GvHD in allen Spendergruppen.

Bezüglich des Spender-Empfänger-Geschlechts zeigt sich bei weiblichen Spendern und männlichen Empfängern eine etwas höhere Rate an GvHD Grad IV, bei etwas geringerem Auftreten einer Grad III GvHD, wie diese Übersicht veranschaulicht:

<u>Spendergeschlecht</u>	<u>Grad akute GvHD</u>	<u>Patientenzahl</u>
weiblich in männlich	II	3
	III	3
	IV	4
männlich in männlich	II	2
weiblich in weiblich	III	11
männlich in weiblich	IV	6

**Tabelle 12:** GvHD-Ausprägung abhängig vom Spender-Empfänger-Geschlecht

Die Patientin, die ein Doppel-Nabelschnur-Transplantat (männlich/weiblich) erhalten hatte, entwickelte eine Grad II GvHD.

### 3.1.2 Organverteilung der akuten GvHD

Bezüglich des Ansprechens auf die Therapie mit ECP scheint, laut bisherigen Ergebnissen bei der chronischen GvHD, die Organverteilung eine wichtige Rolle zu spielen. Daher wurde diese auch bei unseren Patienten mit akuter GvHD analysiert. Dabei wurden die drei Hauptmanifestationen Haut, Leber und Darm berücksichtigt. Unter „andere Manifestationen“ fallen beispielsweise Gelenk- und Muskelbeteiligungen, die Sicca-Symptomatik und die Mikroangiopathie.

Folgende Tabelle zeigt die Zahl der Organe, die bei unseren Patienten mit akuter GvHD betroffen waren:

<u>Anzahl an betroffenen Organen</u>	<u>Patientenzahl</u>
1 Organ	6
2 Organe	10
3 Organe	11
> 3 Organe	3

**Tabelle 13:** Organbefall der akuten GvHD nach Anzahl an Organen (Haut, Leber, Darm und „andere Manifestationen“)

Hier nun die Organmanifestationen nach Organen aufgeteilt:

<u>Betroffene Organe</u>	<u>Patientenzahl (%)</u>
Haut	30 von 30 (100,0%)
Leber	12 von 30 (40,0%)
Darm	23 von 30 (76,7%)
Andere	6 von 30 (20,0%)

**Tabelle 14:** Organbefall der akuten GvHD nach Organen (Haut, Leber, Darm und „andere Manifestationen“)

Tabelle 14 zeigt deutlich, dass alle Patienten einen Befall der Haut aufwiesen, welche als das am besten mittels ECP zu behandelnde Organ gilt.

### 3.1.3 Zeitpunkt des GvHD-Auftretens

Nach alter Definition wird die GvHD, welche bis spätestens Tag 100 nach PBSCT auftritt, als akute GvHD gewertet. Neuere Einteilungen bezeichnen aber auch später erscheinende Formen der GvHD als akut, falls das Erscheinungsbild eher der akuten als der chronischen GvHD entspricht.

Die klinischen Zeichen einer GvHD traten in unserer Patientengruppe frühestens an Tag 9 nach Transplantation auf, spätestens an Tag 160, im Median 20 Tage nach PBSCT/KMT. Der Patient, welcher erst an Tag 160 eine akute GvHD erlitt, hatte bei fehlendem Leukozytentake eine zweite Stammzellgabe erhalten. 50 Tage nach dieser war es zu der beschriebenen akuten GvHD gekommen.

<b>Auftreten akute GvHD (Tage nach PBSCT/KMT)</b>		
Minimum	Maximum	Median
9	160 (50)	20

**Tabelle 15:** Zeitpunkt des Auftretens einer behandlungsbedürftigen akuten GvHD (mindestens Grad II)

### 3.2 Durchführung der extrakorporalen Photopherese

Die ECP kam bei allen Patienten mit Steroidrefraktärität zum Einsatz. Wurde bei einem Patienten die Indikation zu ECP gestellt, fand die erste Sitzung innerhalb der ersten beiden Tage nach Indikationsstellung statt.

### 3.2.1 Zeitpunkt, Frequenz und Dauer der Therapie

Abhängig vom Auftreten der akuten GvHD wurde mit der ECP zwischen Tag 15 und 165 nach Transplantation begonnen, im Median lag der Start der Therapie an Tag 43. Der Zeitabstand nach Beginn der akuten GvHD bis zur Indikationsstellung und letztendlich Durchführung der ECP schwankte innerhalb der 30 Patienten zwischen einem Tag und 102 Tagen, im Median dauerte es 18 Tage vom Auftreten der GvHD bis zur ersten ECP-Therapie. Die relativ große Schwankung lässt sich dadurch erklären, dass bei manchen Patienten initial die GvHD-Symptomatik gut auf die Therapie mit Steroiden ansprach und erst im Verlauf, oft schon nach Ende des stationären Aufenthaltes, die akute GvHD wieder aufflammte und refraktär auf die Kortikoidgaben war.

Die ECP fand bei den refraktären Patienten im Durchschnitt zweimal pro Woche statt, zu Beginn der Therapie teilweise dreimal wöchentlich. Bei klinischem Ansprechen der Therapie konnte die Frequenz der ECP reduziert werden auf eine Anwendung pro Woche. Bei vollständigem Abklingen der Symptome wurde die ECP beendet.

Die mediane Dauer der ECP-Therapie betrug 54 Tage, die mediane Anzahl der ECP-Sitzungen 15. Die letzte ECP wurde im Median an Tag 114 nach Transplantation durchgeführt.

### 3.2.2 Applikation weiterer Immunsuppressiva

Ein Teil der Patienten, welche aufgrund einer steroidrefraktären GvHD mit ECP behandelt wurden, erhielten zusätzlich weitere Immunsuppressiva, um das Voranschreiten der GvHD einzudämmen. Je nach akutem Verlauf und Dynamik der Erkrankung wurden die Immunsuppressiva zeitgleich oder nach Beginn der ECP gestartet. Zur Anwendung kamen OKT3, Daclizumab, Etanercept, Tacrolimus, Sirolimus und Methotrexat sowie lokal Entocort. In Einzelfällen schwerster GvHD wurden zusätzlich im Verlauf der Behandlung Pentostatin, Pentaglobin und mesenchymale Stammzellen appliziert. Eine Gruppe von 8 Patienten erhielt ausschließlich ECP als „second line“ Therapie (8 von 30 Patienten, 26,7%).

<u>Anzahl zusätzlicher Immunsuppressiva</u>	<u>Patientenzahl (%)</u>
0	8 (26,7%)
1	4 (13,3%)
2	4 (13,3%)
≥ 3	14 (46,7%)

**Tabelle 16:** Anzahl der zusätzlich zu ECP und Steroiden eingesetzten Immunsuppressiva zur Behandlung der akuten GvHD

### 3.2.3 Nebenwirkungen der ECP-Therapie

Im Gegensatz zu vielen immunsuppressiven Substanzen gilt die ECP als nebenwirkungsarme Prozedur. Bei unserem Patientenkollektiv kam es zu keinerlei schwerwiegenden Nebenwirkungen. Insgesamt ließen sich folgende, potentiell der ECP-zuzuordnende, unerwünschte Wirkungen feststellen:

- Müdigkeit und körperliche Erschöpfung am Tag der Behandlung und, in wenigen Fällen, am Tag nach der Behandlung
- Photosensibilität der Augen (Besserung durch das protektive Tragen einer UV-Schutzbrille)
- Vorzeitige Transfusion von Blutprodukten bei Hämoglobinwerten < 9,5 g/dl und Thrombozytenwerten < 30 G/l (anstelle von folgenden Transfusionsuntergrenzen: Hämoglobin < 8 g/dl, Thrombozyten < 10 G/l)
- Hypotonie durch extrakorporales Volumen, durch intravenösen Volumenersatz in allen Fällen gut zu beherrschen

In keinem der Fälle musste die ECP-Therapie aufgrund von unerwünschten Wirkungen abgebrochen werden. In Einzelfällen wurde bei behandlungsrefraktärer GvHD und massiver Beeinträchtigung des Allgemeinzustandes die ECP nicht mehr fortgesetzt.

### 3.3 Ansprechen der ECP-Therapie

Das Ansprechen der ECP-Therapie wurde nach den unter 2.3.4 genannten Kriterien evaluiert.

#### 3.3.1 Ansprechraten des Patientenkollektivs

Die 30 Patienten verteilten sich folgendermaßen auf die vier Responsegruppen:

<u>Response</u>	<u>Patientenzahl (%)</u>
CR	11 (36,7%)
PR	9 (30,0%)
MR	4 (13,3%)
NR	6 (20,0%)

**Tabelle 17:** Ansprechen der Patienten auf die ECP-Therapie anhand der Steroidreduktion

Hieraus wird ersichtlich, dass zwei Drittel der Patienten sehr gut (CR) und gut (PR) auf die ECP-Therapie angesprochen haben und zum Ende des Nachbeobachtungszeitraums entweder gar keine Immunsuppression (CR) mehr benötigten oder nur noch geringe Steroiddosen (PR). Die ECP hat bei diesem Teil der Patienten eine Einsparung an Steroiden und an gefürchteten potentiellen Nebenwirkungen ermöglicht. Für das verbliebene Drittel der Patienten konnte leider nur eine geringe (MR) oder gar keine (NR) Verbesserung der GvHD verzeichnet werden, was zu einem hohen Bedarf an Kortikosteroiden zur Therapie der GvHD geführt hat.

Um exakter beurteilen zu können, welche Patienten ein gutes Ansprechen aufwiesen, wurde zusätzlich eine Subgruppenanalyse bezüglich der GvHD-Ausprägung durchgeführt:

<u>Ausprägung akute GvHD</u>	<u>Anzahl Patienten</u>			
	<u>CR</u>	<u>PR</u>	<u>MR</u>	<u>NR</u>
II (7 Patienten)	3	2	2	0
III (13 Patienten)	5	7	0	1
IV (10 Patienten)	3	0	2	5

**Tabelle 18:** Ansprechen der Patienten auf die ECP-Therapie, unterteilt nach Ausprägungsgrad der GvHD

Aus Tabelle 18 wird deutlich ersichtlich, dass vor allem Patienten mit Grad II GvHD und Grad III GvHD eine gutes bis hervorragendes Ansprechen zeigten, während bei der Grad IV GvHD immerhin noch drei Patienten gut ansprachen. Die restlichen sieben Patienten profitierten jedoch nicht von der ECP-Therapie.

Unter den Patienten mit steroidrefraktärer GvHD Grad II, konnten bei jedem Patienten die Steroide zumindest auf 50% der Ausgangsdosis vor Start der ECP reduziert werden und knapp die Hälfte der Patienten benötigte im Verlauf keinerlei Kortisontherapie mehr. Für die Patienten mit GvHD Grad III konnte mittels ECP bei mehr als 90% eine Reduktion der Steroiddosis auf weniger als 10mg erreicht werden.

Von den Patienten mit schwerster GvHD (Grad IV) gewann leider die Hälfte überhaupt keinen Profit aus der Therapie, während 30% hervorragend ansprachen und längerfristig keine Steroidgaben mehr erhielten.

### 3.3.2 Steroidreduktion des Gesamtkollektivs

Betrachtet man die Steroiddosis, die das Patientenkollektiv vor Beginn und nach Beendigung der ECP-Therapie erhielt, so ergibt sich folgendes Bild:

Die mediane Dosis, welche Patienten vor Start der ECP appliziert bekamen, lag bei 150mg täglich. Unter dieser Dosis zeigte sich somit kein ausreichendes Ansprechen der GvHD-Manifestationen, so dass mit der ECP-Therapie begonnen wurde.

Nach Beendigung der ECP konnten die Patienten auf eine mediane Dosis von 5mg Prednisolon pro Tag reduziert werden. Einige Patienten benötigten jedoch weiterhin relativ hohe Kortikoidgaben bei refraktärer GvHD.

Überblickt man die Steroiddosis nach 100-tägiger ECP-Therapie, so lassen sich folgende Werte festmachen: die mediane Dosis zu diesem Zeitpunkt lag bei 7,5mg täglich (range 0-15mg). Insgesamt 8 der 30 ECP-Patienten waren 100 Tage nach Beginn der ECP verstorben. Diese Patienten wurden folglich nicht in die Analyse miteinbezogen. Es lässt sich also feststellen, dass innerhalb der ersten 100 Tage ECP bei den Überlebenden eine deutliche Reduktion der Prednisolondosis stattfand, während nach diesem Beobachtungsintervall die Reduktion nur noch geringfügig durchgeführt werden konnte.

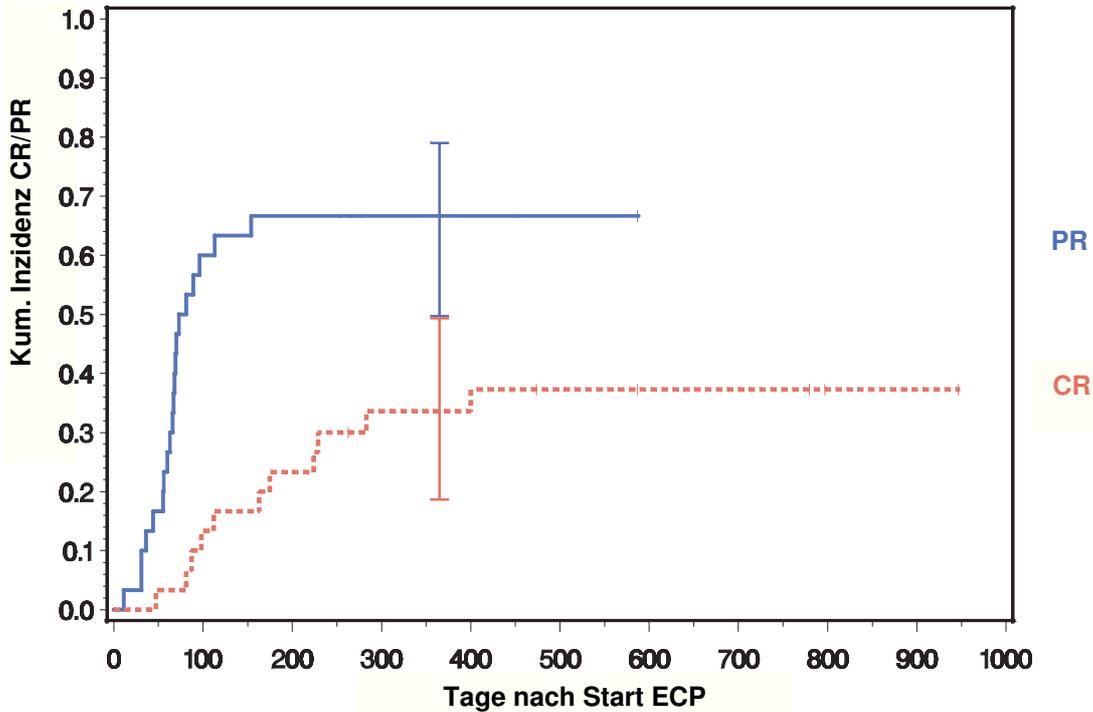
### 3.3.3 Zeitpunkt des Ansprechens

Um genauer den Zeitpunkt des Ansprechens festzumachen, wurden die Zeitpunkte analysiert, wann die Patienten die jeweilige Stufe des Ansprechens erfüllen konnten.

Insgesamt 11 Patienten erreichten eine CR nach den definierten Kriterien des Ansprechens. Die Zeitspanne, bis die Steroidgaben endgültig beendet werden konnten und somit die CR-Kriterien erfüllt waren, lag im Median bei 163 Tagen, gerechnet ab Beginn der ECP-Therapie, und bei 180 Tagen, gerechnet nach SCT. Es konnten also im Median innerhalb von weniger als 6 Monaten nach Beginn der ECP-Therapie die Prednisolongaben bei diesen 11 Patienten, die initial eine refraktäre GvHD aufwiesen, komplett beendet werden. Von Interesse war außerdem der Zeitpunkt, wann in dieser Patientensubgruppe die PR erreicht wurde. Hier ergaben sich folgende Resultate: im Median dauerte es bis zum Erfüllen der PR 67 Tage nach ECP-Beginn (range 11-113). Verglichen mit den Zeitpunkten der CR wurde somit rasch nach Beginn der ECP eine Kortikoiddosis von 10 mg oder weniger benötigt, während das endgültige Absetzen der Steroide erst nach einer relativ großen Zeitspanne gelang.

Bei 9 Patienten konnte eine PR verzeichnet werden. Die PR-Gruppe erreichte dieses Kriterium im Median 55 Tage nach Start der ECP, wobei die Zeitspanne bei den einzelnen Patienten zwischen 18 und 154 Tagen lag. Vom Tag der SCT ab gerechnet dauerte es zwischen 63 und 197 Tagen bis zum Erreichen der PR, im Median 112 Tage.

Aufgrund der geringen Patientenzahl in der MR-Gruppe (4 Patienten) wurde auf die Auswertung bezüglich des Zeitpunktes der MR verzichtet. Abbildung 13 zeigt die kumulative Inzidenz für die CR-Gruppe und für die Patienten mit Erreichen einer PR (insgesamt 20 Patienten, davon 11 CR und 9 PR).



**Abbildung 13:** Kumulative Inzidenz für das Erreichen einer CR (rote Kurve) und PR (blaue Kurve)

Insgesamt waren 7 der 30 Patienten ein Jahr nach Transplantation ohne jegliche Immunsuppression.

Nr.	Grad aGvHD	Zeitpunkt aGvHD (d nach SCT)	Start ECP (d nach SCT)	Anzahl ECP-Sitzungen	Dauer ECP (d)	Steroiddosis (mg/Tag) vor ECP	MR d nach ECP	PR d nach ECP	CR d nach ECP	Minimale Steroiddosis nach ECP	Ansprechen
1	3	17	18	32	214	300	13	113	224	0	CR
2	3	27	37	21	60	240	9	66	81	0	CR
3	3	20	122	17	53	150	26	56	283	0	CR
4	3	12	114	9	25	150	9	60	nr	5	PR
5	2	25	37	13	42	180	8	69	nr	7,5	PR
6	2	18	35	24	83	150	10	110	nr	10	MR
7	3	14	42	15	55	80	11	nr	nr	10	NR
8	2	9	27	13	48	90	6	67	229	0	CR
9	4	29	50	21	64	90	na	nr	nr	7,5	MR
10	2	25	48	15	65	50	49	63	98	0	CR
11	4	24	47	9	37	60	13	73	112	0	CR
12	2	14	38	9	34	120	9	81	87	0	CR
13	3	30	57	8	27	50	41	55	nr	2,5	PR
14	4	18	46	14	52	90	29	nr	nr	17,5	NR
15	3	19	22	11	30	300	1	96	175	0	CR
16	3	14	48	21	82	100	37	70	nr	5	PR
17	2	24	56	28	166	200	6	68	nr	5	PR
18	2	35	70	18	227	80	13	349	nr	10	MR
19	4	10	15	25	139	270	10	181	nr	5	NR
20	4	33	92	7	30	10	na	na	nr	0	NR
21	3	14	20	10	34	270	9	44	nr	7,5	PR
22	4	9	15	9	69	270	13	nr	nr	45	NR
23	3	44	104	22	107	20	31	31	nr	7,5	PR
24	4	160/50	167/57	11	34	150	14	nr	nr	30	NR
25	4	21	28	6	8	210	11	nr	nr	75	MR
26	4	10	17	35	137	210	20	89	163	0	CR
27	3	20	27	5	15	270	12	36	nr	2,5	PR
28	3	30	103	15	63	15	na	11	400	0	CR
29	4	10	19	5	14	330	11	31	47	0	CR
30	3	34	43	15	168	210	6	154	nr	5	PR
<b>Median</b>		20	43	15	54	150	11	55	163	5	---

**Tabelle 19:** Gesamtübersicht der ECP-Behandlung und Steroidgaben (*d* Tage; *nr* nicht erreicht, Patient hat nicht so lange gelebt; *na* Information nicht verfügbar); Patient 24: 2 Stammzellgaben, 1. Zahl entspricht Zeit nach 1. SCT, 2. Zahl nach 2. SCT

### 3.3.4 Ausprägung der akuten GvHD 30 und 100 Tage nach Start der ECP

Um einen ersten Erfolg der ECP anhand klinischer Parameter beurteilen zu können, wurden die einzelnen Organmanifestationen 30 Tage nach Start der ECP-Therapie evaluiert. Um die Kontinuität des Ansprechens der verschiedenen GvHD-Manifestationen zu dokumentieren, wurden die Ausprägungsstadien ebenfalls 100 Tage nach Start der ECP erhoben. Die folgende Tabelle zeigt die Verteilung der Haut-, Leber- und Darm-GvHD auf die einzelnen Stadien nach Glucksberg, zum einen vor Start der ECP und zum anderen jeweils 30 Tage und 100 Tage nach Start der ECP-Therapie.

<b>Zeitpunkt</b>	<b>Stadium Haut</b>					<b>Stadium Leber</b>					<b>Stadium Darm</b>					<b>Auswertbare Fälle</b>
	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	
Start ECP	0	0	0	27	3	18	5	4	0	3	7	3	3	6	11	30
nach 30 Tagen	15	8	3	2	2	22	5	0	2	1	12	6	2	5	5	30
nach 100 Tagen	15	5	2	0	0	18	3	0	1	0	11	7	2	1	1	22

**Tabelle 20:** Ausprägung der GvHD-Manifestationen 30 und 100 Tage nach Start ECP

Wie aus der Tabelle 20 ersichtlich lag zu Beginn der ECP bei allen Patienten mindestens eine Stadium 3 Haut GvHD vor, die sich innerhalb der ersten 30 ECP-Tage deutlich zurückbildete und nur bei insgesamt vier Patienten noch Stadium 3 und 4 aufwies. Ein Grossteil der Patienten (18 Patienten, 60%) zeigte ein komplettes Abklingen der Hauterscheinungen.

Bei der Leber GvHD war vor Start der ECP eine beträchtlicher Teil der Patienten nicht betroffen, von den Patienten jedoch, welche eine mittelschwere oder schwere Leber GvHD (7 Patienten, 23,3%) hatten, ließ sich nach 30 Tagen ECP bei fast allen Patienten eine Verbesserung verzeichnen.

Was die Ausprägung der Darm GvHD betrifft, so wiesen einige Patienten vor Beginn der ECP-Behandlung ein mittelschweres bis schwerstes Stadium auf. Diese Patienten konnten nach 30-tägiger ECP-Behandlung zumindest teilweise deutlich in ihrer Symptomatik gebessert werden, bei einem geringen Teil der Patienten gelang sogar eine komplette Kontrolle der Darm-Manifestationen. Insgesamt nahm der Anteil einer Darm GvHD Stadium 2, 3 und 4 ab, dagegen der Anteil von Stadium 0 und 1 zu.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass bei allen drei Organen eine deutliche Besserung der Manifestationen 30 Tage nach Therapiestart der ECP erreicht werden konnte. Die Haut war hierbei das Organ, welches am besten mittels Photopherese zu behandeln ist.

Die Haut GvHD zeigte weiterhin, auch an Tag 100 nach Start der ECP, ein sehr gutes Ansprechen. Bei den Patienten, die zu diesem Zeitpunkt am Leben waren (22 von 30 Patienten, 73,3%), konnte man einen deutlichen Rückgang der Stadien 3 und 4 auf die Stadien 0, 1 und 2 verzeichnen. Kein Patient wies 100 Tage nach Start der ECP Stadium 3 und 4 der Haut GvHD auf, wobei insgesamt 8 Patienten bereits verstorben waren.

