

**Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II  
der Universität Würzburg**

**Direktor: Prof. Dr. med. Hermann Einsele**

**Identifizierung von Risikofaktoren für die Invasive Aspergillose  
bei immunsupprimierten Patienten  
nach haploidenter Stammzelltransplantation  
im Vergleich zu einer Kontrollgruppe**

**Inaugural - Dissertation**

**zur Erlangung der Doktorwürde der**

**Medizinischen Fakultät**

**der**

**Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

**vorgelegt von**

**Daniela Krauß**

**aus Rödelmaier**

**Fürth, Januar 2015**

**Referent:** Prof. Dr. Jürgen Löffler  
**Korreferent:** Prof. Dr. Matthias Eyrich  
**Dekan:** Prof. Dr. Matthias Frosch

**Datum der mündlichen Prüfung: 07.10.2015**

**Die Promovendin ist Zahnärztin.**

# Inhaltsverzeichnis

## **Inhaltsverzeichnis**

Inhaltsverzeichnis .....	III
Abbildungsverzeichnis .....	VI
Tabellenverzeichnis .....	VIII
Abkürzungsverzeichnis .....	X
1 Einleitung .....	1
1.1 Hämatopoese .....	2
1.2 Immunologische Grundlagen .....	3
1.3 Stammzelltransplantation .....	5
1.3.1 Formen der Stammzelltransplantation .....	5
1.3.2 Indikationen für die Stammzelltransplantation .....	5
1.3.3 Stammzellmobilisierung und -apherese .....	6
1.3.4 Konditionierungstherapie und Immunsuppression.....	7
1.3.5 Nachsorge.....	8
1.4 Graft-versus-Host Disease.....	9
1.4.1 Definition und Ätiologie .....	9
1.4.2 Pathophysiologie der GvHD .....	9
1.4.3 Akute GvHD .....	10
1.4.4 Chronische GvHD .....	12
1.4.5 Graft-versus-Tumor Effekt und Graft-versus-Leukämie Effekt .....	13
1.4.6 Prophylaxe und Therapie .....	14
1.5 Invasive Aspergillose .....	15
1.5.1 Risikofaktoren, Erreger, Symptome und Diagnose.....	16
1.5.2 Antimykotische Prophylaxe und Therapie .....	17
1.6 Ziele dieser Arbeit.....	19
2 Patienten und Methoden.....	22

## Inhaltsverzeichnis

2.1	Patienten .....	22
2.1.1	Versuchsgruppe .....	22
2.1.2	Kontrollgruppe .....	23
2.2	Methoden.....	23
2.2.1	Patientenunterteilung nach Erhalt der GvHD-Prophylaxe und Testverfahren zur Überprüfung des Risikofaktors GvHD-Prophylaxe-Gabe für die Entwicklung der IA .....	29
2.2.2	Patientenunterteilung nach Erhalt der Antimykotischen Prophylaxe und Testverfahren zur Überprüfung des Zusammenhangs zwischen Antimykotischer Prophylaxe-Gabe und IA.....	31
2.2.3	Einstufung der Vorerkrankungen gemäß Sorrow-Score und Testverfahren zur Überprüfung des Risikofaktors Vorerkrankung für die Entstehung der IA.....	33
2.2.4	Patientenunterteilung nach Art der Stammzellspende und Testverfahren zur Überprüfung des Zusammenhangs zwischen Art der Stammzellspende und Erkrankung an IA.....	36
2.2.5	Zusammenhang zwischen der Wiederherstellung des hämatopoetischen Systems und dem Auftreten der IA .....	37
2.2.6	Testverfahren zur Überprüfung des Zusammenhangs zwischen Wiederherstellung des hämatopoetischen Systems und der Art der Stammzellspende.....	39
2.2.7	Einfluss eines einzelnen Risikofaktors auf die Entstehung der IA in Abhängigkeit aller anderen Risikofaktoren.....	40
3	Ergebnisse .....	42
3.1	GvHD-Prophylaxe als möglicher Risikofaktor .....	42
3.2	Protektiver Faktor Antimykotische Prophylaxe .....	45
3.3	Vorerkrankungen als mögliche Risikofaktoren.....	48
3.4	Zusammenhang zwischen Art der Stammzellspende und Auftreten der IA.....	51
3.5	Zusammenhang zwischen der Wiederherstellung des hämatopoetischen Systems und dem Auftreten der Invasiven Aspergillose.....	52

## Inhaltsverzeichnis

3.5.1	Ergebnisse der Versuchsgruppe .....	52
3.5.2	Ergebnisse der Kontrollgruppe.....	55
3.6	Zusammenhang zwischen Wiederherstellung des hämatopoetischen Systems und der Art der Stammzellspende.....	57
3.6.1	Ergebnisse der Patienten ohne IA .....	57
3.6.2	Ergebnisse der an IA erkrankten Patienten .....	61
3.7	Einfluss eines einzelnen Faktors auf die Entstehung der IA in Abhängigkeit aller anderen Faktoren .....	63
4	Diskussion .....	64
4.1	Risikofaktor GvHD-Prophylaxe.....	65
4.2	Protektiver Faktor Antimykotische Prophylaxe.....	68
4.3	Risikofaktor Vorerkrankungen.....	69
4.4	Zusammenhang zwischen Art der Stammzellspende und Auftreten der IA.....	70
4.5	Zusammenhang zwischen Wiederherstellung des hämatologischen Systems und Auftreten der IA.....	71
4.6	Zusammenhang zwischen Wiederherstellung des hämatologischen Systems und Art der Stammzellspende.....	74
4.7	Einfluss eines einzelnen Faktors auf die Entstehung der IA in Abhängigkeit aller anderen Faktoren .....	76
5	Zusammenfassung.....	77
6	Literaturverzeichnis.....	79
7	Danksagung	
8	Lebenslauf	

## Abbildungsverzeichnis

### Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Die Hämatopoese (Reiche, 2003).....	3
Abbildung 2:	Drei-Phasen-Modell der GvHD Pathophysiologie (Ferrara, Levine et al., 2009).....	10
Abbildung 3:	Einteilung der Patienten der Kontrollgruppe nach Erhalt der GvHD-Prophylaxe.....	30
Abbildung 4:	Einteilung der Patienten der Versuchsgruppe nach Erhalt der GvHD-Prophylaxe.....	30
Abbildung 5:	Einteilung der Patienten der Kontrollgruppe nach Erkrankung an IA.....	31
Abbildung 6:	Einteilung der Patienten der Versuchsgruppe nach ihrer Erkrankung an IA.....	31
Abbildung 7:	Einteilung der Patienten der Kontrollgruppe nach Erhalt der Antimykotischen Prophylaxe.....	32
Abbildung 8:	Einteilung der Patienten der Versuchsgruppe nach Erhalt der Antimykotischen Prophylaxe.....	32
Abbildung 9:	Ursprüngliche Einteilung der Patienten der Kontrollgruppe gemäß Sorrow-Score.....	35
Abbildung 10:	Ursprüngliche Einteilung der Patienten der Versuchsgruppe gemäß Sorrow-Score.....	35
Abbildung 11:	Einteilung der Patienten nach Art der Spende (entspricht Gruppenzugehörigkeit).....	36
Abbildung 12:	Einteilung der Patienten nach Erkrankung an IA (gemäß neuen EORTC Kriterien).....	37
Abbildung 13:	Balkendiagramm: Zusammenhang zwischen GvHD-Prophylaxe und IA in der Versuchsgruppe.....	43
Abbildung 14:	Balkendiagramm: Zusammenhang zwischen GvHD-Prophylaxe und IA in der Kontrollgruppe.....	44
Abbildung 15:	Balkendiagramm: Zusammenhang zwischen Antimykotischer Prophylaxe und IA in der Versuchsgruppe.....	46
Abbildung 16:	Balkendiagramm: Zusammenhang zwischen Antimykotischer Prophylaxe und IA in der Kontrollgruppe.....	47

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 17: Balkendiagramm: Zusammenhang zwischen Vorerkrankungen und IA in der Versuchsgruppe .....	49
Abbildung 18: Balkendiagramm: Zusammenhang zwischen Vorerkrankungen und IA in der Kontrollgruppe .....	50
Abbildung 19: Balkendiagramm: Zusammenhang zwischen IA und Gruppenzugehörigkeit/Art der Stammzellspende .....	52

## Tabellenverzeichnis

### Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Kategorien der akuten und chronischen GVHD (Filipovich, Weisdorf et al., 2005) .....	11
Tabelle 2:	Stadien- und Gradeinteilung der akuten GvHD (Glucksberg, Storb et al., 1974) .....	12
Tabelle 3:	Kriterien der Seattle Klassifikation für die Einteilung der chronischen GvHD in limited und extensive (Shulman, Sullivan et al., 1980) .....	13
Tabelle 4:	Ausschnitt 1 aus Tabelle mit Werten eines Patienten der Versuchsgruppe .....	26
Tabelle 5:	Ausschnitt 2 aus Tabelle mit Werten eines Patienten der Versuchsgruppe .....	27
Tabelle 6:	Ausschnitt 3 aus Tabelle mit Werten eines Patienten der Versuchsgruppe .....	28
Tabelle 7:	Ausschnitt 4 aus Tabelle mit Werten eines Patienten der Versuchsgruppe .....	29
Tabelle 8:	HCT-CI Score (Sorrer, Maris et al., 2005).....	33
Tabelle 9 :	Beispielhafter Ausschnitt aus Tabelle der Patienten der Versuchsgruppe mit Leukozytenanzahl an Tag 30 und 60, wobei Patienten unterteilt sind nach Erkrankung an IA.....	38
Tabelle 10:	Kreuztabelle der Patienten der Versuchsgruppe beim Zusammenhang zwischen GvHD-Prophylaxe und IA .....	42
Tabelle 11:	Kreuztabelle der Patienten der Kontrollgruppe beim Zusammenhang zwischen GvHD-Prophylaxe und IA .....	44
Tabelle 12:	Kreuztabelle der Patienten der Versuchsgruppe beim Zusammenhang zwischen Antimykotischer Prophylaxe und IA .....	45
Tabelle 13:	Kreuztabelle der Patienten der Kontrollgruppe beim Zusammenhang zwischen Antimykotischer Prophylaxe und IA .....	47
Tabelle 14:	Kreuztabelle der Patienten der Versuchsgruppe beim Zusammenhang zwischen Vorerkrankungen und IA .....	48
Tabelle 15:	Kreuztabelle der Patienten der Kontrollgruppe beim Zusammenhang zwischen Vorerkrankungen und IA .....	50

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 16:	Kreuztabelle der Patienten beider Gruppen beim Zusammenhang zwischen Art der Stammzellspende und IA .....	51
Tabelle 17:	Ergebnisse der t-Tests in der Versuchsgruppe .....	53
Tabelle 18:	Ergebnisse der t-Tests in der Kontrollgruppe.....	56
Tabelle 19:	Ergebnisse der t-Tests der Patienten ohne IA.....	59
Tabelle 20:	Ergebnisse der t-Tests der Patienten mit IA .....	62

## Abkürzungsverzeichnis

### Abkürzungsverzeichnis

A.	Aspergillus
AA	Aplastische Anämie
ALAT	Alanin-Aminotransferase
ALL	Akute Lymphatische Leukämie
AML	Akute Myeloische Leukämie
AP	Alkalische Phosphatase
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
CD	Clusters of Differentiation
CMV	Zytomegalie-Virus
CRP	C-reaktives Protein
EORTC	European Organisation for Research and Treatment of Cancer
G-CSF	Granulocyte-Colony Stimulating Factor
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
GvHD	Graft-versus-Host Disease
GvL-Effekt	Graft-versus-Leukämie Effekt
GvT-Effekt	Graft-versus-Tumor Effekt
HCT-CI	Haematopoietic Cell Transplantation-Comorbidity Index
HL	Hodgkin Lymphom
HLA	Human Leucocyte Antigen
HSCT	Hematopoietic Stem Cell Transplantation
IA	Invasive Aspergillose
IFI	Invasive Fungal Infection
IL-2	Interleukin-2
IL-6	Interleukin-6
KIR	Killer Cell Immunoglobulin-like Receptor
KOF	Körperoberfläche
LAF	Laminar-Air-Flow
LDH	Laktat-Dehydrogenase
MCH	Mittleres korpuskuläres Hämoglobin
MCHC	Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
MCV	Mittleres Erythrozyteneinzelvolumen
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MHC	Major Histocompatibility Complex
MLC	mixed lymphocyte culture
MM	Multiples Myelom
MPS	Myeloproliferatives Syndrom
NHL	Non Hodgkin Lymphom
PCR	Polymerase Chain Reaction
RIC-HSCT	Reduced-Intensity Conditioning Hematopoietic Stem Cell Transplantation
TBI	Total Body Irradiation
TCD	T-Zell-Depletion
TNF $\alpha$	Tumornekrosefaktor alpha
Tx	Transplantation

### 1 Einleitung

Erstmals wurde 1968 und 1969 erfolgreich bei drei Kindern mit einem angeborenen schweren Immundefekt eine Stammzelltransplantation mit einem Transplantat eines HLA-identischen Spenders durchgeführt. Erst das Wissen um das Existieren des HLA-Systems hatte die Möglichkeit eröffnet, kompatible Familienmitglieder als Spender auszuwählen. (Thomas und Blume, 1999)

Die hämatopoetische Stammzelltransplantation stellt seitdem eine bewährte Therapie für viele erworbene und angeborene Erkrankungen des hämatopoetischen Systems dar. Indikation für einen solchen Eingriff sind hauptsächlich Leukämien, lymphoide Neoplasien, im Speziellen Non Hodgkin Lymphome, Hodgkin Lymphome und Plasmazellerkrankungen, solide Tumore und nicht-maligne Erkrankungen. Allein 2010 wurden in 48 Ländern in 634 Zentren insgesamt 33 362 hämatopoetische Stammzelltransplantationen vorgenommen. Laut Prognosen werden die Zahlen in der nahen Zukunft weiter steigen. (Passweg, Baldomero et al., 2012)

Die Durchführung der Stammzelltransplantation ist jedoch noch immer sehr häufig mit Organschädigungen, akuter oder chronischer Transplantat-gegen-Wirt Krankheit (Graft-versus-Host Disease) und Infektionen verbunden und resultiert in einer erheblichen, nicht dem Rückfall geschuldeten Mortalitätsrate (Sorrer, 2010).

Immunsuppression und GvHD führen zu einem vermehrten Auftreten von opportunistischen Infektionen. So ist z.B. die invasive Pilzinfektion eine der häufigsten infektiösen Komplikationen nach einer allogenen hämatologischen Stammzelltransplantation und hat eine Mortalitätsrate von bis zu 80 Prozent. (Sun, Xu et al., 2012)

Die Invasive Aspergillose stellt also noch immer ein großes Problem nach HSCT dar und bedarf weiterer Aufklärung in ihrer Ätiologie und Bekämpfung. Diese Arbeit soll einige ausgewählte Risikofaktoren für die Entstehung der IA benennen, statistisch nachweisen und detailliert beleuchten und somit zum besseren Verständnis der IA und zur geringeren Morbidität und Mortalität bei Patienten nach HSCT beitragen.

### 1.1 Hämatopoese

Als Hämatopoese bezeichnet man die Bildung und Reifung der Blutzellen. Sie geht von einer hämatopoetischen Stammzelle aus dem Knochenmark aus. Aus dieser Stammzelle können sich alle weiteren Zellarten des hämatopoetischen Systems entwickeln. Die adulte Stammzelle ist aber in ihrer Fähigkeit zur Entwicklung gegenüber einer embryonalen Stammzelle bereits merklich eingeschränkt. Stammzellen können einerseits Tochterzellen bilden, die in ihren Merkmalen mit der Mutterzelle komplett übereinstimmen und somit den Selbsterhalt durch Vergrößerung des Stammzellenpools sichern. Andererseits können Tochterzellen gebildet werden, aus denen durch fortschreitende Differenzierung schließlich die verschiedenen Zellarten hervorgehen. (Piper, 2013)

Abbildung 1 zeigt die verschiedenen Entwicklungsstufen einer pluripotenten Stammzelle, den jeweiligen Aufenthaltsort im Körper und die auf die Differenzierung Einfluss nehmenden Zytokine.

Zunächst befindet sich die pluripotente Stammzelle im menschlichen Knochenmark. Die Hämatopoese lässt sich in eine ausschließlich im Knochenmark stattfindende myeloische Entwicklungsreihe mit Erythrozyto-, Thrombozyto- (Megakaryozyto-), Granulozyto- und Monozytopoese und eine lymphoide Entwicklungsreihe, die auch im lymphatischen Gewebe stattfinden kann, unterteilen. (Piper, 2013)

Aus einer gemeinsamen myeloischen Progenitorzelle kann eine festgelegte Progenitorzelle entweder für Megakaryozyten und Erythrozyten oder für Monozyten und Granulozyten hervorgehen. Dann entwickeln sich daraus linienspezifische Progenitorzellen, die über weitere Vorläuferzellen schließlich die Erythrozyten, Thrombozyten, Monozyten (die im Gewebe zu Makrophagen mutieren) und die neutrophilen, eosinophilen und basophilen Granulozyten bilden. (Piper, 2013)

Von einer gemeinsamen lymphatischen Progenitorzelle können nach Piper (2013) hingegen drei Zellreihen ausgehen:

- Die B-Zellreihe, die sich primär im Knochenmark und erst sekundär in der Milz entwickelt und aus der die B-Zellen hervorgehen.
- Die T-Zellreihe, bei der sich die Progenitorzelle im Thymus ansiedelt und dort die T-Lymphozytenpopulation bildet.

## Einleitung

- Die Natürlichen Killerzellen, die zwar aus der gleichen Progenitorzelle wie die T-Zellen hervorgehen, sich jedoch im Knochenmark entwickeln und ins Blut übergehen.