Der Schweregrad der Leber GvHD war initial nur bei wenigen Patienten sehr hoch (Stadium 3 und 4 bei insgesamt 3 Patienten, 10%) und zeigte nach 100-tägiger Therapie einen Rückgang der Schwere, jedoch muss auch hier erneut festgestellt werden, dass insgesamt 22 Patienten zu diesem Zeitpunkt der Evaluation noch am Leben waren und 8 Patienten verstorben waren. Von den 8 verstorbenen Patienten wies 1 Patient zu Beginn der ECP eine Leber GvHD Stadium 4 auf, die restlichen Patienten litten an einer milden Leberbeteiligung ( 2 Patienten Stadium 1 und 1 Patient Stadium 2), während 4 der 8 Verstorbenen keine Leber GvHD zeigten.

Bezüglich der Darm GvHD zeigt sich nach 100-tägiger Therapie, dass die Patienten, welche zu Beginn an einer schwersten Darm GvHD litten (11 Patienten), zu einem großen Teil (7 Patienten) eine deutliche Verbesserung der Manifestationen erreichte, aber auch, dass 8 Patienten bereits nach 100 Tagen verstorben waren und ein Patient keine Verbesserung der Symptomatik erzielte. Die Patienten mit niedrigen oder mittelschweren Stadien an Darm GvHD (Stadium 1-3), die nach 100-tägiger Therapie noch am Leben waren, hatten allesamt gut auf die ECP-Therapie angesprochen.

### 3.3.5 Ansprechraten bei Kombination der ECP mit Sirolimus

Da viele der Patienten, bei denen ECP als Zweitlinientherapie nicht ausreichend war, zusätzlich Sirolimus erhielten, wurde das Ansprechen in Abhängigkeit einer stattgefundenen Sirolimusgabe evaluiert.

<u>Ansprechen</u>	<u>Sirolimus</u>	
	<u>ja</u>	<u>nein</u>
CR	5	6
PR	4	5
MR	2	2
NR	2	4
<b><u>Gesamt:</u></b>	13	17

**Tabelle 21:** Ansprechen in Abhängigkeit einer zusätzlichen Sirolimusgabe

Von den 13 Patienten mit Sirolimus erreichten 9 eine CR oder PR (69,2%), während dies in der Gruppe ohne Sirolimus bei 11 von 17 Patienten (64,7%) gelang. Dies stellt keinen signifikanten Unterschied dar ( $p=0,634$ ).

### 3.4 Überleben der GvHD-Patienten

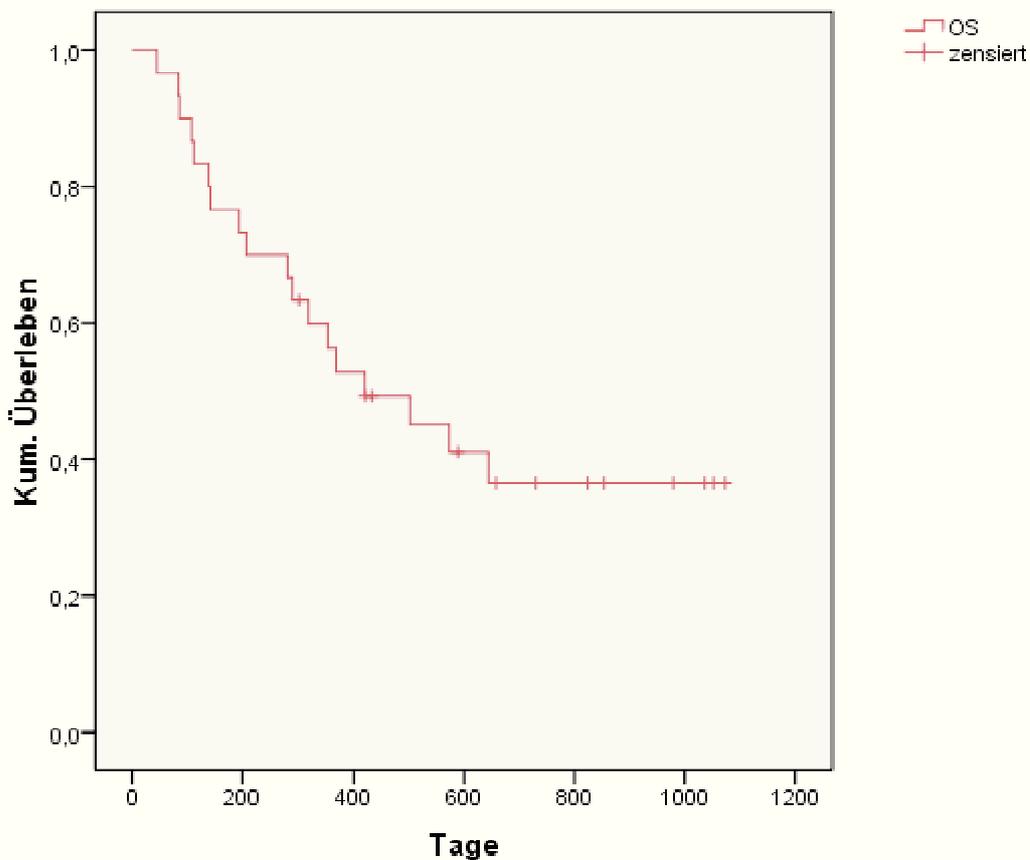
Das Überleben der 30 Patienten, welche aufgrund ihrer steroidrefraktären GvHD mit ECP behandelt wurden, wurde hinsichtlich verschiedener Subgruppen beurteilt, um einen Anhaltspunkt zu erhalten, welche Patienten besonders von der ECP als Therapie der akuten GvHD profitierten.

#### 3.4.1 Überleben

An erster Stelle der Analyse steht das Überleben der Patienten. Der Nachbeobachtungszeitraum betrug zwischen 45 und 1073 Tage nach SCT. Das relativ kurze Follow-up einiger Patienten rührt daher, dass diese Patienten frühzeitig an den Folgen der GvHD oder an einem Rezidiv verstorben sind, worauf an späterer Stelle noch genauer eingegangen wird.

Beim letzten Kontakt waren noch 12 von 30 Patienten am Leben (40%), der Medianwert lag bei 394 Tagen.

Die Überlebenswahrscheinlichkeit nach Kaplan-Meier ergibt folgendes Bild:



**Abbildung 14:** Überleben der 30 ECP-Patienten im Nachbeobachtungszeitraum

### 3.4.1.1 Überleben nach Ausprägung der GvHD

Um herauszufinden, welchen Einfluss die Schwere der GvHD auf das Überleben und auf das Ansprechen der GvHD Manifestationen hat, wurde eine Analyse hinsichtlich Ausprägungsgrad und Überleben durchgeführt. Hierbei wurden die Gradeinteilungen der GvHD nach Glucksberg et al. berücksichtigt.

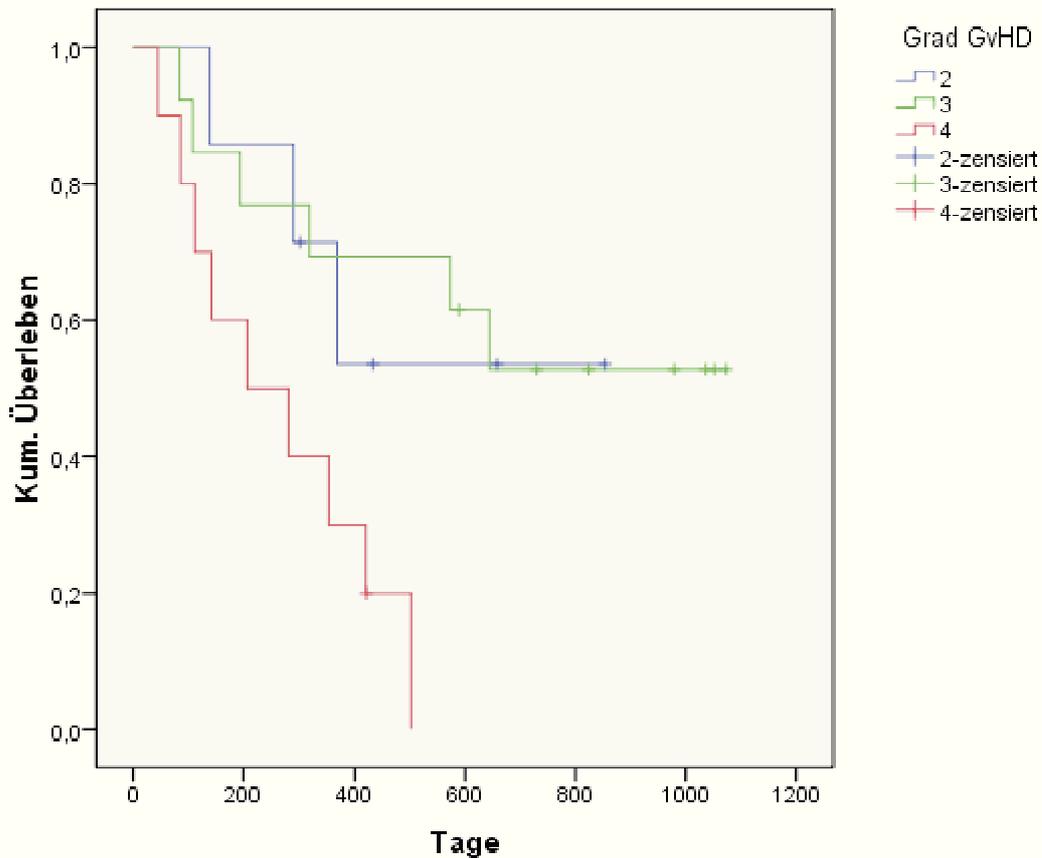
Es zeigt sich folgendes Gesamtüberleben in den einzelnen GvHD Gruppen:

<u>Grad der akuten GvHD</u>	<u>Patientenzahl</u>	<u>Überleben (%)</u>
II	7	4 (57,1%)
III	13	7 (53,8%)
IV	10	1 (10,0%)

**Tabelle 22:** Überleben abhängig vom Ausprägungsgrad der akuten GvHD

Die Grad II und auch Grad III GvHD lässt somit einen deutlichen Überlebensvorteil gegenüber der GvHD Grad IV erkennen. Überraschend erscheint vor allem, dass auch Patienten mit Beteiligung von Leber und/oder Darm (Grad III) ein sehr gutes Überleben zeigten und annähernd gleiche Raten an Gesamtüberleben aufwiesen wie die Grad II GvHD.

Im Folgenden nun die graphisch-statistische Aufarbeitung der eben gezeigten Resultate in Form einer Kaplan-Meier-Überlebenskurve:



**Abbildung 15:** Überleben abhängig vom Ausprägungsgrad der akuten GvHD, dargestellt in einer Kaplan-Meier-Überlebenskurve

Es zeigt sich gleiches Überleben für Patienten mit GVHD Grad II und III, während das Überleben von Patienten mit GvHD Grad IV deutlich schlechter war ( $p=0,015$ ). Dieses Ergebnis könnte mit dem Ansprechen auf ECP erklärbar sein.

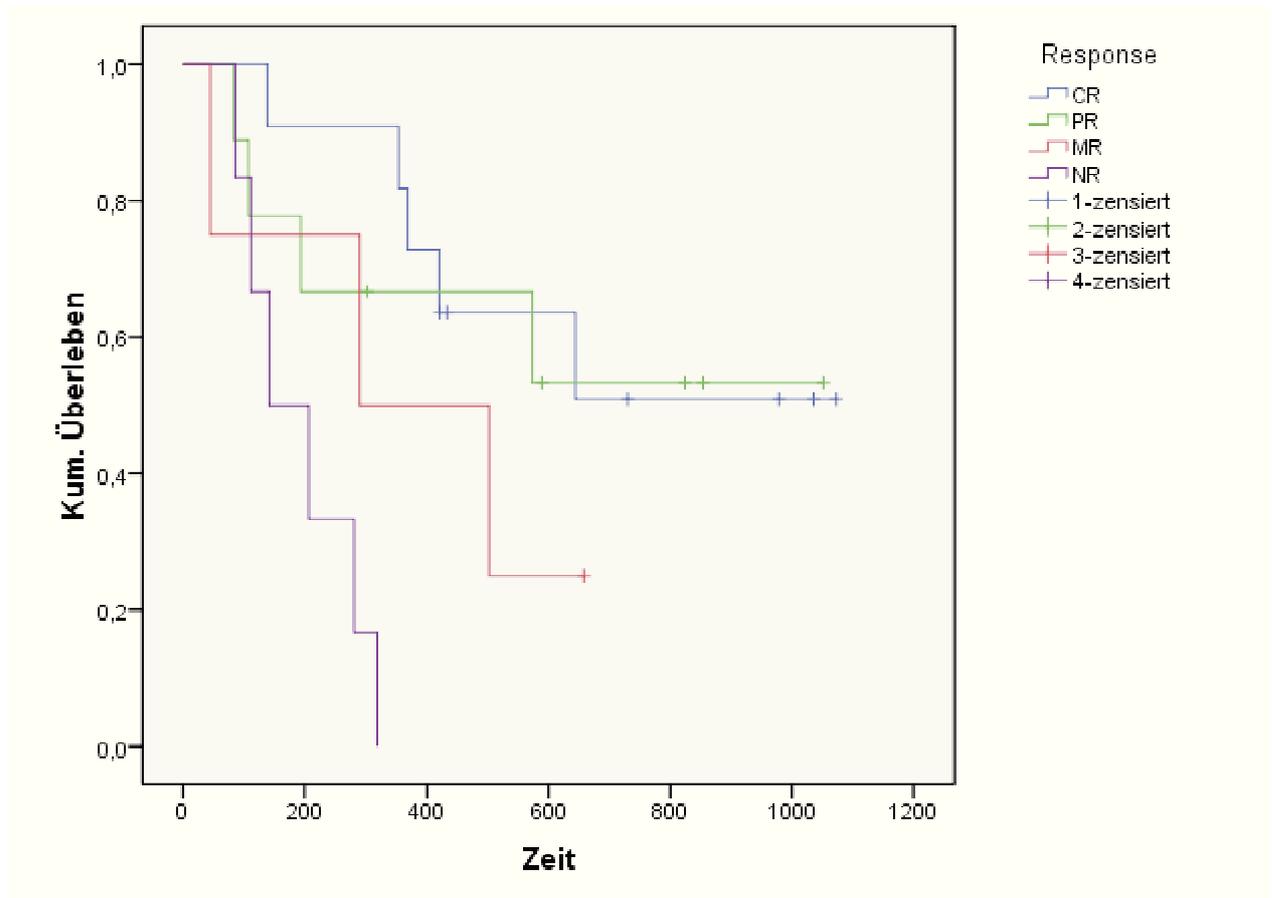
### 3.4.1.2 Überleben nach Ansprechen auf die ECP

Das Ansprechen wurde auch hier anhand der vorgegebenen und definierten Response-Kriterien (siehe 2.3.4) beurteilt. Es ergeben sich folgende Überlebensraten abhängig von den Responsegruppen:

<u>Responsegruppe</u>	<u>Patientenzahl</u>	<u>Überleben (%)</u>
CR	11	6 (54,5%)
PR	9	5 (55,5%)
MR	4	1 (25,0%)
NR	6	0 (0,0%)

**Tabelle 23:** Überleben abhängig vom Ansprechen der akuten GvHD

Erwartungsgemäß sind die Überlebensraten bei den Patienten, welche sehr gut oder gut angesprochen haben und gar keine Steroidtherapie oder maximal 10 mg Prednisolon täglich benötigten, deutlich höher als bei denen, welche ein geringes oder gar kein Ansprechen zeigten. Hier die Darstellung anhand einer Kaplan-Meier-Überlebenskurve:



**Abbildung 16:** Überleben abhängig vom Ansprechen der akuten GvHD, dargestellt in einer Kaplan-Meier-Überlebenskurve

Offensichtlich ist die Überlebenschance von PR Patienten nicht unterschiedlich von der von CR Patienten.

### 3.4.1.3 Überleben nach Spendertypen und Spendergeschlecht

Da die HLA-Identität des Spenders eine große Rolle bei der Entwicklung einer GvHD spielt und eine geringere Übereinstimmung der HLA-Merkmale mit einem höheren Risiko einer schweren GvHD einhergeht, wurde das Überleben der unterschiedlichen Spendertypen verglichen. Insgesamt zwei der 30 Patienten wurden von einem HLA-differenten (haploidentischen) Familienspender transplantiert. Aufgrund der sehr kleinen Patientengruppe wurden diese bei der Überlebensanalyse nach Spendertypen nicht berücksichtigt.

<u>Spendertyp</u>	<u>Patientenzahl</u>	<u>Gesamtüberleben (%)</u>
HLA-different unverwandt	10	4 (40,0%)
HLA-identisch unverwandt	10	3 (30,0%)
HLA-identisch verwandt	8	4 (50,0%)

**Tabelle 24:** Überleben der Patienten, abhängig vom Spendertyp (ohne haploidentische Spender, 2 Patienten)

Die in Tabelle 24 dargestellten Überlebensraten lassen vermuten, wenn auch an einer sehr kleinen Patientenpopulation, dass Patienten mit HLA-identischem Familienspender etwas besser auf die ECP angesprochen haben als Fremdspender-Transplantierte und einen Überlebensvorteil erreichten. Diese Unterschiede waren jedoch nicht statistisch signifikant bei einem p-Wert von 0,388 zwischen HLA-differenten unverwandten Spendern und HLA-identischen verwandten Spendern sowie einem p-Wert von 0,344 zwischen HLA-identischen verwandten und unverwandten Spendern.

Die Unterschiede in den einzelnen Spendergruppen beruhen nicht auf verschiedenen Schweregraden der GvHD, wie die GvHD-Ausprägung unter 3.1.1 aufführt.

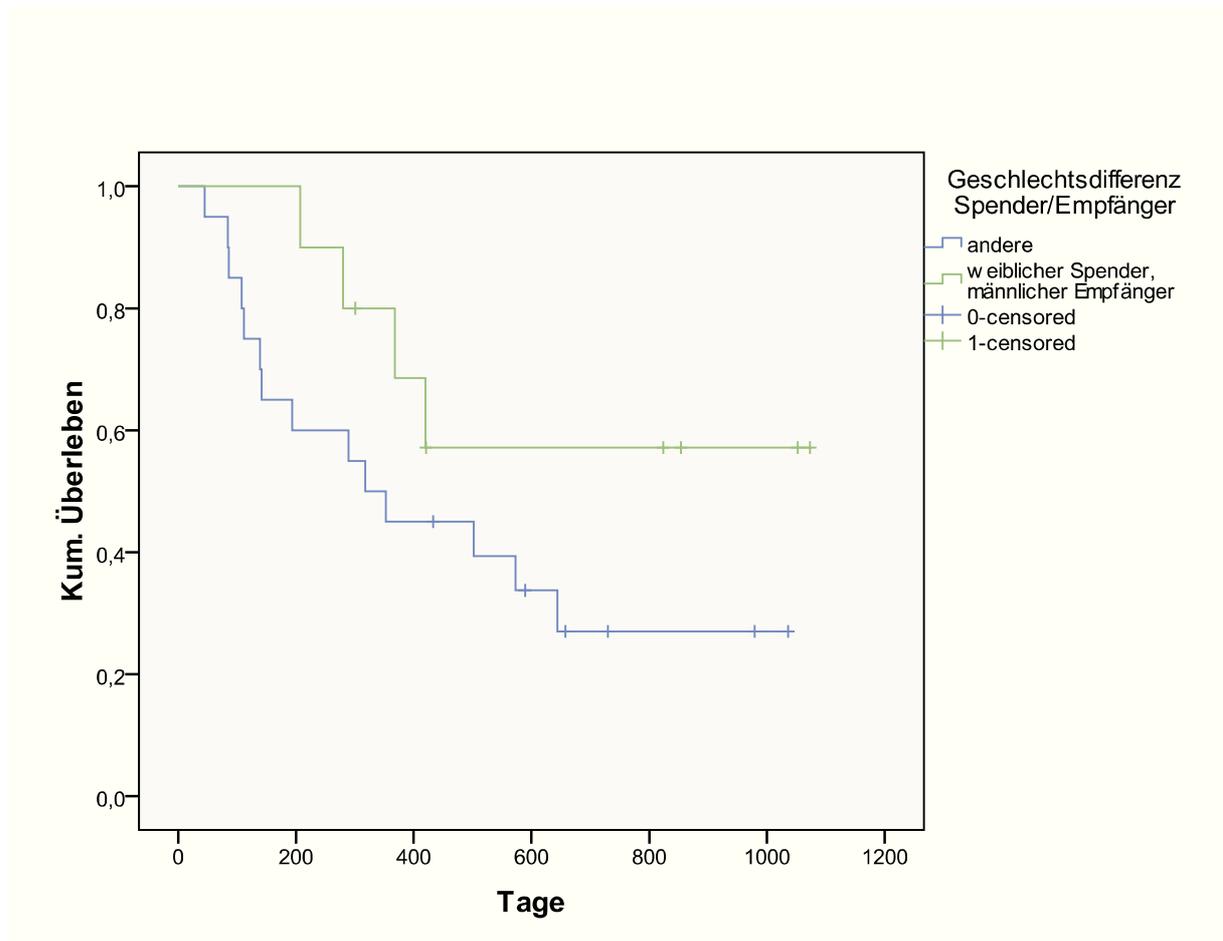
Von weiterem Interesse war neben der HLA-Identität der Spender das Spendergeschlecht. Da als Risikofaktor für das Auftreten einer GvHD insbesondere weibliche Spender für männliche Empfänger gelten, wurde diese Spender-Empfänger-Konstellation von den restlichen („andere“) unterschieden.

<u>Spender-Empfänger</u>	<u>Patientenzahl</u>	<u>Gesamtüberleben (%)</u>
weiblich in männlich	10	6 (60,0%)
andere	20	6 (30,0%)

**Tabelle 25:** Überleben der Patienten, abhängig von der Spender-Empfänger-Konstellation

Die männlichen Patienten, welche eine Stammzelltransplantat von einem weiblichen Spender erhalten haben, überlebten zu einem deutlich höheren Anteil, wobei auch hier bei geringer Fallzahl keine statistische Signifikanz zu verzeichnen war ( $p=0,133$ ). Die GvHD-Ausprägung in den beiden Subgruppen war geringfügig unterschiedlich mit etwas mehr Grad IV GvHD in der Gruppe mit weiblichen

Spendern und männlichen Empfängern. Das mediane Gesamtüberleben in dieser Gruppe lag bei 421 Tagen, in der Vergleichsgruppe bei 336 Tagen.