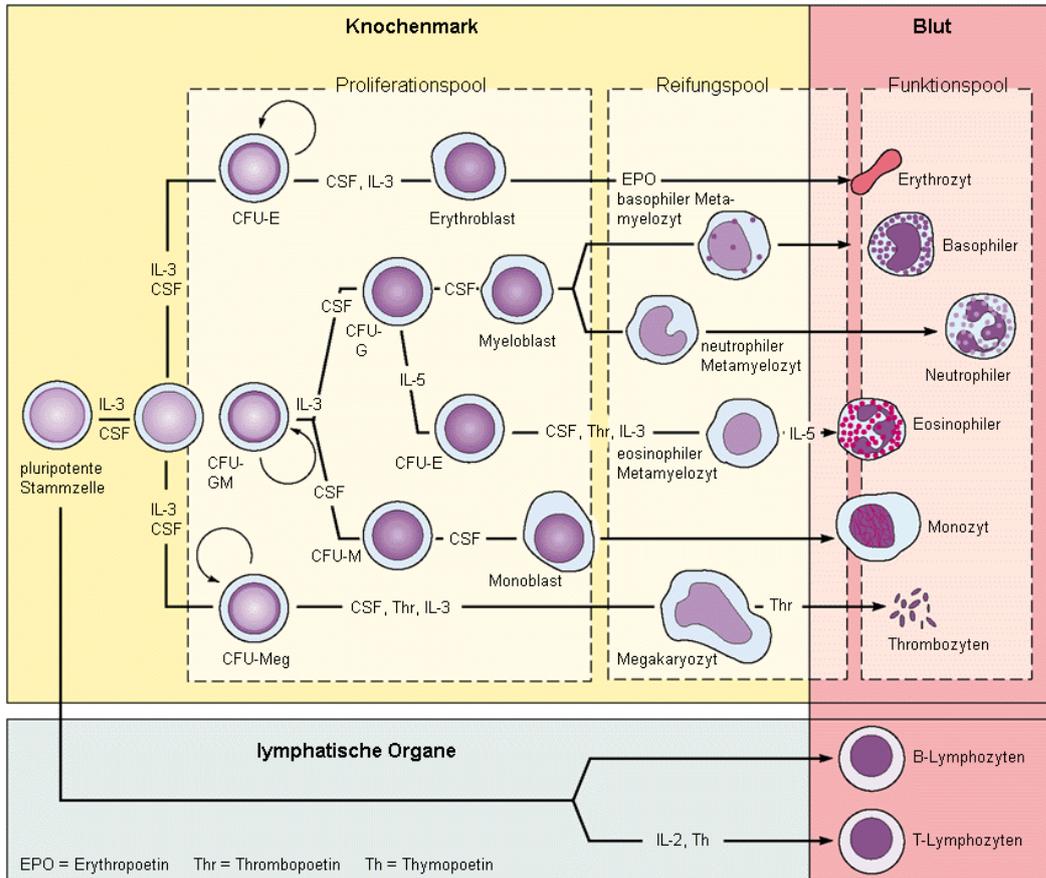


Abbildung 1: Die Hämatopoese (Reiche, 2003)

### 1.2 Immunologische Grundlagen

Die Durchführung der allogenen Stammzelltransplantation war in den frühen 1960er Jahren zunächst mit der Entwicklung einer schweren GvHD verbunden (Gatti, Meuwissen et al., 1968). Erst mit der Entdeckung der Gene des Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC) auf Chromosom 6 gelang 1968 der Durchbruch und die allogene Stammzelltransplantation konnte durchgeführt werden (Copelan, 2006).

Das Produkt dieser Gene sind die MHC-Proteinkomplexe, die als Antigene auf der Oberfläche von Körperzellen zu finden sind. Da sie auf Leukozyten gut nachzuweisen sind, nennt man sie auch HLA, Human Leucocyte Antigen. Das HLA ist somit ein Protein, das für die immunologische Einzigartigkeit des Menschen, die Regulation des Immunsystems und die Verträglichkeit von Transplantaten verantwortlich ist. Die Verer-

## Einleitung

bung dieser Gene erfolgt haploident, das heißt, sie werden von jedem Elternteil je zur Hälfte an das Kind weitervererbt. So besteht bei zwei Geschwistern die 25%ige Chance auf ein identisches HLA. Die Knochenmarktransplantation von einem HLA-identischen Kind auf sein erkranktes Geschwister ist erfolgreich, da das Immunsystem des Empfängers die fremden Spenderzellen nicht erkennt und somit nicht angreifen kann. Eine haploidente Transplantation ist eine Transplantation bei der der Spender in seinen HLA-Merkmalen zur Hälfte mit dem Empfänger übereinstimmt. (Gatti, Meuwissen et al., 1968)

Das MHC-System ist durch einen großen Polymorphismus gekennzeichnet, es gibt also viele verschiedene HLA-Phänotypen (Gemsa, Kalden et al., 1997). Die HLA-Merkmale sowohl des Spenders als auch des Empfängers können mit serologischen, biochemischen und molekulargenetischen Tests überprüft und im Anschluss daran zur Sicherstellung der Verträglichkeit mit Hilfe des MLC-Tests überprüft werden (Link, 1997).

Immunologische Prozesse gegen das Transplantat werden zwar meist durch die inkompatiblen MHC-Komponenten ausgelöst, können jedoch auch auf gebundene Peptide, die sogenannten Non-MHC-Komponenten zurückzuführen sein. Bei Non-MHC-Komponenten fällt die Reaktion meist wesentlich schwächer aus, weshalb sie als schwache Transplantationsantigene (Minor Histocompatibility Complex) bezeichnet werden. Obwohl nur wenige Non-MHC-Histokompatibilitätsantigene eine Antikörperreaktion in Gang setzen, wird trotzdem auf einige Antigenensysteme Rücksicht genommen, wie z.B.: das AB0-Blutgruppensystem, da es bei vorhandener Sensibilisierung des Spenders zur hyperakuten Abstoßungsreaktion kommen kann. (Gemsa, Kalden et al., 1997)

Zudem tragen Stammzellen und die wenig differenzierten Progenitorzellen auf ihrer Oberfläche ein spezielles Antigen, das CD34-Antigen, dieses findet sich jedoch nicht auf ausgereiften Zellen. Mit Hilfe dieses Antigens lassen sich so die hämatopoetischen Stammzellen identifizieren und ihre Anzahl in einem Transplantat bestimmen. (Civin, Strauss et al., 1990)

### **1.3 Stammzelltransplantation**

#### **1.3.1 Formen der Stammzelltransplantation**

Man unterscheidet grundsätzlich die autologe von der allogenen Stammzelltransplantation. Es handelt sich bei der autologen Stammzelltransplantation um ein Transplantat, das vom Empfänger selbst stammt, wohingegen bei der allogenen Transplantation die Stammzellen von einem anderen, gesunden Menschen gespendet werden. Die autologe Stammzelltransplantation erfolgt in der Regel als periphere Blutstammzelltransplantation nach erfolgter Hochdosis- oder Radiotherapie im Sinne eines Stammzellrescues, um eine höhere Therapieintensität anwenden zu können. Die allogene Stammzelltransplantation dient im Gegensatz dazu dem Ersatz des körpereigenen hämatopoetischen Systems durch dasjenige des Spenders und verfolgt damit nicht nur das Ziel einer Rescue-Behandlung, sondern hat gleichzeitig einen anti-Tumor Effekt (z.B. sogenannter Graft-versus-Leukemia Effekt), der therapeutisch genutzt werden kann. Die Transplantation kann dabei sowohl als periphere Blutstammzelltransplantation nach Mobilisierung mit hämatopoetischen Wachstumsfaktoren, als auch als Knochenmarktransplantation erfolgen. Das niedrigste therapieassoziierte Risiko für den Patienten weist eine so genannte syngene Stammzelltransplantation auf. Hierbei werden Stammzellen von einem genetisch identischen Individuum, also einem eineiigen Zwilling, entnommen und transplantiert. (Andreesen und Heimpel, 2009)

Weltweit sind im Moment 24 191383 Spender registriert, davon in Deutschland über 5 Millionen. 75% der Patienten kann nach nur drei Monaten ein passender Spender vermittelt werden. (Mein und Müller, 2014)

#### **1.3.2 Indikationen für die Stammzelltransplantation**

Die allogene Stammzelltransplantation wird insbesondere in Hochrisikosituationen eingesetzt, um mit Sicherheit ein gesundes hämatopoetisches System zu etablieren und den GvT Effekt (Erklärung folgt unter 1.4) auszunutzen. Dies betrifft zum einen Patienten mit einer Erkrankung, die sich refraktär auf bisherige Therapieversuche gezeigt hat, nach erreichter Remission frühzeitig rezidiviert ist oder per se mit einer erhöhten Rezidivneigung verbunden ist. Hierzu zählen ebenso Erkrankungen mit definierten genetischen Aberrationen, wie auch individuelle Faktoren bei Primärdiagnose (z.B. Alter, Leukozytenzahl bei Leukämien etc.), die eine ungünstige Prognose bedeuten. Hauptin-

dikationen sind daher aggressive Leukämien, sowie angeborene oder auch erworbene Knochenmarkinsuffizienzen. Hierbei sollte für Hochrisikopatienten, wenn indiziert, frühzeitig eine allogene Stammzelltransplantation eingeplant werden, da mit fortschreitendem Krankheitsverlauf sowohl ein zunehmend schlechteres Therapieansprechen, als auch ein verstärktes Auftreten von Komplikationen zu erwarten sind. (Andreesen und Heimpel, 2009)

Die Indikation zur autologen Stammzelltransplantation wird dann gestellt, wenn das Risiko für die Durchführung einer allogenen Stammzelltransplantation als zu hoch eingestuft wird oder wenn zur besseren Tumorbekämpfung eine sehr hohe Strahlendosis oder eine hochdosierte Chemotherapie notwendig wird. Dann werden dem Patienten vor besagter Therapie eigene Stammzellen entnommen, um diese nach der Therapie wieder zu retransfundieren. Die Therapie kann dann hochdosiert erfolgen, ohne Rücksicht auf die irreversible Schädigung der Knochenmarkneubildung, da dieses im Nachhinein durch die Stammzelltransplantation wiederhergestellt wird. Limitierende Faktoren in Bezug auf die Dosis bleiben die Organtoxizitäten. Vor allem beim multiplen Myelom oder rezidierten Lymphomen wendet man die autologe Stammzelltransplantation an. (Andreesen und Heimpel, 2009)

Im Allgemeinen ist die autologe Transplantation bis zu einem Alter von etwa 70-75 Jahren vornehmbar, die Allogene ca. bis zum 65. Lebensjahr (Andreesen und Heimpel, 2009). Da in den Zeiten des demographischen Wandels ein über 65-jähriger Patient unter Umständen bessere Voraussetzungen als ein multipel Vorerkrankter 50-Jähriger mitbringen kann, stellt der so genannte Sorrow Score (siehe unter 2.2.3 Tabelle 8) ein zuverlässiges Tool zur Einstufung des Transplantationsrisikos dar, um eine rationale Therapieentscheidung im Einzelfall treffen zu können (Sorrow, Maris et al., 2005).

### **1.3.3 Stammzellmobilisierung und -apherese**

Nach heutigem Stand der Technik können hämatopoetische Stammzellen aus Nabelschnurblut, Knochenmark oder dem peripheren Blut gewonnen werden (Kurtzberg, Laughlin et al., 1996); (Link, Arseniev et al., 1995); (Silberstein und Jefferies, 1996).

Bei der Entnahme von Stammzellen aus dem Knochenmark wird mit Hilfe von Punktionsnadeln ca. 1000 bis 1200 ml Volumen und somit ca.  $2 \times 10^{10}$  kernhaltige Knochen-

## Einleitung

markzellen aus dem Knochenmark aspiriert. Das entspricht etwa 10 bis 20 ml/kg KG. Der Spender steht dabei unter Vollnarkose. (Link, 1997)

Eine weitere Möglichkeit zur Stammzellgewinnung bietet die Mobilisierung in das periphere Blut nach Stimulation mit dem hämatopoetischen Wachstumsfaktor G-CSF (subkutan über 5-7 Tage). G-CSF bewirkt eine Ablösung der blutbildenden Vorläuferzellen aus dem Knochenmark und fördert somit die vermehrte Auswanderung dieser Zellen vom Knochenmark in das periphere Blut, aus dem die Blutstammzellen via Leukapherese gesammelt werden können. (Link, Arseniev et al., 1995)

Der Vorteil für den Spender liegt in der Vermeidung einer Vollnarkose und den damit assoziierten Risiken. Da Langzeitstudien zur sicheren Anwendung von G-CSF bei gesunden Spendern noch ausstehen, ist diese Methode zwar weniger invasiv, aber die potentiellen Risiken für den Spender nicht vollends absehbar. Dennoch hat die periphere Gewinnung von Blutstammzellen die Sammlung dieser aus dem Knochenmark fast vollständig ersetzt. (Link, 1997)

Da man für beide eben genannten Techniken jeweils einen kompatiblen Spender benötigt, dieser aber nicht immer für jeden Patienten gefunden werden kann, stellt die Gewinnung von Stammzellen aus Nabelschnurblut eine bedeutende Alternative dar. Allerdings bezweifelte man lange Zeit, ob die wenigen zu gewinnenden Stammzellen aus dem Nabelschnurblut ausreichen, um das blutbildende System eines Erwachsenen wiederherzustellen (Silberstein und Jefferies, 1996). Studien von Atsuta, Suzuki et al. (2009) und von Laughlin, Eapen et al. (2004) ergaben jedoch, dass sich die Gewinnung von Stammzellen aus dem Nabelschnurblut durchaus als gute Alternative erweist, sollte sich kein kompatibler erwachsener Spender in einem angemessenen Zeitraum finden.

### **1.3.4 Konditionierungstherapie und Immunsuppression**

Als vorbereitende Maßnahme vor der Transplantation muss das Immunsystem des Transplantatempfängers ausgelöscht oder stark unterdrückt werden, um den Körper auf die ihm fremde Spende vorzubereiten und eine Abstoßungsreaktion zu vermeiden. Man unterscheidet myeloablative von nicht myeloablativen Verfahren. Hierbei kommen unterschiedliche Konditionierungstherapien und/oder Ganzkörperbestrahlungen (Total Body Irradiation, TBI , 10-12 Gy) zum Einsatz. Wenn dabei die gesamte Häma-

to- und Lymphopoese beeinträchtigt oder sogar zerstört werden, wird dieses Vorgehen als myeloablativ bezeichnet. (Link, 1997)

Je nach Spender wird zusätzlich Antithymozytenglobulin verabreicht, welches die Abstoßung des Transplantats verhindern soll. Nach erfolgter Transplantation muss der Patient täglich eine Immunsuppression über einen Zeitraum von mindestens 60 Tagen einnehmen. Dann kann bei Fehlen von Zeichen einer GvHD das Medikament vorsichtig reduziert werden. Wenn keine Komplikationen auftreten ist das Ziel von Tag 100 bis ca. sechs Monate nach Transplantation ohne immunsupprimierende Medikamente auszukommen. (Andreesen und Heimpel, 2009)

Zum Einsatz kommen vor allem Ciclosporin A (CsA), Sirolimus und Mycophenolat-Mofetil (MMF). Alternativ zu einer oralen Immunsuppression kann sofort nach der Transplantation Methotrexat (MTX) intravenös verabreicht werden. Alternativ hierzu kann auch eine T-Zell-Depletion (TCD) durchgeführt werden, was insbesondere bei Transplantaten mit mehreren „HLA-Mismatchen“ (demzufolge auch bei einer haploidenten Transplantation) erfolgen muss. Hierbei werden selektiv die T-Lymphozyten durch monoklonale Antikörper aus dem Transplantat entfernt und somit die GvHD-Wahrscheinlichkeit drastisch gesenkt. Allerdings hat der Patient in der Folge keine Immunkompetenz gegenüber Viren und Pilzen und eine sehr eingeschränkte gegenüber Bakterien, was die Gefahr einer Infektion drastisch erhöht. Die TCD wird entweder am Transplantat vor der Transplantation durchgeführt (Ex-vivo oder In-vitro TCD) oder der Patient erhält die Antikörper kurz vor der Transplantation (In-Vivo TCD). Nicht myeloablative Verfahren, so genannte RIC-HSCT kommen zum Einsatz, um die Mortalitätsraten insbesondere älterer Patienten zu reduzieren. (Krukemeyer und Lison, 2006)

### **1.3.5 Nachsorge**

Anhand des sogenannten Chimärismus kann auf Basis einer PCR eine quantitative Messung des Anteils der Empfänger- und Spender-Hämatopoese erfolgen. Das heißt, dass zwar die vom Transplantat stammenden Zellen und Bestandteile die Blutgruppe und die chromosomalen und molekulargenetischen Eigenschaften des Spenders, aber die restlichen Gewebe noch immer die des Empfängers tragen. (Link, 1997)

### 1.4 Graft-versus-Host Disease

#### 1.4.1 Definition und Ätiologie

Die Graft-versus-Host Krankheit ist eine Reaktion des Immunsystems auf ein Transplantat und somit das Gegenstück zur Transplantatabstoßung, die als Host-versus-Graft Reaktion bezeichnet wird. Die GvHD tritt häufig als Komplikation bei Knochenmark- oder Stammzelltransplantationen auf. (Piper, 2013)

Van Bekkum, de Vries et al. (1967) machten erstmals die Entdeckung einer GvHD, als bei keimfreien Mäusen nach Bestrahlung Milzzellen transplantiert wurden und die Mäuse, trotz Erholung von der Bestrahlung, an den Folgen von Läsionen an Haut, Leber, Darm und den lymphatischen Geweben verendeten. Billingham (1966) (zit. nach (Ferrara, Levine et al., 2009)) postulierte 1966 drei Voraussetzungen für das Entstehen der GvHD:

- Es müssen immunkompetente Zellen im Transplantat enthalten sein.
- Der Transplantatempfänger muss Antigene auf der Oberfläche seiner Zellen exprimieren, die nicht in der Spende auftauchen.
- Das Immunsystem des Empfängers muss außer Stande sein, eine ausreichende Immunreaktion gegen das Transplantat hervorzubringen, um es so zu zerstören.

Hervorgerufen wird die GvHD durch die T-Zellen, die in der Spende enthalten sind und die durch die antigenpräsentierenden Zellen des Empfängers in einen aktiven Zustand versetzt werden (Piper, 2013). Kernan, Collins et al. (1986) zeigten, dass der Grad der Ausprägung der GvHD mit der Anzahl der T-Lymphozyten im Transplantat korreliert.