**Abbildung 17:** Überleben nach Geschlecht Spender-Empfänger

#### 3.4.1.4 Überleben nach Organverteilung

Unabhängig von der Schwere der einzelnen Organmanifestationen soll im Folgenden der Einfluss der von der GvHD befallenen Organe hinsichtlich des Überlebens dargestellt werden. Die Anzahl der Organmanifestationen wurde für die Auswertung in folgende zwei Gruppen unterteilt:

- 1 oder 2 Organe (Gruppe 1)
- 3 oder mehr Organe (Gruppe 2)

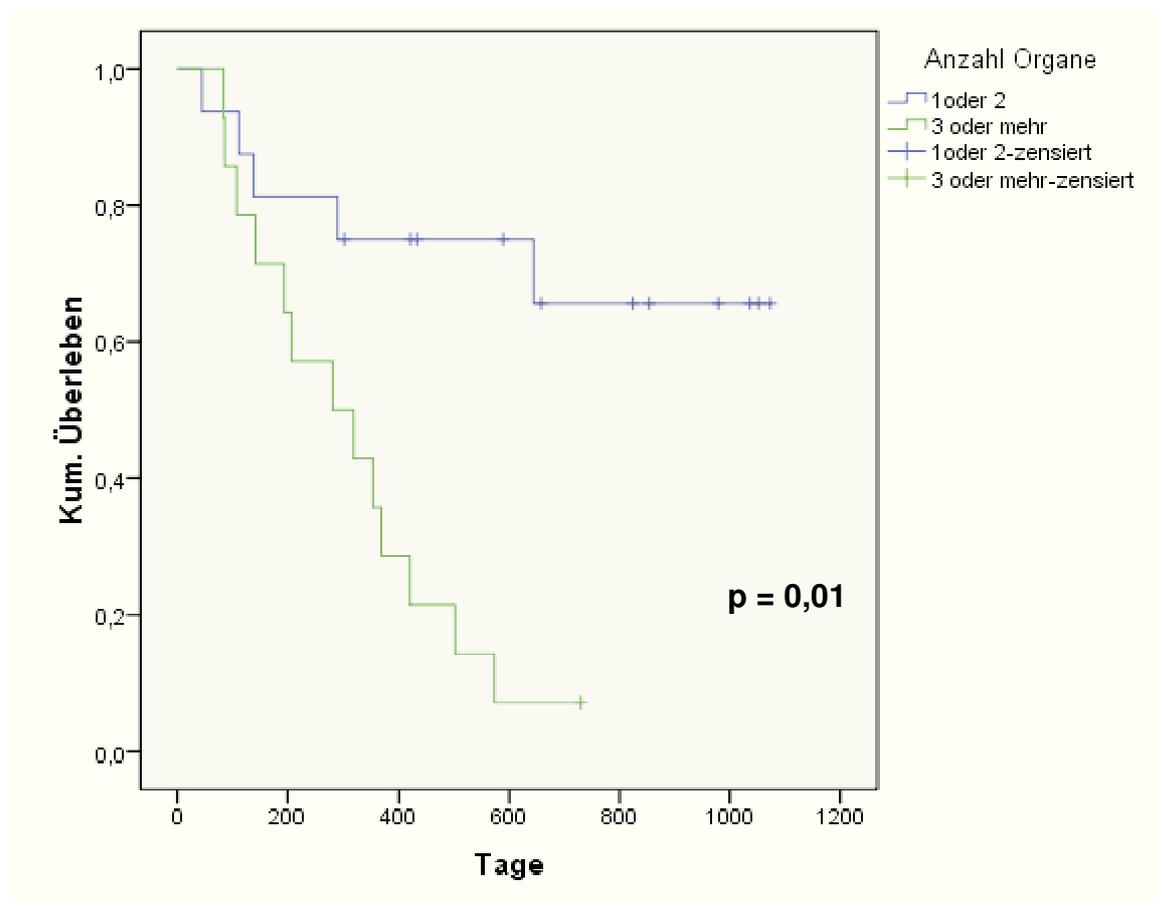
Bei fünf Patienten war zusätzlich zu Haut, Leber und Darm GvHD eine Mikroangiopathie nachweisbar, diese Patienten wurden der Gruppe „3 oder mehr Organe“ zugeteilt.

Es zeigt sich folgendes Gesamtüberleben, wobei die Prozentzahl sich auf die Anzahl der Patienten in der jeweiligen Subgruppe bezieht:

<u>Anzahl an betroffenen Organen</u>	<u>Patientenzahl</u>	<u>Überleben (%)</u>
1 oder 2	16	11 (68,8%)
3 oder ≥ 3	14	1 (7,1%)

**Tabelle 26:** Überleben abhängig von der Anzahl der betroffenen Organe

Die Patienten, welche nur einen Befall von ein oder zwei Organen hatten, wiesen ein deutlich besseres Überleben auf als die Patienten mit 3 oder mehr Organmanifestationen. Die folgende Abbildung stellt das Überleben anhand einer Kaplan-Meier-Überlebenskurve für die beiden Subgruppen dar.



**Abbildung 18:** Überleben abhängig von der Anzahl der betroffenen Organe, dargestellt in einer Kaplan-Meier-Überlebenskurve

Wie bereits aus Tabelle 26 ersichtlich, war für die Patienten mit ausgeprägtester GvHD, welche Haut, Leber und Darm betrifft, die Überlebenswahrscheinlichkeit deutlich geringer als für Patienten mit Befall von einem oder zwei Organen. Dieser Überlebensunterschied war statistisch signifikant ( $p=0,01$ ). Bei Gruppe 1 wurde der Median im Überleben zum Ende des Follow-Up-Zeitraumes noch nicht erreicht, bei Gruppe 2 lag das mediane OS bei 280 Tagen.

#### 3.4.1.5 Überleben in Abhängigkeit der immunsuppressiven Begleitmedikation

Wie unter 3.2.2 beschrieben erhielt ein Teil der Patienten zusätzlich zur ECP weitere Immunsuppressiva, dabei stellte Sirolimus eines der am häufigsten applizierten Medikamente dar.

<u>Sirolimus</u>	<u>Anzahl Patienten</u>	<u>Überleben (%)</u>
ja	13	6 (46,2%)
nein	17	6 (35,3%)

**Tabelle 27:** Überleben in Abhängigkeit einer zusätzlichen Sirolimus-Therapie

Patienten mit zusätzlicher Einnahme von Sirolimus in Kombination zur ECP zeigten ein etwas besseres Überleben als Patienten ohne Sirolimus. Der Unterschied war nicht statistisch signifikant ( $p=0,189$ ). Das mediane OS lag in der Sirolimus-Gruppe bei 589 Tagen gegenüber 301 Tagen in der Vergleichsgruppe. Der Schweregrad der GvHD war in den beiden genannten Patientengruppen annähernd gleich, so dass eine Vergleichbarkeit gegeben ist.

#### 3.4.1.6 Überleben in Abhängigkeit einer Mikroangiopathie

Alle Patienten (5 Patienten, 16,7% des Gesamtkollektivs), die eine Mikroangiopathie als Zeichen der GvHD aufwiesen, litten an einer schweren oder schwersten GvHD (Grad III und Grad IV). Um den Einfluss einer zusätzlichen Mikroangiopathie auf das

Überleben bei schwerer und schwerster GvHD zu evaluieren, wurden folgende Subgruppen gebildet:

- GvHD Grad III und IV ohne Mikroangiopathie (Gruppe A)
- GvHD Grad III und IV mit zusätzlicher Mikroangiopathie (Gruppe B)

In Gruppe A befanden sich insgesamt 17 Patienten, davon 10 (58,8%) mit GvHD Grad III und 7 (41,2%) mit GvHD Grad IV. In Gruppe B waren 3 Patienten (60,0%) mit GvHD Grad III und 2 Patienten (40,0%) mit GvHD Grad 4. Bezüglich des Gesamtüberlebens im Nachbeobachtungszeitraum zeigt sich folgende Verteilung, wobei sich der Überlebensanteil auf die jeweilige Subgruppe bezieht:

<u>Mikroangiopathie</u>	<u>Patientenzahl</u>	<u>Gesamtüberleben (%)</u>
nein (Gruppe A)	17	7 (41,2%)
ja (Gruppe B)	5	1 (20,0%)

**Tabelle 28:** Überleben abhängig vom zusätzlichen Auftreten einer Mikroangiopathie bei Patienten mit Grad III und Grad IV GvHD

Wenngleich die Patientenzahlen in den beiden Gruppen sich unterscheiden, so ist dennoch der prozentuale Anteil an Grad III und IV GvHD sehr ähnlich, so dass eine Vergleichbarkeit der beiden Gruppen gegeben ist. Die Mikroangiopathie hatte hier einen negativen Einfluss auf das Überleben.

Der Überlebensvorteil für Patienten mit Mikroangiopathie im Vergleich zu denen ohne Mikroangiopathie war statistisch nicht signifikant ( $p=0,34$ ). Betrachtet man jedoch das mediane Gesamtüberleben in den beiden Gruppen, so lag dieses bei den Patienten ohne Mikroangiopathie bei 573 Tagen im Vergleich zu 280 Tagen in der Gruppe B.

4 der 5 Mikroangiopathie-Patienten hatten zu keiner Zeit Sirolimus als Immunsuppression erhalten, so dass die Mikroangiopathie als Manifestation der GvHD und nicht als Nebenwirkung von Sirolimus einzustufen ist.

### 3.4.1.7 Überleben in Abhängigkeit vom Zeitpunkt des ECP-Therapiestarts

Ob ein früher Start der ECP bei Patienten mit steroidrefraktärer GvHD einen Vorteil bezüglich der Überlebenschancen eines Patienten mit sich bringt, ist bisher nicht abschließend geklärt. Um dies zu evaluieren, wurden zwei Vergleichspopulationen gebildet:

- Patienten, bei denen zwischen Auftreten der akuten GvHD und Start der ECP maximal 18 Tage lagen (Gruppe I)
- Patienten, bei denen zwischen Auftreten der GvHD und Start der ECP mehr als 18 Tage lagen (Gruppe II)

Die Grenze von 18 Tagen wurde gewählt, da im Median 18 Tage zwischen Beginn der ECP-Manifestationen und dem Start der ersten ECP-Sitzung lagen (siehe 3.2.1). Mit dieser Grenze ließen sich 16 Patienten der Gruppe I und 14 Patienten der Gruppe II zuteilen. Die beiden Gruppen waren bezüglich des Schweregrads der GvHD folgendermaßen charakterisiert:

<b>Gruppe</b>	<b>GvHD Grad II</b>	<b>GvHD Grad III</b>	<b>GvHD Grad IV</b>
I (16 Patienten)	3 (18,8%)	7 (43,7%)	6 (37,5%)
II (14 Patienten)	4 (28,6%)	6 (42,8%)	4 (28,6%)

**Tabelle 29:** Verteilung der GvHD-Ausprägungsgrade in den beiden Patientengruppen I und II (I: Start ECP maximal 18 Tage nach GvHD, II: Start ECP mehr als 18 Tage nach GvHD)

Gruppe I wies einen etwas höheren Anteil an GvHD Grad IV auf, ansonsten waren die beiden Gruppen ausgewogen verteilt. Die Überlebensanalyse erbrachte folgende Resultate:

Bei den Patienten, welche innerhalb der ersten 18 Tage nach Auftreten der GvHD einer ECP-Therapie zugeführt wurden, lag das Gesamtüberleben mit 5 von 16 Patienten (31,3%) niedriger als bei den Patienten mit verzögertem ECP-Start, bei denen 7 von 14 Patienten am Leben sind (50,0%). Ursächlich hierfür kann der etwas geringere Anteil an Grad IV GvHD in Gruppe II sein. Des Weiteren befanden sich in dieser einige Patienten, welche aufgrund eines primären Steroidresponse

vorerst keine zusätzliche GvHD Therapie benötigten und erst bei Wiederauftreten der GvHD eine Zweitlinientherapie mittels ECP erhielten. Das mediane OS lag in Gruppe I bei 318 Tagen und in Gruppe II bei 573 Tagen.

### 3.4.1.8 Überleben in Abhängigkeit vom Zeitpunkt des GvHD-Auftretens

Der Median des GvHD-Auftretens bei unserem Patientenkollektiv lag an Tag 20 nach SCT. Dieser Tag wurde daher als Grenze gewählt, um einen Überlebensunterschied von Patienten mit steroidrefraktärer GvHD unter ECP-Therapie abhängig vom Manifestationszeitpunkt zu erarbeiten. Es wurden 2 Gruppen definiert:

- Patienten mit Auftreten der GvHD bis Tag 20 (Gruppe a)
- Patienten mit Auftreten der GvHD nach Tag 20 (Gruppe b)

Gruppe a konnten 16 Patienten zugeordnet werden, Gruppe b 14 Patienten. Die beiden Gruppen wiesen folgende Verteilung bezüglich des Schweregrads der GvHD auf:

<u>Gruppe</u>	<u>GvHD Grad II</u>	<u>GvHD Grad III</u>	<u>GvHD Grad IV</u>
a (16 Patienten)	3 (18,8%)	8 (50,0%)	5 (31,2%)
b (14 Patienten)	4 (28,6%)	5 (35,7%)	5 (35,7%)

**Tabelle 30:** Verteilung der GvHD-Ausprägungsgrade in den beiden Patientengruppen a und b  
(a: Beginn GvHD bis Tag 20 nach SCT, b: Beginn GvHD mehr als 20 Tage nach SCT)

Gruppe a enthielt etwas mehr Patienten mit einer GvHD Grad III anstelle von Grad II. Der Patientenanteil mit schwerster GvHD (Grad IV) war in beiden Gruppen annähernd gleich. In Gruppe a lag das Gesamtüberleben im Nachbeobachtungszeitraum mit 5 Patienten (31,7%) niedriger als in Gruppe b (7 Patienten, 50,0%). Dieser Überlebensunterschied war statistisch nicht signifikant ( $p=0,253$ ). Als Ursache für den geringen Überlebensvorteil von Patienten mit späterer GvHD können zwei Sachverhalte vermutet werden: Zum einen lag der Anteil an Grad III GvHD in der Gruppe b etwas niedriger als in Gruppe a. Zum

anderen scheint eine später einsetzende GvHD in manchen Fällen einen weniger fulminanten Verlauf als bei einer früher beginnenden GvHD zu nehmen.

### 3.4.2 Transplantationsassoziierte Mortalität (TRM) an Tag 100 und Tag 365 nach Stammzelltransplantation

Die behandlungsrefraktäre akute GvHD ist neben infektiösen Komplikationen eine der häufigsten Todesursachen nach allogener Stammzelltransplantation. Ein wichtiger Maßstab zur Evaluation des Behandlungserfolgs bei der refraktären GvHD ist die sogenannte transplantationsassoziierte Mortalität (Transplant-Related Mortality, TRM) 100 Tage und 365 Tage nach SCT. Dazu zählen alle Todesursachen, die in Zusammenhang mit der Transplantation und der daraus folgenden Immunsuppression stehen. Rezidiv-bedingte Todesfälle werden separat aufgeführt und gehören nicht zur TRM.

Der erste Evaluationszeitpunkt der TRM wurde an Tag 100 nach SCT gesetzt. Zu diesem Zeitpunkt waren 2 der 30 Patienten (6,7%) an Folgen der Transplantation verstorben. Eine weitere Patientin aus dem Kollektiv verstarb an Tag 84 nach SCT an einem Rezidiv ihrer Grunderkrankung (B-NHL). Die initial refraktäre GvHD war bei dieser Patientin erfolgreich behandelt worden.

	<b>TRM Tag 100</b>				<b>TRM Tag 365</b>			
	<b>Gesamt: 2 Patienten (6,7%)</b>				<b>Gesamt: 12 Patienten (40,0%)</b>			
Grad GvHD	II°	III°	IV°		II°	III°	IV°	
	0	0	2		2	3	7	
Response	CR	PR	MR	NR	CR	PR	MR	NR
	0	0	1	1	2	2	2	6
Todesursachen	GvHD		Infektion		GvHD	Infektion	unbekannt	
	1		1		5	6	1	

**Tabelle 31:** TRM an Tag 100 und 365 nach SCT nach Schweregrad der GvHD und Ansprechen, Todesursachen

Aufgrund der Schwere der GvHD erscheint eine TRM von 6,7% an Tag 100 nicht sehr hoch, wenngleich die GvHD oft eine lange Behandlung nach sich zieht, bis sie letztendlich ursächlich für das Versterben der Patienten ist.

Um den längerfristigen Verlauf genauer beurteilen zu können, wurde als zweiter Evaluationszeitpunkt ein Jahr nach SCT gewählt (TRM Tag 365). Insgesamt 12 der 30 Patienten (40,0%) waren nach einem Jahr an transplantationsassoziierten Ursachen verstorben.

Für Patienten mit steroidrefraktärer GvHD Grad II und Grad III zeigte sich unter ECP-Therapie eine annähernd gleiche TRM nach einem Jahr, während die Patienten mit schwerster GvHD (Grad IV) im Vergleich dazu eine deutlich höhere Mortalität hatten. Eine Grad III GvHD scheint kein höheres Risiko für eine TRM mit sich zu bringen als eine GvHD Grad II.

Bezüglich der verschiedenen Responsegruppen lässt sich für die Patienten ein deutlicher Vorteil erkennen, welche auf die ECP-Therapie angesprochen haben mit annähernd gleicher TRM in der CR- und PR-Gruppe. Ein Erfolg der ECP-Therapie führt zu einem verbesserten Überleben und einer niedrigeren TRM ein Jahr nach SCT. Einschränkend muss an dieser Stelle festgehalten werden, dass manche der ECP-Patienten erst relativ spät nach vorübergehendem Ansprechen auf die Steroidtherapie eine schwere GvHD entwickelt haben, was durchaus Einfluss auf die TRM an Tag 365 haben könnte. Ursächlich für das Versterben waren in gleichem Maße die refraktäre GvHD und Infektionen.

### 3.4.3 Todesursachen

Insgesamt 18 Patienten (60,0%) verstarben während des gesamten Follow-up Zeitraumes, das bedeutet, 6 Patienten verstarben später als an Tag 365 nach SCT. Auch bei diesen 6 Patienten spielten Infektionen und die Refraktärität der GvHD die entscheidende Rolle. Oft waren die Todesursachen eine Kombination mehrerer Morbiditäten. Tabelle 32 gibt einen Überblick über den Grad der GvHD, das Ansprechen auf die ECP-Therapie und das Überleben der Patienten sowie die Ursachen im Falle des Todes.

<u>Nr.</u>	<u>Grad</u> <u>akute</u> <u>GvHD</u>	<u>Anspre-</u> <u>chen</u>	<u>zusätzliche</u> <u>Immunsuppression</u>	<u>Tag</u> <u>100</u> <u>lebt:0</u> <u>tot:1</u>	<u>Tag 365</u> <u>lebt:0</u> <u>tot:1</u>	<u>Tag 365</u> <u>Patient</u> <u>unter IS</u> <u>nein:0</u> <u>ja:1</u>	<u>chronische</u> <u>GvHD</u>	<u>Überleben</u> <u>d nach</u> <u>SCT</u>	<u>Patient</u> <u>lebt:0</u> <u>tot:1</u>	<u>Todesursache</u>
1	3	CR	Sirolimus	0	0	0	2	979	0	
2	3	CR	Enbrel, Sirolimus, Entocort, Tacrolimus	0	0	0	2	644	1	cGvHD, Infektionen
3	3	CR	Sirolimus	0	0	1	1	1036	0	
4	3	PR	Tacrolimus, Cellcept, Sirolimus	0	0	1	2	589	0	
5	2	PR		0	0	1	1	301	0	
6	2	MR		0	1	1	2	289	1	unbekannt
7	3	NR	Zenapax, MTX, Tacrolimus	0	1	1	2	318	1	cGvHD, Infektionen
8	2	CR	MTX	0	0	0	0	368	1	Sepsis im Rezidiv
9	4	MR	MTX, Zenapax, Sirolimus, Tacrolimus, Cellcept	0	0	1	2	502	1	Sepsis
10	2	CR		0	0	0	0	433	0	
11	4	CR	Sirolimus, Tacrolimus, Pentaglobin	0	0	0	2	420	1	Sepsis, Pneumonie
12	2	CR		0	1	1	0	139	1	Sepsis, Pneumonie
13	3	PR	Zenapax, Cellcept	0	1	1	1	194	1	Sepsis
14	4	NR	MTX, Entocort, Sulfasalazin, OKT, Enbrel, Sirolimus, Zenapax, Tacrolimus	0	1	1	0	112	1	refraktäre GvHD, Sepsis
15	3	CR	Zenapax, Sirolimus	0	0	0	0	1073	0	
16	3	PR	OKT, Entocort, Sirolimus, Zenapax, Rituximab, Tacrolimus	0	0	1	2	573	1	cGvHD
17	2	PR		0	0	1	2	854	0	
18	2	MR	MTX, Sirolimus, Tacrolimus	0	0	1	1	658	0	
19	4	NR	Enbrel, Entocort, Sirolimus, Tacrolimus, Rituximab, OKT, Zenapax, Pentaglobin, MSC, MTX	0	1	1	0	280	1	refraktäre aGvHD, Sepsis
20	4	NR	Sirolimus, Enbrel, Entocort, Zenapax, Pentostatin, Pentaglobin, Tacrolimus	0	1	1	0	142	1	refraktäre aGvHD, Sepsis
21	3	PR	MTX, Entocort	1	1	1	0	84	1	Rezidiv mit respiratorischer Insuffizienz
22	4	NR	OKT, MTX, Zenapax	1	1	1	0	86	1	refraktäre GvHD, Sepsis
23	3	PR		0	0	1	2	1052	0	
24	4	NR	Sirolimus, Tacrolimus, Enbrel	0	1	1	0	207	1	refraktäre GvHD, Sepsis
25	4	MR	OKT, MTX	1	1	1	0	45	1	Sepsis, bei EBV-PTLD
26	4	CR	OKT, MTX, Zenapax	0	0	0	1	421	0	
27	3	PR	Sirolimus	0	1	1	0	108	1	Sepsis
28	3	CR		0	0	1	1	730	0	
29	4	CR		0	1	1	2	353	1	cGvHD, Infektionen
30	3	PR	Zenapax, Enbrel, Sirolimus	0	0	1	2	824	0	

**Tabelle 32 :** Übersicht aller Patienten bezüglich Überleben und Todesursachen (*Tag 365* jeweils bezogen auf Tage nach SCT; *d* Tage; *PTLD* Posttransplantationslymphom)

### 3.5 Begleitende Virusinfektionen und -reaktivierungen

Eine der wichtigsten klinischen Differentialdiagnosen neben der GvHD stellen immer Virusinfektionen oder Virusreaktivierungen dar. Aus diesem Grund wurden sowohl bei makulopapulösen Exanthenen, die dem klinischen Bild einer GvHD entsprechen, als auch bei GvHD-typischen Diarrhoen und in manchen Fällen auch bei persistierender Leberwerterhöhung zum Ausschluss einer viralen Genese Biopsien für die virologische Diagnostik entnommen. Zusätzlich wurden einmal pro Woche im EDTA Blut als Surveillance die Patienten einem viralen Screening unterzogen. Im Falle eines signifikanten Virusnachweises wurde parallel zur immunsuppressiven Therapie eine virostatistische Therapie eingeleitet.