#### 1.4.2 Pathophysiologie der GvHD

Abbildung 2 zeigt das Drei-Phasen-Modell der GvHD Pathophysiologie nach Ferrara, Levine et al. (2009). Demnach verursacht die Konditionierungstherapie eine Zerstörung des Empfängergewebes und somit eine vermehrte Freisetzung von Zytokinen, wie z.B. IL-1, IL-6 und TNF $\alpha$ . Diese wiederum führen zu einer Aktivierung der Antigenpräsentierenden Zellen (HLA-präsentierende Zellen) des Empfängers (Phase 1). Je mehr sich HLA-minor- und/oder -major-Antigene von Empfänger und Spender unterscheiden, desto größer die Gefahr einer GvHD. In Phase 2 aktivieren diese Antigenpräsentieren-

den Zellen die reifen T-Zellen im Transplantat. Die daraus resultierende fortführende Proliferation und Differenzierung von Spender-T-Zellen führt über Zytotoxische T-Zellen, Natürliche Killerzellen, TNF $\alpha$  und IL-1 zur Gewebszerstörung. Außerdem kurbelt das aus dem zerstörten Gewebe des Intestinaltraktes austretende LPS die TNF $\alpha$ -Produktion weiter an. TNF $\alpha$  induziert eine direkte Zerstörung des Gewebes, da es Nekrose und Apoptose auslösen kann und ist somit für die GvHD bedingten Läsionen im Intestinaltrakt und die dadurch verstärkt auftretenden Zerstörungen in Haut, Leber und Lunge verantwortlich. (Ferrara, Levine et al., 2009)

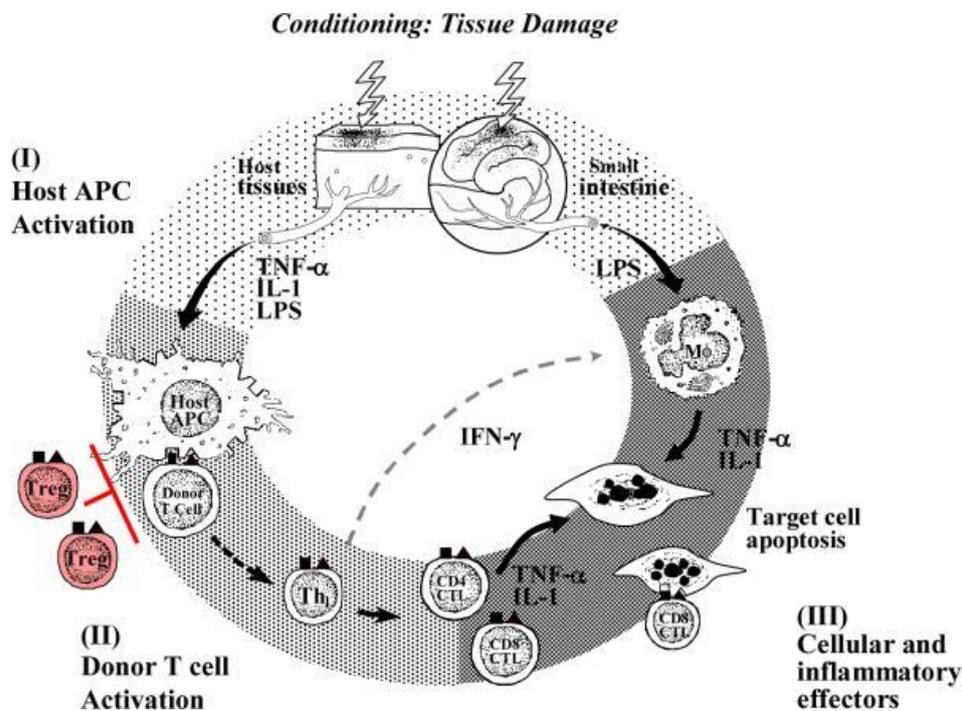


Abbildung 2: Drei-Phasen-Modell der GvHD Pathophysiologie (Ferrara, Levine et al., 2009)

### 1.4.3 Akute GvHD

Tabelle 1 zeigt die Einteilung der GvHD in akut und chronisch und des Weiteren in Unterkategorien wie klassisch akute GvHD und persistierende, rezidivierende oder spät auftretende akute GvHD, abhängig vom Zeitpunkt des Auftretens der Symptome. Typischerweise treten meist die Symptome der akuten GvHD zeitgleich mit dem Anwachsen (Engraftment) des Transplantats auf, also innerhalb der ersten 100 Tage nach Transplantation (Jacobsohn und Vogelsang, 2007).

**Tabelle 1: Kategorien der akuten und chronischen GVHD (Filipovich, Weisdorf et al., 2005)**

Kategorie		Zeitpunkt des Auftretens der Symptome nach HCT	Präsenz akuter GVHD Symptome	Präsenz chronischer GvHD Symptome
Akute GVHD	<b>Klassische akute GVHD</b>	≤ 100 d	Ja	Nein
	<b>Persistierende, rezidivierende oder spät auftretende akute GVHD</b>	> 100 d	Ja	Nein
Chronische GVHD	<b>Klassische chronische GVHD</b>	Keine zeitliche Begrenzung	Nein	Ja
	<b>Overlap Syndrom</b>	Keine zeitliche Begrenzung	Ja	Ja

Die Pathophysiologie der akuten GvHD richtet sich nach dem eben beschriebenen Schema.

Laut Jacobsohn und Vogelsang (2007) entsteht die akute GvHD bei 35 bis 50% der Patienten nach einer HSCT. Das Risiko, an einer akuten GvHD zu erkranken hängt von der Stammzellquelle, dem HLA-Matching (identisch/ haploident und verwandt/ unverwandt), dem Alter des Patienten, der Konditionierung und der GvHD-Prophylaxe ab. Die Stammzellspende, die aus Nabelschnurblut gewonnen wird, wird besser angenommen als die aus dem Knochenmark oder dem peripheren Blut. Klinisch kann sich die akute Form der GvHD an drei Organen äußern: Auf der Haut (Ausschlag/ Dermatitis), an der Leber (Hepatitis/ Ikterus) oder im Gastrointestinaltrakt (abdominale Schmerzen/ Diarrhö). Die klinische Diagnose sollte durch Biopsien gesichert werden, um Differentialdiagnosen, wie z.B. Virusinfektionen oder Drogenmissbrauch, ausschließen zu können. (Jacobsohn und Vogelsang, 2007)

Üblicherweise wird die akute GvHD hinsichtlich des Schweregrades anhand der Klassifikation nach Glucksberg eingeteilt (siehe Tabelle 2). Zunächst kann man die einzelnen Organe je nach Befall in Stadien einteilen, wichtig ist jedoch der Gesamtschweregrad I-IV. Patienten mit Schweregrad III oder IV haben tendenziell schlechte Überlebenschancen (Jacobsohn und Vogelsang, 2007).

**Tabelle 2: Stadien- und Gradeinteilung der akuten GvHD (Glucksberg, Storb et al., 1974)**

Stadium	Haut	Leber (Bilirubin in mg/ dl)	Intestinum (Stuhlmenge in ml/ d)
1	Makulopapulöses Exan- them < 25 % der KOF	2–3	500–1000
2	Makulopapulöses Exan- them 25–50 % der KOF	3–6	1000–1500
3	Erythroder- mie(Exanthem>50% KO F) ohne Blasenbildung oder Epidermolyse	6–15	>1500
4	Eythroder- mie(Exanthem>50% KO F) mit Blasenbildung und/oder Epidermolyse	>15	Akutes Abdomen mit oder ohne Ileus
Grad			
I	Stadium 1-2	Stadium 0	Stadium 0
II	Stadium 1-3	Stadium 1	Stadium 1
III	Stadium 2-3	Stadium 2-3	Stadium 2-3
IV	Stadium 2-4	Stadium 2-4	Stadium 2-4

#### 1.4.4 Chronische GvHD

Über die Hälfte der Patienten mit akuter GvHD entwickeln im weiteren Verlauf eine chronische GvHD. Die Übergangsphase wird als Overlap Syndrom bezeichnet, in der der Patient sowohl Symptome der akuten als auch der chronischen GvHD zeigt. (Jacobsohn und Vogelsang, 2007)

Tabelle 1 zeigt u.a. die Einteilung der chronischen GvHD.

Die Pathophysiologie der chronischen GvHD ist im Gegensatz zu der der Akuten weitestgehend unklar, jedoch existieren zwei Modelle zur Entstehung dieser Krankheit (Vogelsang, Lee et al., 2003). Das eine Modell geht von einer Alloreaktivität (T-Lymphozyten werden von fremden MHC-Molekülen stimuliert) im Endstadium aus (Kataoka, Iwasaki et al., 2001), während das andere Modell auf einer nur schlecht funktionierenden bzw. nicht erfolgten Wiederherstellung des Immunsystems basiert, ähnlich wie nach einer autologen Stammzelltransplantation (Vogelsang, Lee et al., 2003).

## Einleitung

Die Symptome der chronischen GvHD ähneln denen einer Autoimmunerkrankung, wie z.B. der Sklerodermie, der Bronchiolitis obliterans oder dem Sjögren-Syndrom. Typischerweise tauchen die Symptome auf der Haut, der Leber, den Augen, den Lungen, dem Gastrointestinaltrakt und der Mundhöhle auf. Anders als die Akute kann die chronische GvHD jedoch fast jedes Organ befallen, auch wenn sie sich meist auf der Haut, der Leber oder im Mund äußert. Die chronische GvHD ist gekennzeichnet durch eine immunologische Dysregulation, beeinträchtigte Organfunktion und geringere Überlebenschancen. Der Gebrauch von Stammzellen aus dem peripheren Blut, allogene Transplantationen und das ansteigende Alter der Patienten tragen zu einer erhöhten Inzidenz der Krankheit bei. (Baird und Pavletic, 2006)

Patienten, die aus einer akuten GvHD direkt eine Chronische entwickeln, haben eine eher schlechte Prognose, wohingegen die Prognose bei einem ruhigen Übergangsstadium von akuter in chronischer GvHD besser ist. Eine gute Prognose kann bei Patienten gestellt werden, bei denen de novo eine chronische GvHD, also ohne vorangegangene akute GvHD, diagnostiziert wird. (Vogelsang, Lee et al., 2003)

Die häufigste und gebräuchlichste Klassifikation der chronischen GvHD ist die in Tabelle 3 ersichtliche Seattle Klassifikation nach Shulman, Sullivan et al. (1980).

**Tabelle 3: Kriterien der Seattle Klassifikation für die Einteilung der chronischen GvHD in limited und extensive (Shulman, Sullivan et al., 1980)**

<b>Limited</b>	lokalisierte Hautbeteiligung und/oder Leberdysfunktion
<b>Extensive</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• generalisierte Hautbeteiligung oder</li><li>• lokalisierte Hautbeteiligung und/oder Leberdysfunktion plus/minus eines der folgenden Zeichen:</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>○ Leberhistologie: chronisch progressive Hepatitis, Brückennekrosen oder Zirrhose</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>○ Augenbeteiligung</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>○ Beteiligung der Speicheldrüsen oder der Mukosa</li><li>○ jede andere Organbeteiligung</li></ul>

### 1.4.5 Graft-versus-Tumor Effekt und Graft-versus-Leukämie Effekt

In einer Studie von Weiden, Flournoy et al. (1979) wurde festgestellt, dass das Auftreten einer GvHD die Wahrscheinlichkeit eines Rezidivs vermindert. Daher zieht man daraus den Schluss, dass die Spenderzellen einen vernichtenden Effekt auf die eventuell, trotz Chemo- oder Radiotherapie noch verbliebenen Tumorzellen haben (Weiden, Flournoy et al., 1979). Man bezeichnet dies als GvT-Effekt, im Falle der Leukämie als

GvL-Effekt. Daher ist in einem gewissen Maß die GvHD erwünscht, da dabei auch die kranken Zellen angegriffen und zerstört werden (Piper, 2013).

Zunächst versucht man jedoch, die Entwicklung der GvHD, die zu schwerwiegenden Komplikationen und opportunistischen Infektionen führen kann, zu vermeiden. Dazu begibt man sich, wie bereits erwähnt, auf die Suche nach einem HLA-identen Familienspender, einem komplett in den HLA-Merkmalen übereinstimmenden unverwandten Fremdspender oder, wenn die Suche bislang erfolglos blieb, nach einem HLA-haploidenten Familien- oder Fremdspender. (Andreesen und Heimpel, 2009)

Bei der Suche nach einem Fremdspender helfen die nationalen und internationalen Knochenmarkspenderegister (Link, 1997).

### **1.4.6 Prophylaxe und Therapie**

Neben der pharmakologischen Prophylaxe werden viele weitere Medikamente verwendet, um T-Zellen zu schwächen oder die Ausschüttung von Zytokinen einzudämmen. Als allgemeine Nebenwirkung tritt dabei die erhöhte Infektanfälligkeit durch die immunsuppressive Wirkung der Medikamente auf. (Piper, 2013)

Im Folgenden werden immunsuppressive Medikamente aufgezählt und kurz auf sie eingegangen:

Glukokortikoide, wie z.B. die synthetischen Glukokortikoide Prednisolon (Handelsname: Decortin H) und Budesonid (Handelsname: Entocort) haben neben ihrer entzündungshemmenden Eigenschaft auch die Potenz, die Gene der meisten Zytokine abzuschalten und somit die Proliferation von aktivierten T-Lymphozyten stoppen zu können. Calcineurin-Inhibitoren, wie beispielsweise Ciclosporin A (Handelsname: Sandimmun Optoral) oder Tacrolimus (Handelsname: Tacrolimus HEXAL), hemmen Calcineurin mit der Folge, dass T-Zell-abhängige Immunreaktionen supprimiert werden. Die Gruppe der antimetabolischen und antiproliferativen Medikamente beinhaltet zum einen Sirolimus/ Rapamycin (Handelsname: Rapamune) und Everolimus (Handelsname: Certican; in den USA: Zortress). Diese beiden Medikamente wirken über eine Blockade der Signaltransduktion beim IL-2 Rezeptor und hemmen so wiederum die Aktivierung der T-Zellen. Zum anderen zählt zu dieser Gruppe auch das Mycophenolat-Mofetil (Abkürzung: MMF; Handelsname: Cellcept; in den USA: Myfortic), das die Proliferation von

B- und T-Lymphozyten hemmt und vor allem als Prophylaxe vor Transplantatabstoßung verabreicht wird. Eine weitere Möglichkeit zur Immunsuppression bieten die immunsuppressiven Antikörper, die entweder mit Oberflächenstrukturen der T-Lymphozyten agglutinieren und so als Signal für die Phagozytose wirken oder die Funktion einzelner Moleküle beeinträchtigen können. (Piper, 2013)

Bei der akuten GvHD wird häufig das Methylprednisolon, ein künstlich hergestelltes Glukokortikoid, als Initialtherapie angewendet (Vogelsang, Lee et al., 2003).

Die gebräuchlichste Therapie der chronischen GvHD stellen nach Vogelsang, Lee et al. (2003) die Medikamente Ciclosporin A und Prednison (aktiver Metabolit: Prednisolon) dar, die im täglichen Wechsel verabreicht werden.

### **1.5 Invasive Aspergillose**

In den letzten Jahrzehnten verzeichnet die Humanmedizin aufgrund lang anhaltender Immunsuppression und GvHD eine deutliche Zunahme an opportunistischen Infektionen (Sun, Xu et al., 2012). Dies sind Infektionen, die nur bei Patienten mit herabgesetzter Immunität auftreten (Piper, 2013). Die Invasive Aspergillose wird, tritt sie nach HSCT auf, deshalb auch als opportunistische Infektion bezeichnet. Gemäß Sun, Xu et al. (2012) zählen Invasive Pilzinfektionen (Invasive Fungal Infection, IFI) mit einer Mortalitätsrate von bis zu 80% zu den größten Komplikationen nach allogenen Stammzelltransplantationen. Mit einer Inzidenz von 4-10% tritt die Invasive Aspergillose nach allogener Stammzelltransplantation auf (Jantunen, Anttila et al., 2002).

2002 veröffentlichte die EORTC Standarddefinitionen für IFI, um eine bessere logische Einteilung der Patienten anhand ihrer IFI vornehmen und somit die Forschung auf diesem Gebiet vereinfachen zu können. Demnach kann man die Wahrscheinlichkeit der Diagnose der IFI in drei Abstufungen untergliedern: Bewiesen („proven“), wahrscheinlich („probable“), möglich („possible“) (Ascioglu, Rex et al., 2002).

Inhaltlich wurde diese Unterteilung später zwar modifiziert („Neue EORTC Kriterien“), die Abstufungen „proven“, „probable“ und „possible“ aber beibehalten (De Pauw, Walsh et al., 2008).

### 1.5.1 Risikofaktoren, Erreger, Symptome und Diagnose

Risikofaktoren für die IA stellen die akute und extensive chronische GvHD, Neutropenie, vorangegangene Erkrankung an IA (Offner, Cordonnier et al., 1998) und Erkrankung am Zytomegalie-Virus (CMV) (Marr, Carter et al., 2002) dar. Des Weiteren gelten als Risikofaktoren: HLA-Diskrepanz ("HLA-Mismatch"), unverwandte Spender, T-Zell-Depletion der Spende, nicht ausreichende Filterung der Raumluft, sowie Durchführung der Transplantation in nicht mit dem LAF-System ausgestatteten Räumen (Wald, Leisenring et al., 1997).

Der Erreger der IA ist in den meisten Fällen *Aspergillus fumigatus*, es wurden aber auch Fälle mit *A.flavus*, *A.niger* oder *A.terreus* beobachtet (Jantunen, Anttila et al., 2002). Aspergillen kommen in der Umwelt überall vor (v.a. auf faulenden Pflanzen) und bilden Sporen, die der Mensch einatmen kann. Selten resultieren daraus Krankheiten, es sei denn, die Sporen werden von immunsupprimierten Patienten inhaliert. (Piper, 2013)

Zunächst kommt es lediglich in den Atemwegen zu einem Wachstum des Pilzes, später infiltriert dieser dann das Parenchym, Blutgefäße und anatomische Barrieren und kann sich so im Körper verbreiten (Reichard, Monod et al., 1995).

Meistens tritt die Infektion drei bis vier Monate nach der Transplantation in Gesellschaft einer GvHD auf. Die Symptome sind unspezifisch, wie z.B. Fieber, respiratorische (Brustschmerzen, Husten, Dyspnoe (Latge, 1999)) und neurologische Symptome. Da oft begleitend hohe Dosen an Glukokortikoiden eingenommen werden, die die Symptomatik lindern, ist die Diagnostik schwierig und kann meist nur verzögert gestellt werden (Jantunen, Anttila et al., 2002).