#### 3.5.1 Virusnachweis in der Hautbiopsie

Alle 30 Patienten zeigten einen Hautbefall der akuten GvHD und jeder dieser Patienten wurde vor Start der Steroidtherapie diagnostisch einer Hautbiopsie zugeführt. Bei dieser Biopsie wurde neben der histologischen Aufarbeitung ebenso die Virusanalyse mittels PCR angewandt, da differentiell diagnostisch gerade bei der Haut-GvHD ein Befall durch Parvo B19 oder HHV6 im Raum steht. Folgende Viren wurden routinemäßig bei vorliegender Hautbiopsie untersucht:

- HSV
- CMV
- EBV
- HHV6
- Parvo B19

Bei 17 Patienten (56,7%) konnten in den Hautbiopsien keinerlei Virus-DNA bzw. -RNA nachgewiesen werden. Bei den restlichen 13 Patienten ergaben sich folgende Häufigkeiten:

- HHV6: 6

- Parvo B19: 6
- EBV: 4
- HSV: 1
- Adenovirus: 1

Wie die Aufzählung erkennen lässt, wiesen einige Patienten gleichzeitig mehrere verschiedene Viren in den Biopsien auf. Die folgende Tabelle beschreibt die Häufigkeit, mit der ein oder mehrere Viren bei den 13 Patienten gefunden wurden:

<u>Anzahl Viren in der Hautbiopsie</u>	<u>Patientenzahl (%)</u>
1	9 von 13 (69,2%)
2	3 von 13 (23,1%)
≥ 3	1 von 13 (7,7%)

**Tabelle 33:** Häufigkeit der Anzahl der in der Hautbiopsie nachgewiesenen Viren

Welche Rolle diese Viren als Trigger für die Haut GvHD spielen oder, ob sie ein zusätzliches Phänomen neben der kutanen GvHD sind, ist nicht mit Sicherheit zu beantworten. Die nachgewiesenen Virusmengen waren allesamt im sehr geringen bis geringen Bereich (maximaler Wert: 11 000 Genomäquivalente (Geq) bei Parvo B19).

### 3.5.2 Virusnachweis im Gastrointestinaltrakt

Bei Auftreten von Diarrhoen wurden alle Patienten zum einen im Stuhl auf eine virale Genese untersucht. Zum anderen wurde bei Verdacht auf eine Darm GvHD eine Koloskopie durchgeführt, bei der zum einen Biopsien für eine histologische Diagnostik und zum anderen für eine Virusanalyse entnommen wurden. Im Stuhl und in der Darmbiopsie wurden normalerweise folgende Viren untersucht:

- HSV
- EBV
- CMV

- HHV6
- Norovirus
- Rotavirus
- Adenovirus

Die Biopsiestelle hing von der makroskopischen Beschaffenheit der Darmschleimhaut ab und lag in vielen Fällen im terminalen Ileum bzw. Kolon. Bei zusätzlicher Symptomatik wie Inappetenz, Erbrechen und persistierende Übelkeit wurde ebenso eine Gastroskopie durchgeführt mit Entnahme von Biopsien. Der Übersichtlichkeit halber und, da die Biopsie die exaktere Methode des Nachweises im Vergleich zur Stuhl Diagnostik darstellt, sind im Folgenden die in der Biopsie mittels PCR gefundenen Viren aufgelistet:

- HHV6: 13
- EBV: 9
- Parvo B19: 5
- CMV: 5
- HSV : 2
- Adenovirus: 1

Bei 8 Patienten wurde aufgrund fehlender Darm GvHD (7 Patienten) oder sehr milder Erscheinungen (1 Patient) keine Koloskopie mit Biopsie durchgeführt. Von den 22 biopsierten Patienten zeigten 5 Patienten (22,7%) einen negativen Befund in der Virusdiagnostik. Die restlichen 17 Patienten hatten, wie auch bei der Haut, oft mehrere Viren gleichzeitig nachweisbar. Tabelle 34 gibt eine Übersicht über die Häufigkeit der Anzahl gleichzeitig diagnostizierter Viren:

<u>Anzahl Viren in der Darmbiopsie</u>	<u>Patientenzahl (%)</u>
1	6 von 17 (35,3%)
2	7 von 17 (41,2%)
≥ 3	4 von 17 (23,5%)

**Tabelle 34:** Häufigkeit der Anzahl der in der Darmbiopsie nachgewiesenen Viren

Die Mehrzahl der biopsierten Patienten hatte somit maximal 2 verschiedene Viren in der Darmschleimhaut nachweisbar. Auch hier gilt, ähnlich wie bei der Haut, dass die Viren zum einen die GvHD fördern können, zum anderen jedoch unklar ist, inwieweit diese die Schwere der GvHD bedingen.

### 3.5.3 Virusnachweis im Blut

Die Routinediagnostik zur frühzeitigen Erkennung einer Virusreaktivierung im Blut wird normalerweise einmal wöchentlich durchgeführt. Bei höherem Risiko unter Steroidtherapie wird diese Diagnostik bezüglich CMV auf zweimal wöchentlich erhöht. Folgende Viren wurden im Blut untersucht:

- CMV
- EBV
- HHV6

Unter den 30 Patienten blieben 20 Patienten (66,7%) während des gesamten stationären Aufenthaltes komplett ohne Virusnachweis im peripheren Blut. Bei den übrigen 10 Patienten waren folgende Viren nachzuweisen:

- EBV: 5
- CMV: 4
- HHV6: 4
- Adenovirus: 1

Adenovirus gehörte nicht zu einer Routinebestimmung, sondern wurde bei positivem Nachweis in der Darmbiopsie und im Stuhl im Blut nachbestimmt. Auch die Messungen im peripheren Blut brachten bei manchen Patienten gleichzeitig mehrere verschiedene Viren zum Vorschein:

<u>Anzahl Viren im peripheren Blut</u>	<u>Patientenzahl (%)</u>
1	5 von 10 (50,0%)
2	5 von 10 (50,0%)
≥ 3	0 von 10 (0,0%)

**Tabelle 35:** Häufigkeit der Anzahl der im peripheren Blut nachgewiesenen Viren

#### 3.5.4 Virusnachweis in anderen Organen

Von besonderem Belang bei den „anderen Organen“ dürfte vor allem die Leber sein. Es wurde bei insgesamt 3 Patienten eine Leberbiopsie durchgeführt. Von diesen lag in zweien kein Virus vor, beim dritten Patienten zeigten sich geringe Mengen EBV (200 Genomäquivalente). Andere Organe, jedoch eher nicht mit relevantem Virusnachweis, waren bei 2 Patienten das Knochenmark mit geringen Mengen HSV bzw. EBV und die Speicheldrüse mit Nachweis von EBV bei einem Patienten.

#### 3.6 Chronische GvHD nach ECP

Die chronische GvHD stellt für viele Patienten, welche die SCT überleben und rezidivfrei bleiben, eine langfristige Beeinträchtigung der Lebensqualität dar und kann, genauso wie die akute GvHD, lebensbedrohlich sein.

##### 3.6.1 Inzidenz der chronischen GvHD nach ECP-Therapie

Die 12 Patienten, welche zum Ende des Nachbeobachtungszeitraumes am Leben waren, wurden hinsichtlich des Vorhandenseins und der Schwere einer chronischen GvHD untersucht. Insgesamt 10 der 12 Patienten (83,3%) entwickelten im Verlauf eine chronische GvHD, davon 6 Patienten eine leichte Form (Grad 1) und 4 Patienten eine schwere Form (Grad 2). Der Gradeinteilung wurde die ältere Klassifikation der chronischen GvHD mit insgesamt drei Schweregraden zugrunde gelegt (siehe 1.1.5.1).

<u>Grad der c GvHD</u>	<u>Patientenzahl (%)</u>
0	2 von 12 (16,6%)
1	5 von 12 (41,7%)
2	5 von 12 (41,7%)

**Tabelle 36:** Häufigkeit der chronischen GvHD bei den 12 lebenden Patienten

Von den Patienten, die überlebt haben, entwickelten nahezu alle Patienten eine chronische GvHD, wenn auch nicht alle eine schwere Form. Die Patienten mit ausgedehnter chronischer GvHD hatten fast alle initial eine akute GvHD mit Schweregrad III oder IV.

### 3.6.2 Applikationsraten einer erneuten ECP bei chronischer GvHD

Als Therapie der chronischen GvHD hat sich die ECP in den letzten Jahren zunehmend etabliert. Daher liegt es nahe, dass ein Teil der Patienten, die eine chronische GvHD nach Überstehen der akuten GvHD zeigen, erneut mittels ECP behandelt wurden und immer noch werden. In unserer Analyse wurden im Nachbeobachtungszeitraum insgesamt 5 Patienten (41,7%) erneut einer ECP als Therapie der chronischen GvHD zugeführt.

## 3.7 Charakterisierung der CR- und PR-Patienten

Um herauszufinden, welche Patienten den größten Profit aus der ECP-Therapie ziehen können, wurden die insgesamt 20 Patienten, die eine komplette und partielle Remission erreicht haben, genauer evaluiert.

### 3.7.1 Transplantationsspezifische Eigenschaften

Die 20 Patienten wiesen folgende Spendereigenschaften, Altersverteilung und Grunderkrankungen auf:

## 20 Patienten der CR- und PR-Gruppe

• <b>Alter</b>		
	Median	51 Jahre
	range	[21-68 Jahre]
• <b>Geschlecht</b>		
	männlich	14
	weiblich	6
• <b>Grunderkrankung</b>		
	ALL	1
	AML	11
	MDS	1
	CLL	2
	Multiples Myelom	2
	B-NHL	3
• <b>Spendertyp</b>		
	HLA-identisch verwandt	5
	HLA-identisch unverwandt	6
	HLA-different verwandt	2
	HLA-different unverwandt	7
• <b>Stammzellquelle</b>		
	periphere Blutstammzellen	16
	Knochenmark	1
	Nabelschnurblut	1
	KM und CD6-depletierte PBSC	2
• <b>Geschlechtsdifferenz Spender-Empfänger</b>		
	männlich in männlich	6
	männlich in weiblich	6
	weiblich in weiblich	1
	weiblich in männlich	6
	double cord blood	1
	(weiblich/männlich) in weiblich	
• <b>Prophylaktische Immunsuppression</b>		
	CyA, MMF	15
	CyA, MTX	3
	Tacrolimus, Sirolimus	1
	Rapamune, MMF	1
• <b>Konditionierungstherapie</b>		
	4 Gy TBI / ATG / Endoxan	8
	Busulfan / ATG / Endoxan	4
	12 Gy TBI / ATG / Endoxan	3
	Mel / Flu / ATG / ATG / Endoxan	2
	Zev / Flu / ATG / Endoxan	2
	Rituximab / Flu / Endoxan	1

Setzt man diese Charakteristika zu denen der Gesamtpopulation in Relation, so lassen sich weder bezüglich Alters- und Geschlechtsverteilung noch bezüglich der Grunderkrankung eindeutige Unterschiede feststellen. Was den Spendertyp betrifft, so waren in der CR- und PR-Gruppe die vier verschiedenen Spendertypen ähnlich

wie in der Gesamtpopulation verteilt. Der Anteil an peripheren Blutstammzellen war in der CR- und PR-Gruppe etwas niedriger als in der Gesamtgruppe der Patienten (80,0% versus 86,7%), da sowohl der Patient mit Knochenmark als Stammzellquelle als auch die beiden haploidentischen Transplantationspatienten und die Patientin, welche Nabelschnurblut erhalten hat, sich in der CR-Gruppe befanden. Diese Tatsache bringt es außerdem mit sich, dass der Anteil an CyA und MMF als prophylaktische Immunsuppression in der CR- und PR-Gruppe niedriger lag, verglichen mit dem Gesamtkollektiv. Bezüglich der Konditionierungstherapie erreichten alle Patienten, die mit 12 Gy TBI konditioniert wurden eine CR oder PR. Aufgrund der insgesamt wenigen Patienten, die mit dieser Strategie behandelt wurden, lassen sich jedoch keine weiteren eindeutigen Schlüsse ziehen.

### 3.7.2 Schwere und Verteilung der GvHD

Folgende Tabelle gibt einen Überblick über die Schweregrad-Verteilung der akuten GvHD für Patienten mit CR und PR.

<b><u>Grad aGvHD</u></b>	<b><u>CR</u></b>	<b><u>PR</u></b>
II	3	2
III	5	7
IV	3	0
<b>Gesamt:</b>	11	9

**Tabelle 37:** Schwere der GvHD in der CR- und PR-Gruppe

Verglichen mit dem Gesamtkollektiv war erwartungsgemäß der Anteil an Grad II und Grad III GvHD (85% versus 66,7%) bei den CR- und PR-Patienten höher und der Anteil an Grad IV GvHD niedriger. Wie bereits durch den Schweregrad der GvHD zum Ausdruck gebracht wird, konnten selbst bei Beteiligung mehrerer Organe die Kortikosteroide bei manchen Patienten im Verlauf der ECP-Behandlung abgesetzt werden. Hier die Organverteilung der 20 CR- und PR-Patienten:

<u>Anzahl an betroffenen Organen</u>	<u>Patientenzahl (%)</u>
1 Organ	3 (15,0%)
2 Organe	9 (45,0%)
3 Organe	8 (40,0%)
> 3 Organe	0 (0,0%)

**Tabelle 38:** Anzahl der von der GvHD betroffenen Organe bei den 20 CR- und PR-Patienten

Nur zwei Patienten in dieser Gruppe litten an einer Mikroangiopathie, während nahezu alle Patienten zusätzlich zu der Hautbeteiligung entweder eine Darm-GvHD (13 Patienten, 65,0%) oder eine Leber-GvHD (3 Patienten, 15,0%) oder beides (5 Patienten, 25,0%) hatten. Das Ausmaß der Organmanifestation hatte hier anscheinend keinen Einfluss auf das Ansprechen der GvHD auf die ECP-Therapie. Lediglich bei der Mikroangiopathie lässt sich Folgendes feststellen: von den insgesamt fünf Patienten mit Mikroangiopathie befanden sich 3 in der Gruppe der MR- und NR-Patienten (10 Patienten) und 2 unter den 20 CR- und PR-Patienten. Das Auftreten einer Mikroangiopathie lässt sich daher gegebenenfalls mit einem schlechteren Therapieansprechen verknüpfen.

In der CR-Gruppe trat die GvHD im Median an Tag 20 (range 9-44) nach Transplantation auf, identisch mit einem medianen Auftreten an Tag 20 in der Gesamtpopulation. Auch hier lässt sich somit kein Unterschied zwischen den CR- und PR-Patienten und den restlichen Patienten feststellen. Die ECP wurde in der CR- und PR-Gruppe im Median an Tag 41 nach Transplantation begonnen, in der Gesamtgruppe der Patienten an Tag 43.

An diesen Parametern, kann daher keine eindeutige Aussage darüber getroffen werden, warum die CR- und PR-Patienten im Vergleich zur den restlichen Patienten sehr gut und gut angesprochen haben.

### 3.7.3 Überleben und Todesursachen

In der Gruppe der CR-Patienten sind aktuell noch 6 Patienten am Leben (54,5%), in der Gruppe der PR-Patienten 5 (55,6%). Die Todesursachen waren überwiegend Infektionen. Fasst man die CR-und PR-Patienten zusammen, so leben aktuell noch 11 von 20 Patienten (55,0% versus 40% in der Gesamtpopulation).

### 3.7.4 CR/PR-beeinflussende Faktoren

Die CR/PR-Gruppe (20 Patienten) wurde der MR/NR-Gruppe hinsichtlich unterschiedlichster Faktoren, die gegebenenfalls einen Einfluss auf das Erreichen einer CR oder PR haben könnten, in einer univariaten Analyse gegenübergestellt. Die statistischen Berechnungen erfolgten mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests, die Signifikanz wurde zweiseitig durch den Exakten Test nach Fisher beziehungsweise durch den Chi-Quadrat-Test nach Pearson bestimmt. Dies führte zu folgendem Ergebnis:

Altersgruppe	CR/PR	MR/NR	Gesamt	p-Wert
20-35 Jahre	6	1	7	0,193
26-50 Jahre	4	5	9	
51-75 Jahre	10	4	14	
Gesamt	20	10	30	

Diagnose	CR/PR	MR/NR	Gesamt	p-Wert
AML, ALL, MDS, OMF	13	9	22	0,210
B-NHL, CLL, MMY	7	1	8	
Gesamt	20	10	30	

Geschlechtsdifferenz	CR/PR	MR/NR	Gesamt	p-Wert
weiblich in männlich	8	2	10	0,324
weiblich in weiblich	1	0	1	
männlich in weiblich	4	1	5	
männlich in männlich	6	7	13	
Gesamt	19	10	29	

Grad akute GvHD	CR/PR	MR/NR	Gesamt	p-Wert
II	5	2	7	0,007
III	12	1	13	
IV	3	7	10	
Gesamt	20	10	30	

Spender	CR/PR	MR/NR	Gesamt	p-Wert
HLA-id., verwandt	5	3	8	0,726
HLA-dif., verwandt	2	0	2	
HLA-id., unverwandt	6	4	10	
HLA-dif., unverwandt	7	3	10	
Gesamt	20	10	30	

**Tabelle 39:** Das Ansprechen beeinflussende Faktoren (univariate Analyse)

Für das Erreichen einer CR/PR war lediglich der Grad der GvHD hochsignifikant, die Geschlechtsdifferenz zwischen Spender und Empfänger hatte keinen signifikanten Einfluss auf das Ansprechen. Weitere Faktoren, welche hier nicht detailliert aufgeführt sind, aber ebenfalls statistisch berechnet wurden, waren: Stadium der Grunderkrankung ( $p=0,372$ ), Konditionierung ( $p=0,538$ ) sowie der Zeitpunkt des GvHD-Auftretens ( $p=1,000$ ) und des ECP-Beginns ( $p=0,709$ ).

### 3.7.5 CR-begünstigende Faktoren

Mit Hilfe des Kaplan-Meier-Verfahrens wurden Faktoren untersucht, die den Zeitpunkt der CR und die Wahrscheinlichkeit einer CR begünstigen. Hierbei wurde anstelle des Überlebens als Endpunkt die CR und anstelle der Überlebenszeit die Zeit bis zum Erreichen einer CR gesetzt. Das Signifikanzniveau wurde mit dem Logrank-Verfahren berechnet. Untersucht wurden folgende Faktoren:

Alter, Grunderkrankung, Spender-Empfänger-Konstellation bezüglich Geschlecht und HLA-Matching, Stadium der Grunderkrankung, Konditionierungsregime, Grad und Zeitpunkt der GvHD sowie Zeitpunkt des ECP-Beginns nach GvHD-Manifestation. Als signifikant vorteilhaft für das schnelle Erreichen der CR erwies sich lediglich ein jüngeres Alter der Patienten zwischen 20 und 35 Jahren.

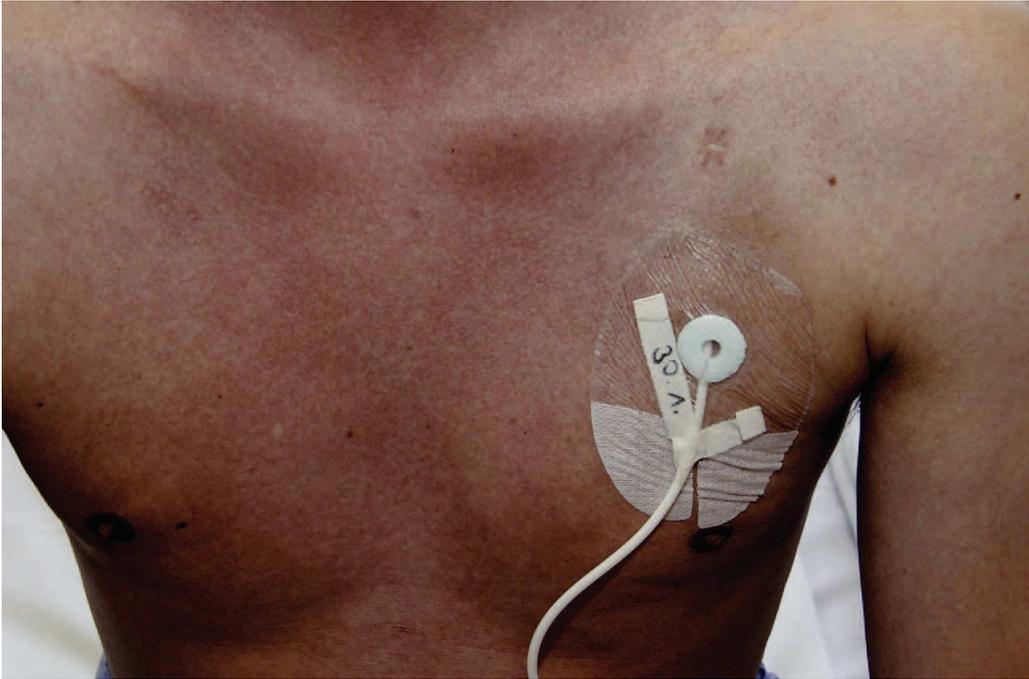
Altersgruppe	CR	PR/MR/NR	Gesamt	p-Wert
20-35 Jahre	5	2	7	0,04
26-50 Jahre	2	7	9	
51-75 Jahre	4	10	14	
Gesamt	11	19	30	

**Tabelle 40:** Anteil der CR-Patienten nach Altersgruppen

### 3.8 Photographische Darstellung des Ansprechens

Das Ansprechen der GvHD auf die ECP-Behandlung lässt sich abgesehen von der objektiv fassbaren Steroiddosis auch klinisch sehr gut an den Hautmanifestationen festmachen. Die folgenden Abbildungen zeigen zwei Patienten, jeweils vor und nach Beendigung der ECP. Beide Patienten litten an einer steroidrefraktären GvHD mit einer deutlichen Hautmanifestation (Patient 1: Haut Stadium 3, Patient 2: Haut Stadium 4). Die Aufnahmen wurden vor Beginn der ersten ECP-Sitzung aufgenommen und nach Ende des letzten Behandlungstages.

Abbildung 19 stellt Patient 1 dar, Abbildung 20 Patient 2.



**Abbildung 19:** Haut GvHD vor Start der ECP-Therapie (Bild oben),  
Haut GvHD nach 6 Wochen (12 Sitzungen) ECP (Bild unten)



**Abbildung 20:** Haut GvHD vor Start der ECP-Therapie (Bild oben),  
Haut GvHD nach 4 Wochen (8 Sitzungen) ECP (Bild unten)

### 3.9 Gesamtübersicht in tabellarischer Form

Nr.	Alter	Diagnose	Geschlecht Empfänger	Stadium	Spender	HLA	Geschlecht Spender	SSC	Konditionierung	IS	Zeitpunkt sGvHD (d nach SCT)	Start ECP (d nach SCT)	PR (d nach ECP)	CR (d nach ECP)	Ansprechrate	Grad aGvHD	zusätzliche Immunsuppression	sGvHD	Überleben (d nach SCT)	Leb/ Todesursache
1	53	AML	f	refraktär	sib	df	m	mp	4Gy-ATG-Cy	CSA-MTX	17	18	113	224	CR	3	Sirolimus	2	979	lebt
2	48	MMY	m	PR	unr	id	m	pb	Mel-Flu-ATG-Cy	CSA-MMF	27	37	66	81	CR	3	Enbrel, Sirolimus, Entocort, Tacrolimus	2	644	cGvHD, Infektionen
3	50	MMY	f	PR	unr	df	m	pb	Mel-Flu-ATG-Cy	CSA-MMF	20	122	56	283	CR	3	Sirolimus	1	1036	lebt
4	41	AML	m	refraktär	unr	id	m	pb	4Gy-ATG-Cy	CSA-MMF	12	114	60	nr	PR	3	Tacrolimus, Celcept, Sirolimus	2	589	lebt
5	57	CLL	m	refraktär	unr	id	f	pb	12Gy-ATG-Cy	CSA-MMF	25	37	69	nr	PR	2		1	301	lebt
6	37	AML	m	CR	unr	df	m	pb	4Gy-ATG-Cy	CSA-MMF	18	35	110	nr	MR	2		2	289	unbekannt
7	69	AML	m	Rezidiv	unr	id	m	pb	BUS-ATG-Cy	CSA-MMF	14	42	nr	nr	NR	3	Zenapax, MTX, Tacrolimus	2	318	cGvHD, Infektionen
8	35	AML	m	Rezidiv	sib	id	f	pb	4Gy-ATG-Cy	CSA-MMF	9	27	67	229	CR	2	MTX	0	368	Sepsis im Rezidiv
9	50	AML	f	refraktär	sib	id	m	pb	4Gy-ATG-Cy	CSA-MMF	29	50	nr	nr	MR	4	MTX, Zenapax, Sirolimus, Tacrolimus, Celcept	2	502	Sepsis
10	65	B-NHL	f	Rezidiv	unr	df	m/f	cb	Zev-Flu-ATG-Cy	Tac-Sir	25	48	63	98	CR	2		0	433	lebt
11	26	AML	m	CR	sib	df	f	mp	4Gy-ATG-Cy	CSA-MTX	24	47	73	112	CR	4	Sirolimus, Tacrolimus, Pentaglobin	2	420	Sepsis, Pneumonie
12	61	AML	m	Rezidiv	unr	df	m	pb	BUS-ATG-Cy	CSA-MMF	14	38	81	87	CR	2		0	139	Sepsis, Pneumonie
13	57	AML	f	Rezidiv	unr	id	m	pb	4Gy-ATG-Cy	CSA-MMF	30	57	55	nr	PR	3	Zenapax, Celcept	1	194	Sepsis
14	72	AML	m	Rezidiv	sib	id	m	pb	FBM-ATG	CSA-MMF	18	46	nr	nr	NR	4	MTX, Entocort, Sulfasalazin, OKT, Enbrel, Sirolimus, Zenapax, Tacrolimus	0	112	refraktäre GvHD, Sepsis
15	21	ALL	m	Rezidiv	unr	df	f	ma	12Gy-ATG-Eto	CSA-MTX	19	22	96	175	CR	3	Zenapax, Sirolimus	0	1073	lebt
16	68	AML	m	CR	unr	id	m	pb	BUS-ATG-Cy	CSA-MMF	14	48	70	nr	PR	3	OKT, Entocort, Sirolimus, Zenapax, Rituximab, Tacrolimus	2	573	cGvHD
17	55	MDS	m	unbehandelt	sib	id	f	pb	BUS-ATG-Cy	CSA-MMF	24	56	68	nr	PR	2		2	854	lebt
18	65	AML	m	Rezidiv	unr	id	m	pb	BUS-ATG-Cy	CSA-MMF	35	70	349	nr	MR	2	MTX, Sirolimus, Tacrolimus	1	658	lebt
19	57	MMY	m	Rezidiv	unr	df	f	pb	Mel-Flu-ATG-Cy	CSA-MMF	10	15	181	nr	NR	4	Enbrel, Entocort, Sirolimus, Tacrolimus, Rituximab, OKT, Zenapax, Pentaglobin, MSC, MTX	0	280	refraktäre aGvHD, Sepsis
20	42	AML	m	Rezidiv	sib	id	m	pb	4Gy-ATG-Cy	CSA-MMF	33	92	n.a.	nr	NR	4	Sirolimus, Enbrel, Entocort, Zenapax, Pentostatin, Pentaglobin, Tacrolimus	0	142	refraktäre aGvHD, Sepsis
21	30	B-NHL	f	PR	unr	df	m	pb	Zev-Flu-ATG-Cy	Sir-MMF	14	20	44	nr	PR	3	MTX, Entocort	0	84	Rezidiv mit respiratorischer Insuffizienz
22	40	AML	m	refraktär	unr	id	m	pb	4 Gy-ATG-Cy	CSA-MMF	9	15	nr	nr	NR	4	OKT, MTX, Zenapax	0	86	refraktäre GvHD, Sepsis
23	41	AML	m	refraktär	sib	id	f	pb	4Gy-ATG-Cy	CSA-MMF	44	104	31	nr	PR	3		2	1052	lebt
24	48	OMF	m	refraktär	unr	id	f	pb	BUS-Cy-ATG	CSA-MTX	160/50	167/57	nr	nr	NR	4	Sirolimus, Tacrolimus, Enbrel	0	207	refraktäre GvHD, Sepsis
25	35	AML	m	refraktär	unr	df	m	pb	4Gy-ATG-Cy	CSA-MMF	21	28	nr	nr	MR	4	OKT, MTX	0	45	Sepsis, bei EBV-PTLD
26	22	AML	m	Rezidiv	unr	df	f	pb	4Gy-ATG-Cy	CSA-MMF	10	17	89	163	CR	4	OKT, MTX, Zenapax	1	421	lebt
27	66	AML	f	Rezidiv	unr	df	f	pb	BUS-ATG-Cy	CSA-MMF	20	27	36	nr	PR	3	Sirolimus	0	108	Sepsis
28	51	AML	m	refraktär	sib	id	m	pb	4Gy-ATG-Cy	CSA-MMF	30	103	11	400	CR	3		1	730	lebt
29	33	CLL	m	refraktär	unr	id	m	pb	12Gy-ATG-Cy	CSA-MMF	10	19	31	47	CR	4		2	353	cGvHD, Infektionen
30	52	B-NHL	m	CR	sib	id	f	pb	Ritux-Flu-Cy	CSA-MMF	34	43	154	nr	PR	3	Zenapax, Enbrel, Sirolimus	2	824	lebt

Tabelle 41: Gesamtübersicht aller 30 Patienten

## 4 Diskussion

Die eigenen Ergebnisse und die Erfolge sollen im Vergleich zu den bisher erhobenen Daten an anderen Zentren im Folgenden diskutiert werden.

### 4.1 Beurteilung des Patientenkollektivs bezüglich Schwere und Organverteilung der GvHD

Unter den 30 ECP-Patienten mit steroidrefraktärer akuter GvHD befand sich ein großer Anteil mit schwerer und auch schwerster GvHD. Insgesamt 76,7% wiesen eine Grad III oder Grad IV GvHD auf, welche im Allgemeinen bei Steroidrefraktärität eine sehr schlechte Prognose hat. Vergleicht man diese Raten mit anderen Studien wie beispielsweise der von Perfetti et al. aus dem Jahr 2008, so zeigt sich in unserem Patientenkollektiv eine deutlich höhere Rate an Grad III (43,4% versus 30,4%) und auch Grad IV (33,3% versus 26,1%) GvHD (Perfetti et al., 2008). Auch in der größten bisher publizierten Studie mit 59 Patienten von Greinix et al. liegt der Anteil an Grad III GvHD mit 22% der Patienten und Grad IV GvHD (17%) deutlich niedriger (Greinix et al., 2006).

Unterteilt man die 30 ausgewerteten Patienten nach Spendertypen, so zeigt sich bei den HLA-identischen Familienspendern sogar eine etwas höhere Rate an Grad IV GvHD als bei den Fremdspendern (37,5% versus 30%). Bezüglich des Spender-Empfänger-Geschlechts ergaben sich nur geringfügige Unterschiede in der GvHD-Ausprägung zwischen weiblichen und männlichen Spendern, obwohl in Vorberichten weibliche Spender aufgrund einer Alloimmunisierung durch vorangegangene Geburten als Risikofaktor für das Auftreten einer GvHD gelten (Saliba et al., 2007). Betrachtet man die Verteilung und Manifestation der GvHD auf die drei „Hauptorgane“ Haut, Leber und Darm, so war bei allen Patienten die Haut von der GvHD betroffen, während mehr als drei Viertel auch eine Darm GvHD (76,7%), aber nur einer geringer Anteil eine Leberbeteiligung (40,0%) aufwiesen. 80% aller Patienten hatten 2 oder mehr von der GvHD involvierte Organe, wobei

fast bei der Hälfte der Patienten Haut, Leber und Darm betroffen waren und 10% der Patienten zusätzlich andere Manifestationen wie eine Mikroangiopathie oder Gelenkbeteiligung hatten. Zieht man auch hier andere Studien zum Vergleich heran, so erscheint in der Phase II Studie von Greinix et al. mit 53% der Anteil an solitärer Hautbeteiligung höher als bei unserer Patientengruppe, 34% haben zwei Organe und 13% drei Organe, die von der GvHD betroffen sind. Bei Perfetti et al. dagegen leiden etwas mehr Patienten an einer Leber- und Darm GvHD als in unserer Patientengruppe (Leber 47,8% versus 40%, Darm 87% versus 76,7%), wenngleich der Ausprägungsgrad der GvHD insgesamt niedriger liegt. Dementsprechend sind in der Perfetti-Patientengruppe bei mehr Patienten 2 Organe befallen, der Anteil an 3-Organbeteiligung liegt aber niedriger als in unserer Analyse (39,1% versus 46,7%). Es lässt sich also insgesamt bei unserer Patientengruppe bei einem Großteil der Patienten von einer eher schweren und disseminiert verteilten GvHD ausgehen, auch im Vergleich zu den bisher vorliegenden Daten anderer Zentren.

#### 4.2 Beurteilung des Ansprechens

Das Ansprechen kann anhand der klinischen Situation, also an den GvHD-Stadien von Haut, Leber und Darm, beurteilt werden. Diese Einschätzung ist jedoch in manchen Punkten vom Untersucher abhängig und daher als eher subjektiv einzuordnen. Einen weit objektiveren Maßstab stellt die Dosis an Kortikosteroiden dar, die ein Patient zur erfolgreichen Therapie der GvHD benötigt. Bei vielen refraktären Patienten ist es nicht möglich, die Kortikoidgaben wie geplant, das heißt alle 3 Tage um ca. 10%, zu reduzieren, ohne dass die GvHD sich wieder verschlechtert. Bei einem Teil der Patienten kommt es bereits initial zu einem mangelhaften Ansprechen der GvHD auf die Kortikosteroide. Aus diesem Grund stellt die Menge der applizierten Kortikosteroide zugleich einen Maßstab für das Ansprechen der GvHD auf die Therapie dar. Gelingt es bei einer refraktären GvHD mittels einer Zweitlinientherapie, in unserem Fall der ECP, die Kortikosteroide deutlich zu reduzieren oder gar abzusetzen, so ist von einem sehr guten bis guten Ansprechen der GvHD auf die Zweitlinientherapie auszugehen. Dementsprechend wurde in unserer retrospektiven Analyse die Kortikoidmenge, die ein Patient zur erfolgreichen Therapie der GvHD benötigt, als objektiver Parameter gewählt, der

sehr gut das Ansprechen beschreibt. Auch in anderen Studien zur akuten und chronischen GvHD spielt die Kortisondosis der mit ECP behandelten Patienten eine Rolle, sie dient aber bisher nicht als objektiver Maßstab des Ansprechens.

Bei der vorliegenden Patientengruppe erreichten anhand der definierten Response-Kriterien 11 Patienten (36,7%) eine CR und 9 Patienten eine PR (30,0%). Bei zwei Drittel der initial refraktären Patienten konnte somit eine erfolgreiche Therapie mittels ECP verzeichnet werden. Im Vergleich zu den bisher vorliegenden Daten ist dies ein durchaus gutes Ergebnis (Dall'Amico et al., 2002). Besonders unter den Patienten mit GvHD Grad III (13 Patienten) erscheinen die CR-Rate von 38,5% (5 Patienten) und die PR-Rate von 53,8% (7 Patienten) sehr hoch. Nur ein Patient in dieser Subgruppe zeigte kein gutes Ansprechen. In der Gruppe der Patienten mit Grad IV GvHD erzielten immerhin 3 der 10 Patienten (30,0%) eine CR, was dafür spricht, dass die ECP sogar bei schwerster GvHD letztendlich ein Absetzen der Steroide ermöglichen kann. Kritisch angemerkt muss an dieser Stelle jedoch werden, dass ein Teil der Patienten zusätzlich aufgrund der Schwere der GvHD weitere Immunsuppressiva im Verlauf der Therapie erhielt. Die Kortikoidgaben des Gesamtkollektivs vor ECP lagen im Median bei 150 mg täglich, wobei einige Patienten bis zu 300 mg erhielten. Nach der ECP konnte eine Dosis von 5mg täglich (Median) verzeichnet werden. Ähnliche Beobachtungen diesbezüglich wurden auch in anderen retrospektiven Analysen beschrieben (Perfetti et al., 2008). In der CR-Gruppe wurde rasch nach Beginn der ECP die PR erreicht (67 Tage nach ECP-Start), während das endgültige Absetzen der Kortikosteroide im Median 163 Tage benötigte. Auch in der Gruppe der Patienten, die eine PR erzielten, gelang dies im Median bereits nach 55 Tagen. Einschränkend muss jedoch festgestellt werden, dass manche Patienten bei Beginn der ECP niedrige Dosen an Kortikosteroiden aufwiesen und daher die 10mg-PR-Dosis früher erreicht werden konnte als bei initial höheren Dosen. In der univariaten Analyse ließ sich lediglich der Schweregrad der GvHD als signifikanter Faktor für das Erreichen einer CR und PR festmachen, alle anderen evaluierten Faktoren hatten keinen signifikanten Einfluss auf das Ansprechen. Dabei zeigten gerade der Zeitpunkt der GvHD-Manifestation ( $p=1,000$ ) und der Zeitpunkt des ECP-Starts ( $p=0,709$ ) einen überraschend hohen p-Wert. Evaluiert man ausschließlich das Erreichen der CR und den Zeitpunkt der CR, so erlangten jüngere Patienten signifikant mehr und früher die CR. Alle anderen

untersuchten Faktoren können hier keine Auftrennung bezüglich der Wahrscheinlichkeit einer CR vornehmen.

Betrachtet man das Ansprechen der einzelnen Organsysteme Haut, Leber und Darm, so lässt sich wie in Vorberichten anderer Zentren (Greinix et al., 2006; Perfetti et al., 2008) Folgendes feststellen: die Hautmanifestationen zeigten das beste Ansprechen auf die ECP-Therapie mit einem Rückgang der Ausprägungsstadien bei nahezu allen Patienten nach 30 Tagen ECP und einem kompletten Fehlen hoher Stadien (3 und 4) nach 100 Tagen ECP. Was die Leber GvHD betrifft, so konnte nach 30-tägiger ECP-Therapie ein Rückgang der Leberwerte bei allen Patienten mit Leberbeteiligung verzeichnet werden, ebenso nach 100 Tagen ECP, obwohl einschränkend erwähnt werden muss, dass 8 Patienten zu diesem Evaluationszeitpunkt verstorben waren. Unter den 8 Verstorbenen hatte jedoch nur ein Patient eine Leber GvHD Stadium 4. Auch die Darm GvHD konnte mittels ECP in niedrigere Stadien sowohl nach 30 Tagen ECP als auch nach 100 Tagen überführt werden, bei Patienten mit schwerster Ausprägung zeigte sich jedoch bisweilen kein Ansprechen oder die Patienten waren 100 Tage nach ECP-Start bereits verstorben (8 Patienten, 26,6%). 7 von 11 Patienten mit schwerster Darm GvHD (Stadium 4) erreichten eine Verbesserung unter 100-tägiger ECP-Therapie.

Das Ansprechen der GvHD auf die ECP Therapie hängt daher sowohl vom Verteilungsmuster der Manifestationen, also Haut, Leber und Darm, ab, als auch von der Schwere, wobei auch Patienten mit Grad IV GvHD eine komplette Remission der GvHD unter ECP-Therapie erreichen können.

#### 4.3 Überlebensraten

Das Überleben der Patienten mit steroidrefaktärer GvHD stellt einen Hauptgesichtspunkt unserer Analyse dar. In den letzten Jahren und Jahrzehnten konnte keine Zweitlinientherapie bei Steroidrefraktärität als Standard etabliert werden. Ob die ECP tatsächlich einen Überlebensvorteil, zumindest für einen Teil der behandelten Patienten, gewähren kann, soll nun erörtert werden.

#### 4.3.1 Das Überleben beeinflussende Parameter

Während eines Nachbeobachtungszeitraums von maximal 1073 Tagen konnten ein medianes Gesamtüberleben von 394 Tagen sowie ein Gesamtüberleben von 40% erreicht werden. Dieses erscheint aufgrund der bereits geschilderten Zusammensetzung des Patientenkollektivs relativ hoch. Erwartungsgemäß überlebten Patienten mit Grad II und Grad III GvHD signifikant besser als Patienten mit Grad IV GvHD ( $p=0,015$ ), wobei überraschenderweise zwischen Grad II und Grad III GvHD kein Unterschied in den Überlebensraten bestand. Bezüglich der Responsegruppen ergibt sich ein sehr ähnliches Bild: Patienten, die auf die ECP-Therapie angesprochen haben (CR und PR), wiesen einen Überlebensvorteil gegenüber denen auf, die nur sehr gering (MR) oder gar nicht angesprochen haben (NR). So waren zum Ende des Nachbeobachtungszeitraums 55% der CR- und PR-Gruppe am Leben, während in der MR-Gruppe 75% und in der NR-Gruppe 100% der Patienten verstorben waren. Zwischen den CR- und PR-Patienten lässt sich erneut kein Unterschied im Überleben festmachen, es scheint also eine geringe Steroiddosis von 10 mg Prednisolon täglich keinen negativen Einfluss auf das Überleben zu haben, zumindest in diesem kleinen Patientenkollektiv. Die Art des Spenders konnte keinen signifikanten Einfluss auf das Überleben nehmen. Die Gruppe der Fremdspender zeigte eine etwas schlechteres Überleben (30% und 40%) als die Familienspender (50%), wobei dies nicht statistisch signifikant war und aufgrund der kleinen Subgruppen nur sehr vorsichtig interpretiert werden sollte. Entgegen der in der Literatur erwähnten höheren Rate an GvHD (Apperley et al., 2008) bei weiblichen Spendern und männlichen Empfängern zeigte sich in unserer Auswertung zum einen für die Gruppe mit weiblichen Spendern/männlichen Empfängern ein Überlebensvorteil gegenüber den Patienten, die eine andere Spender-Empfänger-Konstellation hatten und zum anderen, dass die Mehrzahl der Patienten mit refraktärer GvHD einen männlichen Spender aufwies. Das Überleben von 60,0% bei weiblichen Spendern/männlichen Empfängern gegenüber 30,0% bei anderen Empfänger-Spender-Konstellationen erscheint auf den ersten Blick deutlich höher, ist jedoch aufgrund der geringen Patientenzahl und den ungleichen Vergleichsgruppen nicht statistisch signifikant ( $p=0,133$ ). Relativ großen Einfluss auf das Überleben hat, einhergehend mit dem Gesamtgrad der GvHD, die Anzahl an Organen, welche von der GvHD betroffen sind. So ergab sich ein signifikant

besseres Gesamtüberleben ( $p=0,01$ ) für die Patientengruppe mit maximal 2 Organ-GvHD gegenüber der Gruppe, bei der Haut, Leber und Darm gleichzeitig involviert waren. Dies spiegelt sich auch im medianen Überleben wieder mit einem medianen OS von 280 Tagen für die 3-Organ-Gruppe gegenüber einem nicht erreichten Median des OS bei 1- oder 2-Organbefall. Die immunsuppressive Begleitmedikation Sirolimus zusätzlich zu Steroiden und ECP ließ für die Sirolimusgruppe einen Überlebensvorteil erkennen (46,2% versus 35,3%). Die gefürchtete Nebenwirkung einer Mikroangiopathie ließ sich nur bei einem Patienten feststellen, wobei bei diesem nicht sicher differenziert werden kann, ob die Mikroangiopathie nicht eher als GvHD-Manifestation einzuordnen ist. Ob das Vorhandensein einer zusätzlichen Mikroangiopathie als ein negativer Prediktor für das Überleben dienen kann, kann aufgrund der kleinen Patientengruppe von 5 Patienten, welche eine Mikroangiopathie erlitten, nicht sicher gesagt werden, es lässt sich jedoch Folgendes festhalten: Der Vergleich zwischen den annähernd gleich zusammengesetzten Gruppen von Grad III und Grad IV GvHD mit und ohne Mikroangiopathie lässt ein besseres Überleben bei fehlender Mikroangiopathie erkennen (41,2% versus 20,0%). Trotz fehlender statistischer Signifikanz sollte in zukünftigen Studien dieser Sachverhalt genauer analysiert und berücksichtigt werden. Eine Erklärung für das schlechtere Überleben kann ein vermindertes Ansprechen der mikroangiopathischen GvHD auf die ECP-Therapie sein, wobei gegebenenfalls ein anderer Pathomechanismus in der Genese dieser GvHD zugrunde liegen könnte. Entgegen der bisherigen in der Literatur aufgeführten Vermutung, dass ein sehr früher Beginn der ECP einen Vorteil im Ansprechen mit sich bringt (Lee et al., 2003; Perfetti et al., 2008), ergab sich in unserer Auswertung folgendes Bild: bei einem medianen Abstand von 18 Tagen zwischen der akuten GvHD und dem Beginn der ECP ließ sich für die Patienten ein besseres Gesamtüberleben messen, die später als 18 Tage nach GvHD-Manifestation mit der ECP begonnen haben. Ursache hierfür dürfte jedoch sein, dass einige Patienten in dieser Subgruppe primär auf die Steroide angesprochen haben und sich erst im Verlauf eine Steroidabhängigkeit zeigte, so dass die GvHD dieser Patienten eventuell primär bereits einen weniger aggressiven Verlauf nahm. Zusätzlich lag ein etwas geringerer Anteil an Grad IV GvHD in der Gruppe mit späterem ECP-Beginn vor. Der Vergleich zwischen einer früher einsetzenden GvHD und einer späteren GvHD zeigte ein geringfügig schlechteres Gesamtüberleben für Patienten

mit einem Beginn der GvHD vor Tag 20 nach SCT (OS 31,7% versus 50,0% bei GvHD nach Tag 20). Ursächlich könnte eine etwas aggressivere Verlaufsform der früher einsetzenden GvHD sein.

Ähnlich wie für das Gesamtüberleben ergibt sich auch für die TRM nach einem Jahr eine hohe TRM für Grad IV GvHD gegenüber Grad II und Grad III GvHD. Ebenso ist die TRM für Patienten, die auf die ECP ansprachen und eine CR oder PR erreichten, deutlich niedriger als für MR- oder NR-Patienten. Einen Schwerpunkt der Todesursachen bilden erwartungsgemäß bei diesem stark immunsupprimierten Patientenkollektiv Infektionen, vor allem Sepsis und Pneumonien.

Zusammenfassend lassen sich die Ausprägung der GvHD und das Ansprechen auf die ECP als das Überleben beeinflussende Parameter festmachen, wobei signifikante Unterschiede zwischen einer GvHD Grad II/III und einer GvHD Grad IV bestehen sowie zwischen CR-/PR-Patienten und Patienten, welche nicht auf die ECP angesprochen haben. Eine weitere wichtige Rolle spielt die Anzahl an von der GvHD befallenen Organen, wobei die Mikroangiopathie eine zusätzliche Trennung bezüglich des Überlebens vornimmt.