Aber gerade frühzeitige Erkennung und sofortige Intervention sind bei der IA besonders wichtig. So zeigten Herbrecht, Denning et al. (2002), dass bei rechtzeitiger Diagnose der Erkrankung die Mortalitätsrate der Patienten auf 29% gesenkt werden konnte. Bei verspätetem Einschreiten hingegen starben 80% der Erkrankten (Herbrecht, Denning et al., 2002). In 90 % der Fälle ist die Lunge von der IA betroffen, in 40 % das zentrale Nervensystem (Jantunen, Piilonen et al., 2000).

Der Nachweis der Aspergillen kann aus Gewebeproben, Körperflüssigkeiten und Sekreten mikroskopisch und kulturell, aber auch histologisch erfolgen, da sich im menschl-

chen Serum spezifische Antikörper finden. Außerdem besteht die Möglichkeit der Diagnosestellung über ein bildgebendes Verfahren (Computertomographie). (Piper, 2013)

### **1.5.2 Antimykotische Prophylaxe und Therapie**

Ein Problem in der Behandlung der IA stellt die Tatsache dar, dass *Aspergillus* ein Eukaryont ist und somit Ähnlichkeit zu den Prozessen in menschlichen Zellen bestehen. Daher sind viele Medikamente bei längerer Einnahme schädlich. (Odds, Brown et al., 2003)

Präventive Maßnahmen sollten sowohl in der Umgebung des Patienten als auch am Patienten selbst die Risikofaktoren vermindern, beispielsweise durch gründliche Filterung der Raumluft, Isolation des immunsupprimierten Patienten und Chemoprophylaxe (z.B. Amphotericin B-Inhalation, Itraconazol). Auch die möglichst schnelle Wiederherstellung des Immunsystems gilt als wichtiger Faktor, um die Entstehung der IA zu vermeiden. Allerdings steht dies im Konflikt mit der Gabe von Immunsuppressiva, die im Rahmen einer GvHD-Prophylaxe verabreicht werden. (Wald, Leisenring et al., 1997)

Jahrzehntelang war laut Jantunen, Piilonen et al. (2000) Amphotericin B das Mittel der Wahl zur Behandlung von lebensbedrohlichen, tiefsitzenden IA-Infektionen. Dieses Medikament zählt neben Nystatin (zur lokalen Behandlung von Candidosen) zu den Polyen-Antimykotika und wirkt fungizid durch Porenbildung in den Pilzzellen. Amphotericin B hat ein breites Wirkspektrum und kann intravenös auch zur Behandlung von Systemmykosen (wie die IA) genutzt werden. (Lüllmann und Mohr, 2006)

Jedoch stand die Gabe von Amphotericin B mit der Entstehung einer chronischen oder akuten Toxizität im Zusammenhang. Die Weiterentwicklung von Amphotericin B konnte zwar die Symptome lindern, letztendlich aber nicht alle Zweifel ausräumen. (Traummüller, Popovic et al., 2011)

Der genaue Wirkmechanismus ist noch unklar, allerdings ist bekannt, dass Amphotericin B an Ergosterol bindet, das mit menschlichem Cholesterin vergleichbar ist und fester Bestandteil der Zellmembran ist. So kann das Medikament die Funktion der Zellmembran stören und die Porenbildung hervorrufen. Jedoch unterscheidet sich die Form des Ergosterols von der des Cholesterins, was möglicherweise die höhere Bindungsaffinität des Amphotericin B an das Ergosterol erklärt. Zudem weist die Pilzzellmembran

## Einleitung

einen höheren Phospholipidanteil als die eukaryontische Zellmembran auf, da Ergosterol und Cholesterin Phospholipide sind. Trotzdem wirkt sich das Medikament auch auf eukaryontische Zellen toxisch aus und führt zu Nebenwirkungen. (Odds, Brown et al., 2003)

Azol-Antimykotika lassen sich in Imidazol-Derivate und Triazol-Antimykotika unterteilen. Letztere, wie z.B. Itraconazol (Handelsname: Sempera/ Siros), Fluconazol (Handelsname: Diflucan u.v.m.) oder Voriconazol (Handelsname: VFend), hemmen mit breitem fungistatischen Wirkungsspektrum die Ergosterin-Bildung, wodurch dieser wichtige Bestandteil des Plasmalemmes der Pilzzellen fehlt. Die eben genannten Medikamente werden oral eingenommen und können zur systemischen Behandlung von Haut- oder Schleimhautmykosen angewendet werden. (Lüllmann und Mohr, 2006)

Itraconazol kann oral und auch intravenös verabreicht werden, wirkt sehr gut bei weniger stark ausgeprägten immunologischen Krankheiten und häufig auch bei Patienten, bei denen die Amphotericin B-Behandlung nicht angeschlagen hat (Latge, 1999). Trotzdem hat es den großen Nachteil, dass es ein Inhibitor einiger Subtypen der Zytochrom P-450 Familie ist, welche sich oft in Medikamenten befinden, die häufig von sehr kranken Patienten eingenommen werden. So können sich viele Wechselwirkungen ergeben, beispielsweise mit oral eingenommenen Antikoagulantien, Immunsuppressiva, Kortikosteroiden, Kalziumkanalblockern u.v.m. (Traummüller, Popovic et al., 2011)

Voriconazol hingegen kann sowohl oral als auch intravenös verabreicht werden (Traummüller, Popovic et al., 2011) und gut ins zentrale Nervensystem gelangen, um dort zu wirken. Ist jedoch das zentrale Nervensystem befallen, haben die Patienten trotz der Medikation schlechte Überlebenschancen. (Jantunen, Anttila et al., 2002)

Auch bei pulmonalem oder tracheopulmonalem Befall zeigt Voriconazol gute Wirksamkeit (Denning, Ribaud et al., 2002). Es ist strukturell mit Fluconazol verwandt, kleine Unterschiede jedoch sind die Ursache für ein anderes Wirkungsspektrum (siehe unten) (Odds, Brown et al., 2003).

Bei Aspergillus-Stämmen, die gegen Itraconazol oder Amphotericin B resistent sind, wirkt Voriconazol ebenfalls gut. Ein großer Nachteil des Medikaments besteht in der genetisch festgelegten individuellen Pharmakokinetik bei jedem Patienten und in zahlreichen Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten, weshalb möglicherweise eine

Überwachung bei Gabe dieses Medikaments erforderlich ist. (Traummuller, Popovic et al., 2011)

Trotzdem wird Voriconazol von Bohme, Ruhnke et al. (2003) als das Medikament erster Wahl zur Behandlung der Invasiven Aspergillose empfohlen.

Die Indikation für Fluconazol ist eher bei Prophylaxe oder Therapie der Candida- und Cryptococcus-Infektionen gegeben (Lüllmann und Mohr, 2006).

Posaconazol ist ein lipophiles Triazol, das von Itraconazol abstammt. Allerdings wurde bisher keine intravenös zu verabreichende Form des Medikaments entwickelt. (Traummuller, Popovic et al., 2011)

Trotzdem stellt es im Moment eine bedeutende Therapieoption dar, wenn ein Patient auf die anderen Medikamente nicht anspricht. Zudem wurde es in den Richtlinien der "Infectious Diseases Society of America" als antimykotische Prophylaxe bei Risikopatienten empfohlen. (Walsh, Anaissie et al., 2008)

Caspofungin stammt aus der Gruppe der Echinocandine und ist daraus, neben Micafungin, das einzige aktuell zugelassene Medikament zur Behandlung von IA. Es wirkt als nicht kompetitiver Inhibitor des Enzyms  $\beta(1,3)$ -D-Glucan-Synthase, das für die Herstellung eines nur in der Zellmembran der Pilze existierenden Bausteins, des  $\beta(1,3)$ -D-Glucans, verantwortlich ist. Es kann nur intravenös verabreicht werden. Da allerdings mit Hilfe dieses Medikaments nur selten eine komplette Remission der Erkrankung erzielt werden konnte, ist es vorerst nur in zweiter Linie zur Therapie von IA einzusetzen. (Traummuller, Popovic et al., 2011)

In einigen Fällen gilt neben medikamentöser Behandlung auch eine operative Entfernung des betroffenen Areals als Therapie der Wahl (Traummuller, Popovic et al., 2011).