#### 4.3.2 Überleben im Vergleich zu anderen ECP-Studien

Vergleicht man unsere Resultate mit der bisher größten publizierten Studie von Greinix et al. aus dem Jahr 2006, so liegt die Überlebenschance nach 4 Jahren in der Greinix-Analyse mit 47,0% für alle Patienten etwas höher als in unserem Patientenkollektiv mit einem OS von 40,0% bei einem maximalen Nachbeobachtungszeitraum von 3 Jahren. Betrachtet man ausschließlich die Patienten, die eine CR erreichen konnten, so liegt in der Greinix-Auswertung die Gesamtüberlebensrate mit 59% etwas über der unserer CR-Patienten (54,5%). An dieser Stelle muss jedoch angemerkt werden, dass die Remissionskriterien in den beiden Analysen unterschiedlich definiert sind. Für Patienten ohne CR liegt das OS mit 11,0% niedriger als bei unseren PR-Patienten (55,5%) und auch niedriger als bei unseren MR-Patienten (25,0%). Ähnlich sind in beiden Analysen die Faktoren, die das Überleben beeinflussen: der Grad der GvHD und die Anzahl an Organen, die involviert sind (Greinix et al., 2006). Bei Perfetti et al. zeigte sich in der etwas kleineren Patientengruppe von 23 Patienten ein Gesamtüberleben von 48% versus

40% in unserer Gruppe. Die beiden Vergleichsgruppen waren jedoch unterschiedlich zusammengesetzt mit höheren Raten an GvHD Grad III und IV bei unseren 30 Patienten (Perfetti et al., 2008). Innerhalb der ersten 90 Tage nach ECP-Start verstarben in der Perfetti-Auswertung bereits 11 der 23 Patienten (43,5%), während bei unseren Patienten 100 Tage nach Beginn der ECP noch 22 der 30 Patienten am Leben waren (73,3%). In retrospektiven Analysen mit weitaus geringeren Patientenzahlen ergaben sich sehr unterschiedliche Überlebensraten, welche zwischen 0% und 100% lagen. Dall'Amico zeigte in seiner Übersichtsarbeit aus dem Jahr 2003 insgesamt 11 Studien, auch mit pädiatrischen Patienten, mit Patientenzahlen zwischen 1 und 21 Patienten auf, wobei das Gesamtüberleben bei insgesamt 53% festzumachen war. Diese Überlebensrate resultiert jedoch aus einer sehr heterogenen Patientenpopulation und bezieht auch Kinder in die Auswertung mit ein (Dall'Amico et al., 2003).

Zusammenfassend liegt das Gesamtüberleben in unserer Patientengruppe in etwa gleich mit dem in anderen Studien erreichten Überlebensraten. Berücksichtigt man die Schwere der GvHD, welche in unserer Population besonders ausgeprägt erscheint, so sind die Resultate des OS durchaus zufriedenstellend, wenn auch noch verbesserungswürdig. Um deren Wertigkeit jedoch genauer zu evaluieren, sollten andere Zweitlinientherapien nicht unerwähnt bleiben.

#### 4.3.3 Überleben im Vergleich zu anderen Zweitlinientherapien

Es existieren verschiedenste Ansätze, um die sehr schlechte Prognose der Patienten mit steroidrefraktärer GvHD zu verbessern, welche primär auf eine Inaktivierung der alloreaktiven T-Zellen und Verminderung der Inflammation abzielen (Deeg, 2007). Trotz Mangel an kontrollierten prospektiven Studien lässt sich allgemein feststellen, dass es keine etablierte Zweitlinientherapie gibt, welche erfolgsversprechende Resultate liefern könnte. Der anti-CD3-Antikörper Visilizumab konnte im Jahr 2002 mit einer Ansprechrate von 32% bei steroidrefraktärer GvHD und einem 6-Monats-Überleben von 32% im Vergleich zur ECP in unserer Patientengruppe keine überzeugenden Resultate liefern (Carpenter et al., 2002). Ein ähnliches OS wie in unserer Analyse ergab die Anwendung von Infliximab, einem anti-TNF $\alpha$ -AK, bei Steroidrefraktärität. Bei 21 Patienten wurde ein OS von

38% und eine Ansprechrate von 60% erreicht, jedoch lag die Inzidenz von chronischer GvHD bei den Überlebenden mit 100% sehr hoch (Couriel et al., 2000). Die Anwendung von Pentostatin in der steroidrefraktären Situation konnte zwar in einer Phase-I-Studie gute Ansprechraten zeigen, vor allem von Haut (81%) und Darm (79%), welche vergleichbar mit dem Ansprechen der ECP in unserer Population sind, das 1-Jahres-Überleben war jedoch mit 26% deutlich schlechter als in unserer Auswertung (Margolis et al., 2000). Der Einsatz von Sirolimus als Zweitlinientherapie der akuten GvHD kann gute Ansprechraten erzielen, das Gesamtüberleben liegt jedoch mit 33% unter dem mittels ECP erreichten OS. Zusätzlich muss die Applikation von Sirolimus kritisch hinterfragt werden, da es oft aufgrund eines erhöhten Nebenwirkungsprofils (Myelosuppression) zu einem Therapieabbruch kommt (Benito et al., 2001). Insgesamt konnte nach bisheriger Datenlage keine Zweitlinientherapie bei Steroidrefraktärität als der ECP überlegen identifiziert werden. Die Hauptproblematik der erhöhten Infektions- und bisweilen auch Toxizitätsraten ist im Falle der ECP nicht gegeben. Daher stellt die ECP, gerade bei der Haut-GvHD, eine wahre Therapiealternative zu anderen immunsuppressiven Optionen dar.

#### 4.4 Virusinfektionen und –reaktivierungen

Im Rahmen der standardmäßig durchgeführten Biopsien der Organe, die eine Manifestation der GvHD aufweisen, konnten zahlreiche Virusbefunde, manchmal auch in Kombination, erhoben werden. Allen Befunden gemeinsam bleibt aber, dass die Relevanz hinsichtlich der klinischen Verläufe und der Intensität der GvHD nicht klar abgegrenzt werden kann. Zum einen erhöht die Immunsuppression das Risiko für Virusinfektionen, zum anderen kann der Virus als Trigger für die GvHD dienen. Daher wurde bei vorhandener klinischer Manifestation und Virusnachweis in der PCR eine virostatistische Therapie begonnen. Inwieweit diese Therapie bei Rückgang der Virusmenge auch das Ansprechen der GvHD auf die ECP beeinflusst hat, kann leider nicht differenziert werden. In vielen Fällen lagen nur geringe Mengen Virus vor. Knapp die Hälfte aller Patienten hatte in der Hautbiopsie einen positiven Virusnachweis, wobei HHV6 und Parvo B19 am häufigsten waren. Die klinischen Bilder der Haut-GvHD sind gerade denen eines HHV6-Exanthems oder einer Parvo

B19-Infektion sehr ähnlich, so dass dieses Ergebnis nicht überraschend ist. Auch die Kombination von zwei oder drei verschiedenen Viren trat in seltenen Fällen in der Hautprobe auf. In den Biopsien aus dem Gastrointestinaltrakt überwogen HHV6 und EBV sowie Parvo B19 und CMV. Typische Differentialdiagnose zu einer Darm-GvHD sind Virusinfektionen, v.a. durch CMV oder Adenoviren. Letztere konnten in unserer Patientengruppe einmal nachgewiesen werden. Der Anteil an Patienten mit positivem Virusbefund, wenn auch teilweise nur in kleinen Mengen, lag in den Kolonbiopsien relativ hoch, nämlich 17 von 22 biopsierten Patienten (77,2%). Im Blut dagegen war lediglich ein Drittel der Patienten von einer Virusinfektion betroffen, wobei CMV und EBV an vorderster Stelle in der Häufigkeit standen. Jeweils 50% der Patienten hatten nur einen beziehungsweise 2 Viren zur gleichen Zeit per PCR detektierbar. Um genauere Zusammenhänge zwischen der Schwere der GvHD, der nachgewiesenen Viruslast und –art sowie dem Ansprechen der GvHD zu eruieren, wären größere Fallzahlen notwendig. Gleichzeitig müßten eine exakte Analyse der antiviralen Therapie und eine Dokumentation des Ansprechens, am besten durch Verlaufsbiopsien, erfolgen, worauf im Rahmen dieser Auswertung verzichtet wurde.

#### 4.5 Chronische GvHD und Todesursachen

Ein Großteil der überlebenden Patienten entwickelte im Verlauf eine chronische GvHD, bei 4 Patienten (33,3% der Überlebenden) musste eine schwere chronische GvHD festgestellt werden. Diese Resultate entsprechen zum einen der Tatsache, dass das Vorhandensein einer akuten GvHD einen Risikofaktor für eine spätere chronische GvHD darstellt (Apperley et al., 2008). Zum anderen liegen die Raten chronischer GvHD bei Anwendung anderer Zweitlinientherapien steroidrefraktärer GvHD bei den Überlebenden ähnlich hoch (Couriel et al., 2000). Bei Einsatz der ECP wurde auch in Vorberichten eine hohe Rate an chronischer GvHD bei den steroidrefraktären Patienten beobachtet, die überlebt haben, wie beispielsweise bei Perfetti et al. 100% (Perfetti et al., 2008). Da die ECP bisher als Therapie der chronischen GvHD weit etablierter ist als bei der akuten GvHD erscheint es nicht verwunderlich, dass 41,7% der überlebenden Patienten aufgrund ihrer chronischen

GvHD erneut einer Photopherese-Behandlung unterzogen wurden. Unter diesen 5 Patienten befand sich ein Patient mit milder chronischer GvHD.

Entsprechend der Hauptgefahr einer schweren Immunsuppression bei Zustand nach allogener SCT und gleichzeitiger Anwendung mehrerer immunsuppressiver Substanzen bei nicht beherrschter akuter GvHD steht an erster Stelle der Todesursachen der 18 verstorbenen Patienten eine Sepsis. Teilweise lag zusätzlich eine Pneumonie vor, manche Patienten verstarben jedoch auch primär an den Folgen der schwersten GvHD und der damit einhergehenden Reduzierung des Allgemeinzustandes. Auch dies entspricht den Vorberichten über akute steroidrefraktäre GvHD, sowohl bei Anwendung der ECP als auch bei Applikation anderer Immunsuppressiva. Die ECP an sich gilt im Vergleich zu anderen immunsuppressiven Substanzen als weniger risikoreich, den Weg für schwere Infektionen zu bahnen, da ihr Wirkprinzip auf Immunmodulation anstelle von Immunsuppression aufgebaut ist (Marshall, 2007). Zugleich konnten die Steroide bei erfolgreicher ECP-Therapie reduziert werden, was zusätzlich zu verringerter Infektionsgefahr führt. Dies gilt jedoch nicht für die Gruppe der Patienten, die eine NR oder MR erreicht haben. Die Mehrzahl der verstorbenen Patienten gehört diesen beiden Gruppen an, daher kann auch die Todesursachenverteilung mit einem Überwiegen von GvHD und Infektionen logisch begründet werden.

## 5 Zusammenfassung

Die akute GvHD stellt eine der Hauptkomplikationen nach allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation dar. Gerade bei Refraktärität auf die primäre Standardtherapie mit Kortikosteroiden liegt ein sehr hohes Risiko vor, an den Folgen der unbeherrschten GvHD oder an Infektionen im Rahmen der ausgeprägten Immunsuppression zu versterben. Bisher konnte keine Zweitlinientherapie bei Steroidrefraktärität als erfolgsversprechend etabliert werden. Die extrakorporale Photopherese ist eine extrakorporale Photochemotherapie, bei der mittels UVA-Licht und 8-Methoxypsoralen die behandelten Leukozyten in Apoptose gehen und anschließend zu einer Immunmodulation mit Entstehung einer Toleranz führen. Der genaue Mechanismus dieses gut tolerablen Verfahrens ist nicht abschließend geklärt. Nachdem die Anwendung im Rahmen der chronischen GvHD gute Ergebnisse erzielen konnte, werden zunehmend auch Patienten mit akuter GvHD mittels ECP behandelt. Bisher existieren jedoch nur wenige Vorberichte, die größte Studie umfasst 59 Patienten.

In der hier vorliegenden retrospektiven Analyse von 30 Patienten mit steroidrefraktärer akuter GvHD wiesen 7 Patienten (23,3%) eine GvHD Grad II, 13 Patienten (43,4%) eine GvHD Grad III und 10 Patienten (33,3%) eine GvHD Grad IV auf. Die akute GvHD trat im Median an Tag 20 nach Stammzelltransplantation auf und im Median wurde 18 Tage nach Beginn der GvHD mit ECP gestartet. Die Kriterien des Ansprechens wurden abhängig von der benötigten Menge an Kortikosteroiden folgendermaßen definiert: CR bedeutet ein komplettes Absetzen der Kortikosteroide, PR eine maximale Dosis von 10 mg täglich, MR eine Reduktion der Dosis auf weniger als 50% der Ausgangsdosis vor ECP aber mehr als 10mg und NR eine Reduktion um weniger als 50% oder keinerlei Ansprechen. Nach einer medianen Anzahl von 15 ECP-Sitzungen über einen Zeitraum von 54 Tagen (Median) ergaben sich folgende Ansprechraten: 11 Patienten (36,7%) erreichten eine CR, 9 (30,0%) eine PR, 4 (13,3%) eine MR und 6 (20,0%) eine NR. Im Median konnten die Steroide von 150mg vor ECP auf 5 mg nach ECP reduziert werden. Während des Nachbeobachtungszeitraums von maximal 1073 Tagen und einer medianen Follow-Up-Zeit von 777 Tagen überlebten insgesamt 12 der 30 Patienten, entsprechend 40,0%. Das mediane Gesamtüberleben lag bei 394 Tagen. Ein

signifikanter Unterschied ( $p=0,015$ ) im Gesamtüberleben ergab sich zwischen Patienten mit GvHD Grad II (57,1) / Grad III (53,8%) und Grad IV (10,0%). Ebenso signifikant besser überlebten die Patienten, die sehr gut oder gut (CR und PR) auf die ECP angesprochen haben (OS 54,5% und 55,5%) im Gegensatz zu denen, die kaum (MR, OS 25,0%) oder nicht (NR, OS 0,0%) von der ECP profitierten. Patienten mit GvHD-Befall von maximal 2 Organen (OS 68,8%) zeigten einen signifikanten Überlebensvorteil ( $p=0,01$ ) gegenüber den Patienten mit Befall von 3 oder mehr Organen (OS 7,1%). Weitere Parameter, die Einfluss auf das OS nehmen, aber aufgrund der kleinen Patientengruppe nicht statistisch signifikant waren, sind das Auftreten einer Mikroangiopathie (OS 41,2% ohne Mikroangiopathie versus 20,0% mit Mikroangiopathie), der Zeitpunkt der GvHD (OS 31,0% bei GvHD vor Tag 20 versus 50,0% bei GvHD ab Tag 20) und die Spender-Empfänger-Geschlechts-Konstellation (OS 60,0% bei weiblichem Spender/männlichem Empfänger versus 30,0% bei den anderen Konstellationen). Patienten, die zusätzlich zur ECP Sirolimus erhielten, erreichten bessere Überlebensraten als Patienten ohne Sirolimus (46,2% versus 35,3%). Die TRM ein Jahr nach SCT betrug 40%, wobei auch hier für GvHD Grad II und III im Gegensatz zu GvHD Grad IV ein deutlicher Vorteil vorhanden war. Die TRM an Tag 365 in den einzelnen Response-Gruppen teilt sich folgendermaßen auf: 18,2% in der CR-Gruppe, 22,2% in der PR-Gruppe, 50,0% in der MR-Gruppe und 100,0% in der NR-Gruppe. An Todesursachen führend waren infektiöse Komplikationen, teilweise in Kombination mit Folgen der GvHD. 83,3% der am Leben verbliebenen Patienten litten im weiteren Verlauf an einer chronischen GvHD, davon aber nur 33,3% an einer schweren chronischen GvHD. Als signifikanter Faktor für das Erreichen einer CR oder PR erwies sich in einer univariaten Analyse lediglich der Grad der GvHD. Zusammenfassend konnte durch Einsatz der ECP bei steroidrefraktären Patienten mit akuter GvHD im Vergleich zu anderen Therapieoptionen ein für die Situation der Steroidrefraktärität gutes Gesamtüberleben erreicht werden, wobei kein Überlebensunterschied zwischen Patienten mit CR und PR festzustellen war. Insgesamt profitieren jedoch nicht alle Patienten und die Effektivität sollte in Zukunft anhand prospektiver Studien genauer evaluiert werden.

## 6 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Risikofaktoren für die Entwicklung einer Graft-versus-Host Disease nach Apperley et al., 2008
Tabelle 2	Stadieneinteilung der akuten GvHD in den Organsystemen nach Glucksberg et al., 1974
Tabelle 3	Graduierung der akuten GvHD nach der Consensus Conference 1995 (Przepiorka et al., 1995)
Tabelle 4	IBMTR Severity Index nach Rowlings et al., 1997, die Stadienangaben entsprechen denen des Glucksberg Seattle Scores
Tabelle 5	Immunsuppressiva zur GvHD-Prophylaxe, modifiziert nach Apperley et al., 2008
Tabelle 6	Therapiemöglichkeiten der steroidrefraktären akuten GvHD, modifiziert nach Apperley et al., 2008
Tabelle 7	Risikofaktoren für die Entwicklung einer chronischen GvHD modifiziert nach Apperley et al., 2008
Tabelle 8	Scoring der chronischen GvHD zur Einschätzung des Gesamt-Schweregrades modifiziert nach Apperley et al., 2008; Filipovich et al., 2005
Tabelle 9	Gesamtübersicht aller 30 Patienten (Patientencharakteristika)
Tabelle 10	Häufigkeit der GvHD-Schweregrade
Tabelle 11	GvHD-Ausprägung abhängig vom Spendertyp
Tabelle 12	GvHD-Ausprägung abhängig vom Spender-Empfänger-Geschlecht
Tabelle 13	Organbefall der akuten GvHD nach Anzahl an Organen (Haut, Leber, Darm und „andere Manifestationen“)
Tabelle 14	Organbefall der akuten GvHD nach Organen (Haut, Leber, Darm und „andere Manifestationen“)
Tabelle 15	Zeitpunkt des Auftretens einer behandlungsbedürftigen akuten GvHD (mindestens Grad II)

Tabelle 16	Anzahl der zusätzlich zu ECP und Steroiden eingesetzten Immunsuppressiva zur Behandlung der akuten GvHD
Tabelle 17	Ansprechen der Patienten auf die ECP-Therapie anhand der Steroidreduktion
Tabelle 18	Ansprechen der Patienten auf die ECP-Therapie, unterteilt nach Ausprägungsgrad der GvHD
Tabelle 19	Gesamtübersicht der ECP-Behandlung und Steroidgaben
Tabelle 20	Ausprägung der GvHD-Manifestationen 30 und 100 Tage nach Start ECP
Tabelle 21	Ansprechen in Abhängigkeit einer zusätzlichen Sirolimusgabe
Tabelle 22	Überleben abhängig vom Ausprägungsgrad der akuten GvHD
Tabelle 23	Überleben abhängig vom Ansprechen der akuten GvHD
Tabelle 24	Überleben der Patienten, abhängig vom Spendertyp (ohne haploidentische Spender, 2 Patienten)
Tabelle 25	Überleben der Patienten, abhängig von der Spender-Empfänger-Konstellation
Tabelle 26	Überleben abhängig von der Anzahl der betroffenen Organe
Tabelle 27	Überleben in Abhängigkeit einer zusätzlichen Sirolimus-Therapie
Tabelle 28	Überleben abhängig vom zusätzlichen Auftreten einer Mikroangiopathie bei Patienten mit Grad III und Grad IV GvHD
Tabelle 29	Verteilung der GvHD-Ausprägungsgrade in den beiden Patientengruppen I und II (I: Start ECP maximal 18 Tage nach GvHD, II: Start ECP mehr als 18 Tage nach GvHD)
Tabelle 30	Verteilung der GvHD-Ausprägungsgrade in den beiden Patientengruppen a und b (a: Beginn GvHD bis Tag 20 nach SCT, b: Beginn GvHD mehr als 20 Tage nach SCT)
Tabelle 31	TRM an Tag 100 und 365 nach SCT nach Schweregrad der GvHD und Ansprechen, Todesursachen
Tabelle 32	Übersicht aller Patienten bezüglich Überleben und Todesursachen
Tabelle 33	Häufigkeit der Anzahl der in der Hautbiopsie nachgewiesenen Viren
Tabelle 34	Häufigkeit der Anzahl der in der Darmbiopsie nachgewiesenen

	Viren
Tabelle 35	Häufigkeit der Anzahl der im peripheren Blut nachgewiesenen Viren
Tabelle 36	Häufigkeit der chronischen GvHD bei den 12 lebenden Patienten
Tabelle 37	Schwere der GvHD in der CR- und PR-Gruppe
Tabelle 38	Anzahl der von der GvHD betroffenen Organe bei den 20 CR- und PR-Patienten
Tabelle 39	Das Ansprechen beeinflussende Faktoren (univariate Analyse)
Tabelle 40	Anteil der CR-Patienten nach Altersgruppen
Tabelle 41	Gesamtübersicht aller 30 Patienten

## 7 **Abbildungsverzeichnis**

- Abbildung 1 Das 3-Stufen-Modell der GvHD-Genese nach Hill et al., 2000
- Abbildung 2 Makulopapulöses Exanthem einer akuten Haut-GvHD (links), flüssig-blutige Diarrhoe bei schwerer Darm-GvHD (rechts)
- Abbildung 3 Schematische Darstellung des ECP-Verfahrens nach Marshall, 2006
- Abbildung 4 Vernetzung der beiden DNA-Stränge unter 8-MOP/UVA-Einfluß, nach Therakos Photopheresis
- Abbildung 5 Potentieller Mechanismus der GvHD-Toleranz durch ECP, nach Peritt, 2006
- Abbildung 6 Publierte Studien zur ECP-Therapie bei akuter GvHD nach Marshall, 2006
- Abbildung 7 Therakos UVAR® XTS™ Photopherese-System
- Abbildung 8 Therakos UVAR® XTS™ Photopherese-System, Fluid Logic Modul
- Abbildung 9 Therakos UVAR® XTS™ Photopherese-System, Photoaktivierungskammer
- Abbildung 10 Therakos UVAR® XTS™, schematischer Überblick
- Abbildung 11 Therakos UVAR® XTS™ Photopherese-System, Haemonetics® Zentrifuge
- Abbildung 12 Therakos UVAR® XTS™ Photopherese-System, schematische Darstellung der Zellseparation
- Abbildung 13 Kumulative Inzidenz für das Erreichen einer CR (rote Kurve) und PR (blaue Kurve)
- Abbildung 14 Überleben der 30 ECP-Patienten im Nachbeobachtungszeitraum
- Abbildung 15 Überleben abhängig vom Ausprägungsgrad der akuten GvHD, dargestellt in einer Kaplan-Meier-Überlebenskurve
- Abbildung 16 Überleben abhängig vom Ansprechen der akuten GvHD, dargestellt in einer Kaplan-Meier-Überlebenskurve
- Abbildung 17 Überleben nach Geschlecht Spender-Empfänger

- Abbildung 18 Überleben abhängig von der Anzahl der betroffenen Organe,  
Kaplan-Meier-Überlebenskurve
- Abbildung 19 Haut GvHD Stadium 3 vor Start der ECP-Therapie (Bild oben),  
Haut GvHD nach 6 Wochen (12 Sitzungen) ECP (Bild unten)
- Abbildung 20 Haut GvHD vor Start der ECP-Therapie (Bild oben), Haut GvHD  
nach 4 Wochen (8 Sitzungen) ECP (Bild unten)

## 8 Abkürzungsverzeichnis

AK	Antikörper
ALL	Akute lymphatische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
APC	Antigen-präsentierende Zelle (Antigen Presenting Cell)
ATG	Antithymozytenglobulin
B-NHL	B-Zell-Non-Hodgkin-Lymphom
CB	Cord Blood (Nabelschnurblut)
cGvHD	chronische GvHD
CLL	Chronische lymphatische Leukämie
CML	Chronische myeloische Leukämie
CMV	Cytomegalie Virus
CR	Complete Response
CTCL	kutanes T-Zell-Lymphom (Cutaneous T-Cell Lymphoma)
CyA	Cyclosporin A
GS	Glucksberg Seattle
DC	Dendritische Zellen
DFS	krankheitsfreies Überleben (Disease free survival)
DLI	Donor-Lymphozyten-Infusion
EBV	Epstein Barr Virus
ECP	Extrakorporale Photopherese
FBM	Fludarabin, BCNU, Melphalan
FDA	Food and Drug Administration
FLM	Fluid Logic Modul
Flu	Fludarabin
Geq	Genomäquivalente
GvH	Graft-versus-Host
GvHD	Graft-versus-Host Disease
GvL	Graft-versus-Leukämie
Gy	Gray
HHV6	Humaner Herpesvirus Typ 6
HLA	Human Leukocytes Antigen

HSV	Herpes simplex Virus
IBMTR	International Bone Marrow Transplant Registry
IL	Interleukin
IFN	Interferon
KG	Körpergewicht
kg	Kilogramm
KM	Knochenmark
KMT	Knochenmarktransplantation
LGL	Large-Granular-Lymphocytes
LPS	Lipopolysaccharide
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
Mel	Melphalan
MHC	Major-Histokompatibilitäts-Komplex
MiHAs	Minor-Histokompatibilitäts-Antigene
MMF	Mycophenolat Mofetil
MOP	Methoxypsoralen
MR	Minor Response
MSC	mesenchymale Stammzellen
MTX	Methotrexat
NIH	National Institutes of Health
nm	Nanometer
NO	Nitritoxid
NR	No Response
OMF	Osteomyelofibrose
OS	Gesamtüberleben (Overall survival)
PBSC	Periphere Blutstammzellen
PB SCT	Periphere Blutstammzelltransplantation
PCR	Polymerase-Ketten-Reaktion (Polymerase Chain Reaction)
PR	Partial Response
SAA	Schwere aplastische Anämie
SCT	Stammzelltransplantation
TBI	Total Body Irradiation (Ganzkörperbestrahlung)
TF	Treatment Failure (Therapieversagen)
TH2	T-Helfer-Zellen 2

TGF	Tumorwachstumsfaktor (Tumor-Growth-Factor)
TLI	Total Lymphoid Irradiation
TNF	Tumornekrosefaktor
T <sub>reg</sub>	regulatorische T-Zellen
TRM	Transplantationsassoziierte Mortalität (Transplant-Related Mortality)
TTS	Total Skin Score
USA	United States of America
VOD	Veno-occlusive disease, Lebervenenverschlusskrankheit
Zev	Zevalin

## 9 Literaturverzeichnis

**Akpek G**, Boitnott JK, Lee LA, Hallick JP, Torbenson M, Jacobsohn DA, Arai S, Anders V, Vogelsang GB. Hepatitic variant of graft-versus-host disease after donor lymphocyte infusion. *Blood* 2002;100:3903–3907.

**Antin JH**, Chen AR, Couriel DR, Ho VT, Nash RA, Weisdorf D. Novel approaches to the therapy of steroid-resistant acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2004;10(10):655-68.

**Aoudjhane M**, Labopin M, Gorin NC, Shimoni A, Ruutu T, Kolb HJ, Frassoni F, Boiron JM, Yin JL, Finke J, Shouten H, Blaise D, Falda M, Fauser AA, Esteve J, Polge E, Slavin S, Niederwieser D, Nagler A, Rocha V; Acute Leukemia Working Party (ALWP) of the European group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Comparative outcome of reduced intensity and myeloablative conditioning regimen in HLA identical sibling allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for patients older than 50 years of age with acute myeloblastic leukaemia: a retrospective survey from the Acute Leukemia Working Party (ALWP) of the European group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Leukemia* 2005;19(12):2304-12.

**Apperley J**, Carrerras E, Gluckman E, Gratwohl A, Masszi T. Haematopoietic Stem Cell Transplantation. *The EBMT Handbook 5th Edition 2008; Kapitel 11:219-34.*

**Aractingi S**, Chosidow O: Cutaneous graft-versus-host disease. *Arch Dermatol* 1998;134:602-612.

**Arora M**, Wagner JE, Davies SM, Balzar BR, Defor T, Enright H, Miller WJ, Weisdorf DF. Randomized clinical trial of thalidomide, cyclosporine, and prednisone versus cyclosporine and prednisone as initial therapy for chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2001;7(5):265-73.

**Atkinson K**, Horowitz MM, Gale RP, van Bekkum DW, Gluckman E, Good RA, Jacobsen N, Kolb HJ, Rimm AA, Ringden O, et al. Risk factors for chronic graft-versus-host disease after HLA-identical sibling bone marrow transplantation. *Blood* 1990; 75: 2459–2464.

**Auffermann-Gretzinger S**, Lossos IS, Vayntrub TA, Leong W, Grumet FC, Blume KG, Stockerl-Goldstein KE, Levy R, Shizuru JA. Rapid establishment of dendritic cell chimerism in allogeneic hematopoietic cell transplant recipients. *Blood* 2002;99:1442-8.

**Bacigalupo A**. Management of acute graft-versus-host disease. *Br J Haematol.* 2007 Apr;137(2):87-98.

**Banchereau J**, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998;392:245-52.

**Baron C**, Somogyi R, Greller LD, Prediction of graft-versus-host disease in humans by donor gene-expression profiling. *PLoS Med.* 2007;4(1):e23.

**Basuk PJ**, Scher RK. Onychomycosis in graft versus host disease. *Cutis* 1987; 40: 237–241.

**Benito AI**, Furlong T, Martin PJ, Anasetti C, Appelbaum FR, Doney K, Nash RA, Papayannopoulou T, Storb R, Sullivan KM, Witherspoon R, Deeg HJ. Sirolimus (rapamycin) for the treatment of steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Transplantation* 2001;72(12):1924-9.

**Berger CL**, Xu AL, Hanlon D, Lee C, Schechner J, Glusac E, Christensen I, Snyder E, Holloway V, Tigelaar R, Edelson RL. Induction of human tumor-loaded dendritic cells. *Int J Cancer* 2001;91:438-447.

**Billingham RE**. The biology of graft-versus-host reactions. *Harvey Lect.* 1966-1967;62:21-78.

**Bisaccia E**, Palangio M, Gonzalez J, Adler KR, Rowley SD, Goldberg SL. Treating refractory chronic graft-versus-host disease with extracorporeal photochemotherapy. *Bone Marrow Transplant.* 2003;31:291-294.

**Brunstein CG**, Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, Miller JS, Blazar BR, McGlave PB, Wagner JE. Umbilical cord blood transplantation after nonmyeloablative conditioning: impact on transplantation outcomes in 110 adults with hematologic disease. *Blood* 2007;110(8):3064-70.

**Cahn JY**, Klein JP, Lee SJ, Milpied N, Blaise D, Antin JH, Leblond V, Ifrah N, Jouet JP, Loberiza F, Ringden O, Barrett AJ, Horowitz MM, Socié G. Prospective evaluation of 2 acute graft-versus-host (GVHD) grading systems: a joint Société Française de Greffe de Moëlle et Thérapie Cellulaire (SFGM-TC), Dana Farber Cancer Institute (DFCI), and International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) prospective study. *Blood* 2005;106(4):1495-500.

**Carpenter PA**, Appelbaum FR, Corey L, Deeg HJ, Doney K, Gooley T, Krueger J, Martin P, Pavlovic S, Sanders J, Slattery J, Levitt D, Storb R, Woolfrey A, Anasetti C. A humanized non-FcR-binding anti-CD3 antibody, visilizumab, for treatment of steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Blood* 2002;99(8):2712-9.

**Clark FJ**, Gregg R, Piper K, Dunnion D, Freeman L, Griffiths M, Begum G, Mahendra P, Craddock C, Moss P, Chakraverty R. Chronic graft-versus-host disease is associated with increased numbers of peripheral blood CD4+CD25 high regulatory T-cells. *Blood* 2004;103:2410-2416.

**Cohen JL**, Trenado A, Vasey D, Klatzmann D, Salomon BL. CD4(+)CD25(+) immunoregulatory T Cells: new therapeutics for graft-versus-host disease. *J Exp Med.* 2002;196(3):401-6.

**Copelan EA**. Hematopoietic stem-cell transplantation. *N Engl J Med.* 2006;354(17):1813-26.

**Couriel DR**, Hicks S, Giralt S, Champlin RE. Role of tumor necrosis factor-alpha inhibition with infliximab in cancer therapy and hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Oncol*. 2000;12:582-587.

**Couriel DR**, Saliba RM, Giralt S, Khouri I, Andersson B, de Lima M, Hosing C, Anderlini P, Donato M, Cleary K, Gajewski J, Neumann J, Ippoliti C, Rondon G, Cohen A, Champlin R. Acute and chronic graft-versus-host disease after ablative and nonmyeloablative conditioning for allogeneic hematopoietic transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2004 a;10(3):178-85.

**Couriel DR**, Saliba RM, Hicks K, Ippoliti C, de Lima M, Hosing C, Khouri I, Andersson B, Gajewski J, Donato M, Anderlini P, Kontoyiannis DP, Cohen A, Martin T, Giralt S, Champlin R. Tumor necrosis factor-alpha blockade for the treatment of acute GVHD. *Blood* 2004 b;104(3):649-54.

**Couriel DR**, Hosing C, Saliba RM, Shpall EJ, Anderlini P, Rhodes B, Smith V, Khouri I, Giralt S, de Lima M, Hsu Y, Ghosh S, Neumann J, Andersson B, Qazilbash M, Hymes S, Kim S, Champlin R, Donato M. Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of steroid-resistant chronic GvHD. *Blood* 2006;107(8):3074-3080.

**Cridland NA**, Saunders RD. Cellular and molecular effects of UVA and UVB. Norwich 1994: HMSO.

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

**Cutler C**, Miklos D, Kim HT, Treister N, Woo SB, Bienfang D, Klickstein LB, Levin J, Miller K, Reynolds C, Macdonell R, Pasek M, Lee SJ, Ho V, Soiffer R, Antin JH, Ritz J, Alyea E. Rituximab for steroid-refractory chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2006;108(2):756-62.

**Dall'Amico R**, Messina C. Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of graft-versus-host disease. *Ther Apher* 2002;6:296-304.

**Deeg HJ**, Spitzer TR, Cottler-Fox M, Cahill R, Pickle LW. Conditioning-related toxicity and acute graft-versus-host disease in patients given methotrexate/cyclosporine prophylaxis. *Bone Marrow Transplant.* 1991;7(3):193-8.

**Deeg HJ.** How I treat refractory acute GvHD. *Blood* 2007;10(10):4119-4126.

**Devergie A.** Graft vs Host Disease. Genoa 2004: Forum Service Editore.

**Di Biaso I**, Di Maio L, Bugarin C, Gaipa G, Dander E, Balduzzi A, Parma M, D'Amico G, Perseghin P, Biondi A, Biagi E. Regulatory T Cells and Extracorporeal Photochemotherapy: Correlation With Clinical Response and Decreased Frequency of Proinflammatory T Cells. *Transplantation* 2009;87(9) :1422-1425.

**Dickinson AM**, Charron D. Non-HLA immunogenetics in hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Immunol.* 2005;17(5):517-25.

**Duffner UA**, Maeda Y, Cooke KR, Ressay P, Ordemann R, Liu C, Ferrarra JL, Teshima T. Host dendritic cells alone are sufficient to initiate acute graft-versus-host disease. *J Immunol* 2004;172:7393-8.

**Edelson R**, Berger C, Gasparro F, Jegasothy B, Heald P, Wintroub B, Vonderheid E, Knobler R, Wolff K, Plewig G, et al. Treatment of cutaneous T-cell lymphoma by extracorporeal photochemotherapy: preliminary results. *N Engl J Med* 1987;316:297-303.

**Edinger M**, Hoffmann P, Ermann J, Drago K, Fathman CG, Strober S, Negrin RS. CD4+CD25+ regulatory T cells preserve graft-versus-tumor activity while inhibiting graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *Nat Med.* 2003;9(9):1144-50.

**Eisner MD**, August CS. Impact of donor and recipient characteristics on the development of acute and chronic graft-versus-host disease following pediatric bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15: 663–668.

**Epler GR.** Bronchiolitis obliterans and airways obstruction associated with graft-versus-host disease. *Clin Chest Med* 1988; 9: 551–556.

**Ferrara JL,** Cooke KR, Deeg HJ, eds. *Graft-vs.-Host Disease*. 3<sup>rd</sup> ed. New York, NY: Marcel Dekker; 2005.

**Ferrara JL,** Reddy P. Pathophysiology of graft-versus-host disease. *Semin Hematol.* 2006;43:3–10.

**Filipovich AH,** Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, Martin P, Chien J, Przepiorka D, Couriel D, Cowen EW, Dinndorf P, Farrell A, Hartzman R, Henslee-Downey J, Jacobsohn D, McDonald G, Mittleman B, Rizzo JD, Robinson M, Schubert M, Schultz K, Shulman H, Turner M, Vogelsang G, Flowers ME. 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.* 2005;11(12):945-56.

**Finke J,** Bertz H, Schmoor C, Veelken H, Behringer D, Wasch R, Kunzmann R, Heidecker L, Lang H, Meyer-Konig U, Mertelsmann R. Allogeneic bone marrow transplantation from unrelated donors using in vivo anti-T-cell globulin. *Br J Haematol.* 2000;111(1):303-13.

**Flowers ME,** Parker PM, Johnston LJ, Matos AV, Storer B, Bensinger WI, Storb R, Appelbaum FR, Forman SJ, Blume KG, Martin PJ. Comparison of chronic graft-versus-host disease after transplantation of peripheral blood stem cells versus bone marrow in allogeneic recipients: long-term follow-up of a randomized trial. *Blood* 2002;100(2):415-9.

**Flowers ME,** Apperley JF, van Besien K, Elmaagacli A, Grigg A, Reddy V, Bacigalupo A, Kolb HJ, Bouzas L, Michallet M, Prince, HM, Knobler R, Parenti D, Gallo J, Greinix HT. A multicenter prospective phase 2 randomized study of extracorporeal photopheresis for treatment of chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2008; 112(7): 2667-2674.

**Foss FM.** The role of purine analogues in low-intensity regimens with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Semin Hematol.* 2006;43(2 Suppl 2):S35-43.

**Franklin RM,** Kenyon KR, Tutschka PJ, Saral R, Green WR, Santos GW. Ocular manifestations of graft-vs-host disease. *Ophthalmol* 1983.

**Fraser CJ,** Scott Baker K. The management and outcome of chronic graft-versus-host disease. *Br J Haematol.* 2007;138(2):131-45.

**Glucksberg H,** Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, Lerner KG, Thomas ED. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation* 1974;18(4):295-304.

**Gratwohl A,** Baldomero H, Schwendener A, Gratwohl M, Apperley J, Niederwieser D, Frauendorfer K; Joint Accreditation Committee of the International Society of Cellular Therapy; European Group for Blood and Marrow Transplantation; European Leukemia Net. Predictability of hematopoietic stem cell transplantation rates. *Haematologica* 2007;92(12):1679-86.

**Greinix HT,** Knobler RM, Worel N, Schneider B, Schneeberger A, Hoecker P, Mitterbauer M, Rabitsch W, Schulenburg A, Kalhs P. The effect of intensified extracorporeal photochemotherapy on long-term survival in patients with severe acute graft-versus-host disease. *Haematologica* 2006;91:405-408.

**Häusermann P,** Walter RB, Halter J, Biedermann BC, Tichelli A, Itin P, Gratwohl A. Cutaneous Graft-versus-Host Disease: A Guide for the Dermatologist. *Dermatology* 2008;216:287-304.

**Heshmati F.** Mechanisms of action of extracorporeal photopchemotherapy. *Transfus Apher Sci.* 2003;29(1):61-70.

**Hill G**, Ferrarra JL. The primacy of the gastrointestinal tract as a target of acute graft-versus-host disease: rationale for the use of cytokine shields in allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 2000;95:2754-9.

**Hoffmann P**, Ermann J, Edinger M, Fathman CG, Strober S. Donor-type CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Regulatory T Cells Suppress Lethal Acute Graft-Versus-Host Disease after Allogeneic Bone Marrow Transplantation. *J Exp Med*. 2002;196(3):389-99.

**Holler E**, Ledderose G, Knabe H, Muth A, Gunther C, Wilmanns W, Kolb HJ. ATG serotherapy during pre-transplant conditioning in unrelated donor BMT: dose-dependent modulation of GvHD. *Bone Marrow Transplant*. 1998;21:105a.

**Hsu B**, May R, Carrum G, Krance R, Prepiorka D. The criteria for steroid-refractory acute graft-versus host disease: an international practice survey. *Blood* 2001;98:663a(abstr 2779).

**Jacobsohn DA**, Chen AR, Zahurak M, Piantadosi S, Anders V, Bolaños-Meade J, Higman M, Margolis J, Kaup M, Vogelsang GB. Phase II study of pentostatin in patients with corticosteroid-refractory chronic graft-versus-host disease. *J Clin Oncol*. 2007 a;25(27):4255-61.

**Jacobsohn DA**, Vogelsang GB. Acute graft versus host disease. *Orphanet J Rare Dis*. 2007 b;2:35.

**Johnson ML**, Farmer ER: Graft-versus-host reactions in dermatology. *J Am Acad Dermatol* 1998;38:369-392.

**Jurado M**, Vallejo C, Pérez-Simón JA, Brunet S, Ferra C, Balsalobre B, Pérez-Oteyza J, Espigado I, Romero A, Caballero D, Sierra J, Ribera JM, Diez JL. Sirolimus as part of immunosuppressive therapy for refractory chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007;13(6):701-6.

**Kanda Y**, Chiba S, Hirai H, Sakamaki H, Iseki T, Kodera Y, Karasuno T, Okamoto S, Hirabayashi N, Iwato K, Maruta A, Fujimori Y, Furukawa T, Mineishi S, Matsuo K,

Hamajima N, Imamura M. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from family members other than HLA-identical siblings over the last decade (1991-2000). *Blood* 2003;102(4):1541-7.

**Kanda Y**, Hyo R, Yamashita T, Fujimaki K, Oshima K, Onoda M, Mori T, Sakura T, Tanaka M, Sakai M, Taguchi J, Kurakawa M; Maruta A, Okamoto S, Sakamaki H, Kanto Study Group of Cell Therapy. Effect of blood cyclosporine concentration on the outcome of hematopoietic stem cell transplantation from an HLA-matched sibling donor. *Am J Hematol.* 2006;81(11):838-44.

**Kansu E**, Gooley T, Flowers ME, Anasetti C, Deeg HJ, Nash RA, Sanders JE, Witherspoon RP, Appelbaum FR, Storb R, Martin PJ. Administration of cyclosporine for 24 months compared with 6 months for prevention of chronic graft-versus-host disease: a prospective randomized clinical trial. *Blood* 2001;98(13):3868-70.

**Kim SS.** Treatment options in steroid-refractory acute graft-versus-host disease following hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Pharmacother.* 2007;41(9):1436-44.

**Kottaridis PD**, Chakraverty R, Milligan DW, Chakrabarti S, Robinson S, Chopra R, Pettengell R, Marsh J, Mahendra P, Schey S, Morgan G, Williams C, Hale G, Waldmann H, Linch DC, Devereux S, Glodstone AH, Mackinnon S. A non-myeloablative regimen for allogeneic stem cell transplantation with a low incidence of GvHD. *Bone Marrow Transplant.* 2000;25:S26.

**Krensky AM**, Weiss A, Crabtree G, Davis MM, Parham P. T-lymphocyte-antigen interactions in transplant rejection. *N Engl J Med* 1990;322:510-7.

**Le Blanc K**, Remberger M, Uzunel M, Mattsson J, Barkholt L, Ringdén O. A comparison of nonmyeloablative and reduced-intensity conditioning for allogeneic stem-cell transplantation. *Transplantation* 2004;78(7):1014-20.

**Le Blanc K**, Frassoni F, Ball L, Lanino E, Sundberg B, Lonnie L, Roelofs H, Dini G, Bacigalupo A, Locatelli F, Fibbe WF, Ringden O. Mesenchymal stem cells for

treatment of severe acute graft-versus-host disease. *Blood* (ASH Annual Meeting Abstract) 2006;108:5304a.

**Lee SJ**, Vogelsang G, Flowers ME. Chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2003;9(4):215-33.

**Lee SJ**. New approaches for preventing and treating chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2005;105(11):4200-6.

**Ljungman P**, Urbano-Ispizua A, Cavazzana-Calvo M, Demirer T, Dini G, Einsele H, Gratwohl A, Madrigal A, Niederwieser D, Passweg J, Rocha V, Saccardi R, Schouten H, Schmitz N, Socie G, Sureda A, Apperley J; European Group for Blood and Marrow. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions and current practice in Europe. *Bone Marrow Transplant*. 2006;37(5):439-49.

**Lorenz E**, Uphoff D, Reid TR, Shelton E. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. *J Natl Cancer Inst*. 1951;12(1):197-201.

**Lowsky R**, Takahashi T, Liu YP, Dejbakhsh-Jones S, Grumet FC, Shizuru JA, Laport GG, Stockerl-Goldstein KE, Johnston LJ, Hoppe RT, Bloch DA, Blume KG, Negrin RS, Strober S. Protective conditioning for acute graft-versus-host disease. *N Engl J Med*. 2005;353(13):1321-31.

**Lundin J**, Osterborg A. Therapy for mycosis fungoides. *Curr Treat Options Oncol*. 2004;5:203-214.

**MacDonald KP**, Rowe V, Clouston AD, Welply JK, Kuns RD, Ferrarra JL, Thomas R, Hill GR. Cytokine expanded myeloid precursors function as regulatory antigen-presenting cells and promote tolerance through IL-10-producing regulatory T cells. *J Immunol*. 2005;174(4):1841-50.

**Maeda A**, Schwarz A, Kernebeck K, Gross N, Aragane Y, Peritt D, Schwarz T. Intravenous infusion of syngeneic apoptotic cells by photopheresis induces antigen-specific regulatory T cells. *J Immunol* 2005;174:5968-5976.

**Maeda Y**, Reddy P, Lowler KP, Liu C, Bishop DK, Ferrarra JL. Critical role of host gammadelta T cells in experimental acute graft-versus-host disease. *Blood* 2005;106(2):749-55.

**Margolis J**, Vogelsang G. An old drug for a new disease: pentostatin (Nipent) in acute graft-versus-host disease. *Semin Oncol.* 2000;27(2 Suppl 5):72-7.

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

**Marshall SR**. Technology Insight: ECP for treatment of GvHD – can we offer selective immune control without generalized immunosuppression? *Nat Clin Pract Oncol.* 2006;3(6):302-314.

**Martin PJ**, Schoch G, Fisher L, Byers V, Anasetti C, Appelbaum FR, Beatty PG, Doney K, McDonald GB, Sanders JE, et al. A retrospective analysis of therapy for acute graft-versus-host disease: initial treatment. *Blood* 1990;76(8):1464-72.

**Martin PJ**, McDonald GB, Sanders JE, Anasetti C, Appelbaum FR, Deeg HJ, Nash RA, Petersdorf EW, Hansen JA, Storb R. Increasingly frequent diagnosis of acute gastrointestinal graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2004;10:320–327.

**Martino R**, Romero P, Subirá M, Bellido M, Altés A, Sureda A, Brunet S, Badell I, Cubells J, Sierra J. Comparison of the classic Glucksberg criteria and the IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease following HLA-identical sibling stem cell transplantation. *International Bone Marrow Transplant Registry. Bone Marrow Transplant.* 1999;24(3):283-7.

**Marty FM**, Lee SJ, Fahey MM, Alyea EP, Soiffer RJ, Antin JH, Baden LR. Infliximab use in patients with severe graft-versus-host disease and other emerging risk factors of non-Candida invasive fungal infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients: a cohort study. *Blood* 2003;102(8):2768-76.

**McDonald GB**, Sullivan KM, Schuffler MD, Shulman HM, Thomas ED. Esophageal abnormalities in chronic graft-versus-host disease in humans. *Gastroenterol* 1981; 80: 914–921.

**McDonald GB**. Review article: management of hepatic disease following haematopoietic cell transplant. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;24:441–452.

**Mielcarek M**, Martin PJ, Leisenring W, Flowers ME, Maloney DG, Sandmaier BM, Maris MB, Storb R. Graft-versus-host disease after nonmyeloablative versus conventional hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2003;102(2):756-62.

**Mielcarek M**, Storb R. Graft-vs-host disease after non-myeloablative hematopoietic cell transplantation. *Leuk Lymphoma* 2005;46(9):1251-60.

**Miller KB**, Roberts TF, Chan G, Schenkein DP, Lawrence D, Sprague K, Gorgun G, Relias V, Grodman H, Mahajan A, Foss FM. A novel reduced intensity regimen for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation associated with a reduced incidence of graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.* 2004;33:881-889.

**Mohty M**, de Lavallade H, Faucher C, Bilger K, Vey N, Stoppa AM, Gravis G, Coso D, Viens P, Gastaut JA, Blaise D. Mycophenolate mofetil and cyclosporine for graft-versus-host disease prophylaxis following reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2004;34(6):527-30.

**Morison WL**. Psoralen ultraviolet A therapy in 2004. *Phorodermatol Photoimmunol Photomed* 2004;20:315-320.

**Murphy PM**, Baggiolini M, Charo IF, Hebert CA, Horuk R, Matsushima K, Miller LH, Oppenheim JJ, Power CA. International union of pharmacology, XXII: nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacol Rev.* 2000;52: 145-176.

**Nachbaur D**, Kircher B, Eisendle K, Latzer K, Haun M, Gastl G. Phenotype, function and chimaerism of monocyte-derived blood dendritic cells after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2003;123:119-26.

**Nash RA**, Pepe MS, Storb R, Longton G, Pettinger M, Anasetti C, Appelbaum FR, Bowden RA, Deeg HJ, Doney K. Acute graft-versus-host disease: analysis of risk factors after allogeneic marrow transplantation and prophylaxis with cyclosporine and methotrexate. *Blood* 1992;80(7):1838-45.

**Nash RA**, Antin JH, Karanes C, Fay JW, Avalos BR, Yeager AM, Przepiorka D, Davies S, Petersen FB, Bartels P, Buell D, Fitzsimmons W, Anasetti C, Storb R, Ratanatharathorn V. Phase 3 study comparing methotrexate and tacrolimus with methotrexate and cyclosporine for prophylaxis of acute graft-versus-host disease after marrow transplantation from unrelated donors. *Blood* 2000;96(6):2062-8.

**Neumann F**, Graef T, Tapprich C, Vaupel M, Steidl U, Germing U, Fenk R, Hinke A, Haas R, Kobbe G. Cyclosporine A and mycophenolate mofetil vs cyclosporine A and methotrexate for graft-versus-host disease prophylaxis after stem cell transplantation from HLA-identical siblings. *Bone Marrow Transplant.* 2005;35(11):1089-93.

**Niederwieser D**, Maris M, Shizuru JA, Petersdorf E, Hegenbart U, Sandmaier BM, Maloney DG, Storer B, Lange T, Chauncey T, Deininger M, Pönisch W, Anasetti C, Woolfrey A, Little MT, Blume KG, McSweeney PA, Storb RF. Low-dose total body irradiation (TBI) and fludarabine followed by hematopoietic cell transplantation (HCT) from HLA-matched or mismatched unrelated donors and postgrafting immunosuppression with cyclosporine and mycophenolate mofetil (MMF) can induce durable complete chimerism and sustained remissions in patients with hematological diseases. *Blood* 2003;101(4):1620-9.

**Ordemann R**, Hutchinson R, Friedman J, Burakoff SJ, Reddy P, Duffner U, Braun TM, Liu C, Teshima T, Ferrarra JL. Enhanced allostimulatory activity of host antigen-presenting cells in old mice intensifies acute graft-versus-host disease. *J Clin Invest.* 2002;109(9):1249-56.

**Owsianowski M**, Gollnick H, Siegert W, Schwerdtfeger R, Orfanos CE. Successful treatment of chronic graft-versus-host disease with extracorporeal photopheresis. *Bone Marrow Transplant* 1994;14:845-848.

**Parrish JA**, Fitzpatrick TB, Tanenbaum L, Pathak MA. Photochemotherapy of psoriasis with oral methoxsalen and longwave ultraviolet light. *N Engl J Med.* 1974;291(23):1207-11.

**Perfetti P**, Carlier P, Strada P, Gualandi F, Occhini D, Van Lint MT, Ibatici A, Lamparelli T, Bruno B, Raiola AM, Dominiotto A, Di Grazia C, Bregante S, Zia S, Ferrari GM, Stura P, Pogliani E, Bacigalupo A. Extracorporeal photopheresis for the treatment of steroid refractory acute GvHD. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 42(9):609-17.

**Peritt D.** Potential mechanisms of photopheresis in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2006;12(1 Supl 2):7-12.

**Petersorf EW**, Malkki M. Genetics of risk factors for graft-versus-host disease. *Semin Hematol* 2006;43:11-23.

**Przepiorka D**, Weisdorf D, Martin P, Klingemann HG, Beatty P, Hovs J, Thomas ED. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant.* 1995;15(6):825-8.

**Przepiorka D**, Smith TL, Folloder J, Khouri I, Ueno NT, Mehra R, Körbling M, Huh YO, Giralt S, Gajewski J, Donato M, Cleary K, Claxton D, Braunschweig I, van Besien K, Andersson BS, Anderlini P, Champlin R. Risk factors for acute graft-versus-host disease after allogeneic blood stem cell transplantation. *Blood* 1999;94(4):1465-70.

**Ratanatharathorn V**, Ayash L, Lazarus HM, Fu J, Uberti JP. Chronic graft-versus-host disease: clinical manifestation and therapy. *Bone Marrow Transplant.* 2001;28(2):121-9.

**Redding SW**, Callander NS, Haveman CW, Leonard DL. Treatment of oral chronic graft-versus-host disease with PUVA therapy: case report and literature review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endo* 1998;86: 183–187.

**Reddy P**, Ferrarra JL. Immunobiology of acute graft-versus-host disease. *Blood Rev.* 2003;17(4):187-94.

**Ringden O**, Uzunel M, Rasmusson I, Remberger M, Sundberg B, Lonnie H, Marschall HU, Dlugosz A, Szakos A, Hassan Z, Omazic B, Aschan J, Barkholt L, Le Blanc K. Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease. *Transplantation.* 2006;81(10):1390-7.

**Ross WA**, Couriel D. Colonic graft-versus-host disease. *Curr Opin Gastroenterol.* 2005;21(1):64-9.

**Rossetti F**, Dall'Amico R, Crovetti G, Messina C, Montini G, Dini G, Locatelli F, Argioli F, Miniero R, Zacchello G. Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.* 1996;18(Suppl.2):175-181.

**Rowe V**, Banovic T, MacDonald KP, Kuns R, Don AL, Morris ES, Burman AC, Bofinger HM, Clouston AD, Hill GR. Host B cells produce IL-10 following TBI and attenuate acute GVHD after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 2006;108(7):2485-92.

**Rowlings PA**, Przepiorka D, Klein JP, Gale RP, Passweg JR, Henslee-Downey PJ, Cahn JY, Calderwood S, Gratwohl A, Socié G, Abecasis MM, Sobocinski KA, Zhang MJ, Horowitz MM. IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease: retrospective comparison with Glucksberg grade. *Br J Haematol.* 1997;97(4):855-64.

**Sakaguchi S**, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing Il-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol.* 1995;155:1151-1164.

**Saliba RM**, de Lima M, Giralt S, Andersson B, Khouri IF, Hosing C, Ghosh S, Neumann J, Hsu Y, De Jesus J, Qazilbash MH, Champlin RE, Couriel DR. Hyperacute GVHD: risk factors, outcomes, and clinical implications. *Blood* 2007;109(7):2751-8.

**Savill J**, Dransfield I, Gregory C, Haslett C. A blast from the past : clearance of apoptotic cells regulates immune responses. *Nat Rev Immunol.* 2002;2:965-975.

**Schleuning M**. Adoptive allogeneic immunotherapy – history and future perspectives. *Transfus Sci* 2000; 23:133-150.

**Schmid C**, Schleuning M, Schwerdtfeger R, Hertenstein B, Mischak-Weissinger E, Bunjes D, v. Harsdorf S, Scheid C, Holtick U, Greinix H, Keil F, Schneider B, Sandherr M, Bug G, Tischer J, Ledderose G, Hallek M, Hiddemann W, Kolb HJ. Long-term survival in refractory acute myeloid leukemia after sequential treatment with chemotherapy and reduced-intensity conditioning for allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2006;108(3):1092-9.

**Shevach EM**. Certified professionals: CD4(+)CD25(+) suppressor T cells. *J Exp Med.* 2001;193(11):F41-6.

**Shlomchik WD**, Couzens MS, Tang CB, McNiff J, Robert ME, Liu J, Shlomchik MJ, Emerson SG. Prevention of graft versus host disease by inactivation of host antigen-presenting cells. *Science* 1999;285(5426):412-5.

**Storb R**, Deeg HJ. Whitehead J, Appelbaum F, Beatty P, Bensinger W, Buckner CD, Clift R, Doney K, Farewell V et al. Methotrexate and cyclosporine compared with cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft versus host disease after marrow transplantation for leukemia. *N Engl J Med.* 1986;314(12):729-35.

**Strasser SI**, Sullivan KM, Myerson D, Spurgeon CL, Storer B, Schoch HG, Murakami CS, Mc Donald GB. Cirrhosis of the liver in long-term marrow transplant survivors. *Blood* 1999;93: 3259–3266.

**Suchin KR**, Cassin M, Washko R, Nahass G, Berkson M, Stouch B, Vowels BR, Rook AH. Extracorporeal photochemotherapy does not suppress T- or B-cell responses to novel or recall antigens. *J Am Acad Dermatol.* 1999;41:980-986.

**Suchin KR**, Cucchiara AJ, Gottleib SL, Wolfe JT, DeNardo BJ, Macey WH, Bromley PG, Vittorio CC, Rook AH. Treatment of cutaneous T-cell lymphoma with combined immunomodulatory therapy: a 14-year experience at a single institution. *Arch Dermatol.* 2002;138(8):1054-60.

**Sullivan KM**, Witherspoon RP, Storb R, Deeg HJ, Dahlberg S, Sanders JE, Appelbaum FR, Doney KC, Weiden P, Anasetti C et al. Alternating-day cyclosporine and prednisone for treatment of high-risk chronic graft-v-host disease. *Blood* 1988;72(2):555-61.

**Taylor PA**, Lees CJ, Blazar BR. The infusion of ex vivo activated and expanded CD4(+)CD25(+) immune regulatory cells inhibits graft-versus-host disease lethality. *Blood* 2002;99(10):3493-9.

**Tian Y**, Deng YB, Huang YJ, Wang Y. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells decrease acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cells transplantation. *Immunol Invest.* 2008;37(1):29-42.

**Truitt RL**, Johnson BD, Hanke C, Talib S, Hearst JE. Photochemical treatment with S-59 psoralen and ultraviolet A light to control the fate of naive or primed T lymphocytes in vivo after allogeneic bone marrow transplantation. *J Immunol.* 1999;163(9):5145-56.

**Tse S**, Saunders EF, Silverman E, Vajsar J, Becker L, Meaney B. Myasthenia gravis and polymyositis as manifestations of chronic graft-versus-host-disease. *Bone Marrow Transplant* 1999; 23: 397–399.

**Tse WT**, Pendleton JD, Beyer WM, Egalka MC, Guinan EC. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation. *Transplantation* 2003;75(3):389-97.

**Tzakis AG**, Abu-Elmagd K, Fung JJ, Bloom NB, Greif F, Starzl TE. FK506 rescue in chronic graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *Transplant Proc.* 1991;23:3225-3227.

**Uberti JP**, Ayash L, Braun T, Reynolds C, Silver S, Ratanatharathorn V. Tacrolimus as monotherapy or combined with minidose methotrexate for graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: long-term outcomes. *Bone Marrow Transplant.* 2004;34(5):425-31.

**Uberti JP**, Ayash L, Ratanatharathorn V, Silver S, Reynolds C, Becker M, Reddy P, Cooke KR, Yanik G, Whitfield J, Jones D, Hutchinson R, Braun T, Ferrarra JL, Levine JE. Pilot trial on the use of etanercept and methylprednisolone as primary treatment for acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2005;11(9):680-7.

**Van Bekkum DW**, de Fries MJ. *Radiation Chimaeras*. London: Logo Press; 1967.

**Van Lint MT**, Uderzo C, Locasciulli A, Majolino I, Scimé R, Locatelli F, Giorgiani, Arcese GW, Iori AP, Falda M, Locatelli F, Bosi A, Miniero R, Alessandrino P, Dini G, Rotoli B, Bacigalupo A for the Italian Group of Bone Marrow Transplantation (GITMO). Early treatment of acute graft-versus-host disease with high- or low-dose 6-methylprednisolone: a multicenter randomized trial from the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. *Blood* 1998;92(7):2288-93.

**Van Lint MT**, Milone G, Leotta S, Uderzo C, Scime R, Dallorso S, Locasciulli A, Guidi S, Mordini N, Sica S, Cudillo L, Fagioli F, Selleri C, Bruno B, Arcese W, Bacigalupo A. Treatment of acute graft-versus-host disease with prednisolone: significant survival advantage for day +5 responders and no advantage for nonresponders receiving anti-thymocyte globulin. *Blood* 2006;107(10):4177-81.

**Vogelsang GB.** How I treat chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2001;97(5):1196-201.

**Wagner JL,** Flowers ME, Longton G et al. The development of chronic graft-versus-host disease: an analysis of screening studies and the impact of corticosteroid use at 100 days after transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1998; 22: 139–146.

**Weisdorf D,** Haake R, Blazar B, Miller W, McGlave P, Ramsay N, Kersey J, Filipovich A. Treatment of moderate/severe acute graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation: an analysis of clinical risk features and outcome. *Blood* 1990;75(4):1024-30.

**Welniak LA,** Wang Z, Sun K, Kuziel W, Anver MR, Blazar BR, Murphy WJ. An absence of CCR5 on donor cells results in acceleration of acute graft-vs-host disease. *Exp Hematol.* 2004;32(3):318-24.

**Wingard JR,** Piantadosi S, Vogelsang GB et al. Predictors of death from chronic graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *Blood* 1989;74: 1428–1435.

**Wojnar J,** Giebel S, Krawczyk-Kulis M, Markiewicz M, Kruzel T, Wylezol I, Czerw T, Seweryn M, Holowiecki J. Acute graft-versus-host disease. The incidence and risk factors. *Ann Transplant.* 2006;11(1):16-23.

**Wysocki CA,** Burkett SB, Panoskaltsis-Mortari A, Kirby SL, Luster AD, McKinnon KP, Blazar BR, Serody JS. Differential roles for CCR5 expression on donor T cells during graft-versus-host disease based on pretransplant conditioning. *J Immunol.* 2004;173(2):845-54.

**Wysocki CA,** Jiang Q, Panoskaltsis-Mortari A, Taylor PA, McKinnon KP, Su L, Blazar BR, Serody JS. Critical role for CCR5 in the function of donor CD4+CD25+ regulatory T cells during acute graft-versus-host disease. *Blood* 2005;106(9):3300-7.

**Zander AR**, Zabelina T, Kroger N, Renges H, Kruger W, Loliger C, Durken M, Stockschlader M, de Wit M, Wacker-Backhaus G, Bielak S, Jaburg N, Russmann B, Erttmann R, Kabisch H. Use of a five-agent GVHD prevention regimen in recipients of unrelated donor marrow. *Bone Marrow Transplant.* 1999;23(9):889-93.

**Zikos P**, van Lint MT, Frassoni F, Lamparelli T, Gualandi F, Occhini D, Mordini N, Berisso G, Bregante S, De Stefano F, Soracco M, Vitale V, Bacigalupo A. Low transplant mortality in allogeneic bone marrow transplantation for acute myeloid leukemia: a randomized study of low-dose cyclosporin versus low-dose cyclosporin and low-dose methotrexate. *Blood* 1998;91(9):3503-8.

**Zorn E**, Kim HT, Lee SJ, Floyd BH, Litsa D, Arumugarajah S, Bellucci R, Alyea EP, Antin JH, Soiffer RJ, Ritz J. Reduced frequency of FOXP3+ CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2005;106(8):2903-11.

## 10 Danksagung

Mein Dank gilt an erster Stelle Herrn Prof. Dr. Hans-Jochem Kolb für die Bereitstellung des Themas sowie die Möglichkeit, an dieser Auswertung zu arbeiten und die Dissertation unter seiner Leitung zu verfassen. Vor allem bedanken möchte ich mich für die bereichernde Unterstützung und die zahlreichen konstruktiven Anregungen bei der Analyse der Patientendaten.

Mein besonderer Dank gilt außerdem Herrn Dr. Georg Ledderose, der jederzeit ermutigend und hilfreich sowohl fachliche als auch menschliche Unterstützung bei der Fertigstellung der Arbeit geleistet hat. Manch schwierige Situation konnte durch seine aufbauenden Worte schnell überwunden werden.

Nicht weniger möchte ich mich herzlichst bei Frau Dr. Johanna Tischer bedanken, die mein Interesse für die Thematik dieser Arbeit geweckt hat und mir stets aufmunternd mit Rat und Tat zur Seite stand. Durch ihre fachkompetenten Ratschläge hat sie wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Bedanken möchte ich mich bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der José-Carreras-Transplantationseinheit für ihre Hilfsbereitschaft und verständnisvolle Kooperation bei der Erhebung und Auswertung der Patientendaten. Mein Dank gilt außerdem der Fotoabteilung des Klinikums für die Erstellung und Bereitstellung der Patientenphotographien.

Großer Dank gebührt Herrn Dr. Markus Pfirrmann für die kompetente Hilfe bei der statistischen Aufarbeitung der Daten.

Meiner Familie und meinen Freunden danke ich für ihre zu jeder Zeit positive und konstruktive Hilfe, ihren uneingeschränkten Rückhalt und ihre motivierenden Ratschläge während der gesamten Zeit der Arbeit.

## 11 Lebenslauf

### Persönliche Daten:

Name	Fritsch
Vorname	Susanne
Geburtsdatum	09. Juni 1979
Geburtsort	Schrobenhausen

### Schullaufbahn:

1985-1989	Grundschule Schrobenhausen
1989-1996	Gymnasium Schrobenhausen (5.-11. Jahrgangsstufe)
1996- 1998	Reuchlin-Gymnasium Ingolstadt (12.-13.Jahrgangsstufe)
1998	Allgemeine Hochschulreife

### Studium:

ab 11/1998	Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
03/2001	Physikum
03/2002	Erster Teil des Medizinischen Staatsexamens
03/2004	Zweiter Teil des Medizinischen Staatsexamens
04/2005	Dritter Teil des Medizinischen Staatsexamens

### Klinische Tätigkeit:

04/2004-03/2005	Praktisches Jahr an den Kliniken der LMU München <ul style="list-style-type: none"><li>- Chirurgische Klinik Nussbaumstrasse, Abteilungen für Intensivmedizin, Visceralchirurgie und Notfallambulanz</li><li>- Klinikum Großhadern, III. Medizinische Klinik und Poliklinik</li><li>- Klinikum Großhadern, Neonatologie</li></ul>
-----------------	---

Seit 15.06.2005 Assistenzärztin an der Medizinischen Klinik und Poliklinik III der LMU München, Hämatologie und Onkologie (Direktor: Prof. Dr. W. Hiddemann)

**Wissenschaftliche Tätigkeit:**

Seit 06/2005 Mitglied in der Arbeitsgruppe „AML“ der III. Medizinischen Klinik, Schwerpunkt: Therapie der AML bei „Medically-non-fit“ Patienten

Seit 04/2008 Promotion an der III. Medizinischen Klinik der LMU München, Klinikum Großhadern, José-Carreras-Transplantationseinheit: „Extrakorporale Photopherese als Therapie der akuten steroidrefraktären Graft-versus-Host Disease (GvHD) nach allogener hämatopoetischer Zelltransplantation“ unter Leitung von Prof. Dr. H.-J. Kolb

Seit 04/2008 Mitglied in der Arbeitsgruppe „Hämatopoetische Stammzelltransplantation“

**Publikationen:**

10/2006 Diagnostics and therapy of acute myeloid leukemia; Fritsch S, Metzeler K, Hiddemann W, Buske C, Deutsche Medizinische Wochenschrift Oktober 2006 27;131(43):2401-6

04/2007 Therapy of acute myeloid leukemia (AML) for medically non-fit patients; Fritsch S, Buske C, Wörmann B, Wedding U, Hiddemann W, Spiekermann K. Med. Klinik, April 2007 15;102(4):324-9

05/2009 NPM1 but not FLT3-ITD mutations predict early blast cell clearance and CR rate in patients with normal karyotype AML (NK-AML) or high-risk myelodysplastic syndrome (MDS); Schneider F, Hoster E, Unterhalt M, Schneider S, Dufour A, Benthaus T, Mellert G, Zellmeier E, Bohlander SK, Feuring-Buske M, Buske C, Braess J, Fritsch S,

Heinecke A, Sauerland MC, Berdel WE, Buechner T, Woermann BJ, Hiddemann W, Spiekermann K. Blood 2009 May 21,113(21):5250-3.