### **1.6 Ziele dieser Arbeit**

In zahlreichen Studien sind bereits die Risikofaktoren für die Entstehung der IA nach HSCT herausgearbeitet worden. Trotz breiter Studien und wachsendem Wissen über die Entstehung und die Risikofaktoren der IA, ist die Mortalitätsrate der Patienten nach HSCT immer noch sehr hoch (bis zu 80% laut Sun, Xu et al. (2012)) und manche Zusammenhänge noch unklar. Um bereits das Erkrankungsrisiko und die Nebeneffekte bei

## Einleitung

der Behandlung zu verringern, soll in der vorliegenden Arbeit nun an die bereits gewonnenen Erkenntnisse der Vorgängerstudie „Einfluss und Auswirkung verschiedener Faktoren auf die Entstehung einer Aspergillus Infektion bei immunsupprimierten Patienten nach haploidenter Stammzelltransplantation“ von Sandra Kühn angeknüpft werden. Deshalb wird statistisch untersucht, inwieweit die Art der Stammzellspende (haploidente Spende oder HLA-identische Spende von einem Geschwister), die Behandlung der Patienten nach erfolgter Stammzelltransplantation mit GvHD-Prophylaxe und/oder Antimykotischer Prophylaxe und die Vorerkrankungen der Patienten Risikofaktoren für die Entstehung einer Invasiven Aspergillose darstellen. Die bisherigen Studien zu diesem Thema zielten immer lediglich auf den Nachweis der GvHD als Risikofaktor für die Entstehung der IA ab, nie jedoch auf den Zusammenhang zwischen der GvHD-Prophylaxe und der Entstehung der IA. Auch der Zusammenhang zwischen der Wiederherstellung des hämatopoetischen Systems und der Entstehung der IA soll detailliert beleuchtet werden. Dabei werden die Untersuchungen stets auf eine Versuchs- und eine Kontrollgruppe bezogen, die sich in der Art der empfangenen Stammzellspende unterscheiden. So kann ein direkter Vergleich angestellt werden und der Einfluss eines Faktors auf die Entstehung der IA bewertet werden. Daraus ergeben sich folgende Fragestellungen, die im Anschluss bearbeitet und die Ergebnisse kritisch bewertet werden:

- Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Einnahme der GvHD-Prophylaxe und der Entstehung der IA sowohl in der Versuchs-, als auch in der Kontrollgruppe?
- Stellt die Gabe der Antimykotischen Prophylaxe ein Risiko für die Erkrankung an IA in der Versuchs- und/oder der Kontrollgruppe dar?
- Inwieweit gelten Vorerkrankungen als Risikofaktoren für die Entstehung der IA in der Versuchs- und/oder der Kontrollgruppe?
- Hängt die Rekonstitution des hämatopoetischen Systems mit dem Auftreten der IA, sowohl in der Versuchs- als auch in der Kontrollgruppe, zusammen?
- Beeinflusst die Art der Stammzellspende die Wiederherstellung des Immunsystems?

## Einleitung

- Wie hoch ist der Einfluss einer der untersuchten, eben genannten Faktoren (im Vergleich zu den anderen) auf die Entstehung der IA?

Bezüglich der GvHD-Prophylaxe Gabe und der Vorerkrankungen wird ein Zusammenhang zur Entstehung der IA vermutet. Auch bei der Rekonstitution des hämatologischen Systems wird ein Zusammenhang zur Erkrankung an IA für wahrscheinlich gehalten: Je länger die Phase der Wiederherstellung andauert, desto höher ist das Risiko an IA zu erkranken. In Bezug auf die Art der Stammzellspende wird angenommen, dass das Risiko an IA zu erkranken mit der haploidenten Stammzellspende steigt im Vergleich zur HLA-identischen Spende. Ebenso wird vermutet, dass die Art der Stammzellspende die Wiederherstellung des hämatopoetischen Systems beeinflusst. Lediglich in Bezug auf die Antimykotische Prophylaxe-Gabe wird kein Zusammenhang zur Entstehung der IA erwartet.

## **2 Patienten und Methoden**

### **2.1 Patienten**

Zur besseren Vergleichbarkeit der Studien orientierte sich die Auswahl der Patienten an der der Vorgängerstudie „Einfluss und Auswirkung verschiedener Faktoren auf die Entstehung einer Aspergillus Infektion bei immunsupprimierten Patienten nach haploidenter Stammzelltransplantation“ von Sandra Kühn, die die Entstehung der IA nach folgenden Risikofaktoren untersuchte: Anzahl der natürlichen Killerzellen, Anzahl der CD34 Zellen, KIR-Alloreaktivität und GvHD. Des Weiteren wurde geprüft, ob die IA Auswirkungen auf die Überlebensrate der beiden Patientengruppen hat.

#### **2.1.1 Versuchsgruppe**

Von 2005 bis 2010 wurde bei 33 Patienten (22 männlich, elf weiblich) im Zentrum für Innere Medizin des Universitätsklinikums Würzburg eine haploidente Stammzelltransplantation durchgeführt. Das mittlere Alter der Patienten betrug 52 Jahre (17-69). Alle Patienten hatten sich aufgrund persistierender Krankheit oder frühzeitiger Rückfälle einer schweren Vorbehandlung unterzogen. So hatten z.B. zwölf der 33 Patienten im Vorfeld schon eine autologe Stammzelltransplantation erhalten. Fünf Patienten erkrankten bereits in der Vorgeschichte an einer invasiven Pilzinfektion. Die Konditionierung erfolgte auf Fludarabin-Basis und war myeloablativ.

Die zugrunde liegende Krankheit war bei 13 Patienten AML, bei drei Patienten ALL, bei zwölf MM, bei vier Patienten MDS und ein weiterer Patient war an NHL erkrankt.

Die Spender (26 männlich, sieben weiblich) hatten ein mittleres Alter von 41 Jahren (21-67). Es handelte sich ausschließlich um verwandte Spender, die zur Stammzellmobilisation G-CSF erhielten.

Im Vorfeld erfolgte bei acht Transplantaten eine Selektion der CD34+ Zellen, bei 24 Transplantaten eine Depletion der CD3+ und CD19+ Zellen und bei einem Transplantat wurden alle beide Verfahren angewandt.

Bei allen Patienten wurde eine periphere Blutstammzellspende durchgeführt.

Zur Prophylaxe von IFI erhielten zwei Patienten liposomales Amphotericin, vier Voriconazol, sieben Posaconazol und vier Fluconazol. Fünf Patienten erhielten keine diesbezügliche Medikation, bei elf fehlten diese Angaben.

### 2.1.2 Kontrollgruppe

Die Daten der Patienten der Versuchsgruppe wurden mit denen der 39 Patienten (22 männlich, 17 weiblich) verglichen, bei denen eine Stammzelltransplantation mit einem in den HLA-Merkmalen komplett übereinstimmenden ("fully matched") Familienspender durchgeführt wurde. Elf Patienten hatten bereits im Vorfeld eine autologe Stammzelltransplantation, fünf waren früher schon einmal an einer invasiven Pilzinfektion erkrankt.

Die zugrunde liegende Krankheit war bei 14 Patienten AML, bei drei ALL, bei sieben MM, bei drei MDS, bei fünf MPS, bei vier NHL, bei einem HL und bei zwei Patienten AA.

Die Konditionierung erfolgte myeloablativ.

Das mittlere Alter der Spender (16 männlich, 23 weiblich) betrug 56 Jahre (13-70). Auch in dieser Gruppe erhielten alle Spender zur Stammzellmobilisation G-CSF.

Ebenso wie bei der Versuchsgruppe wurde auch bei der Kontrollgruppe eine periphere Blutstammzellspende durchgeführt.<sup>1</sup>

Zur Prophylaxe der IFI erhielt ein Patient liposomales Amphotericin, drei erhielten Voriconazol, zehn Posaconazol und 23 Fluconazol. Zwei Patienten erhielten keine antimykotische Prophylaxe.

## 2.2 Methoden

Zunächst wurden verschiedene Parameter retrospektiv aus den Patientenkrankenakten tabellarisch erfasst<sup>2</sup>:

- zelluläre Bestandteile des Blutes:

<sup>1</sup> Vielen Dank an meine Vorgängerin Sandra Kühn für das Überlassen der Daten zu Alter und Geschlecht der Spender und Empfänger der Versuchs- und Kontrollgruppe sowie zu Konditionierung, Art der Stammzellspende und im Vorfeld stattgefundenen Transplantationen.

<sup>2</sup> Die Auswertung der Daten unterlag den Datenschutzbestimmungen der lokalen Ethikkommission und wurde pseudonymisiert durchgeführt. Außerdem wurden die Standards der Deklaration von Helsinki (revidierte Fassung von 1975 sowie Ergänzungen von 1983, 1989, 1996, 2000, 2002, 2004, 2008 und 2013) eingehalten.

## Patienten und Methoden

- Leukozyten
  - Lymphozyten
  - Monozyten
  - Neutrophile Granulozyten
    - Stabkernige neutrophile Granulozyten
    - Segmentkernige neutrophile Granulozyten
  - Eosinophile Granulozyten
  - Basophile Granulozyten
- Thrombozyten
- Erythrozyten
- Hämatokrit
- Hämoglobin
- Einige Bestandteile des Serums:
  - Elektrolyte (Kationen)
    - Natrium
    - Kalium
    - Kalzium
  - niedermolekulare Nichtelektrolyte
    - Harnstoff
    - Harnsäure
    - Kreatinin
    - Glukose

- Proteine (Gesamtprotein)
  - CRP
- Weitere Blutwerte wie:
  - Bilirubin
  - MCH
  - MCV
  - MCHC
- Einige Enzyme:
  - LDH
  - AP
  - GPT =ALAT
  - GOT =ASAT
- Medikamente (teilweise mit Dosierung)
  - GvHD-Prophylaxe-Medikamente
    - Sandimmun Optoral
    - Rapamune
    - Certican
    - CellCept
    - Decortin H
    - Entocort
    - Methotrexat
    - Enbrel

- Antimykotische Prophylaxe-Medikamente
  - Fluconazol
  - Noxafil
  - VFend
- Vorerkrankungen anhand Sorror Score

Tabelle 4 zeigt beispielhaft einen Ausschnitt aus einer Tabelle, in der die Werte eines Patienten aus der Versuchsgruppe zu verschiedenen Tagen eingetragen wurden. Diese Daten wurden für jeden Patienten sowohl aus der Versuchs- als auch aus der Kontrollgruppe erhoben und in Form solcher Tabellen gesammelt. „d+“ bezeichnet den Tag X nach der Transplantation, also d+ 38 (wie oben zu sehen) bedeutet, dass in dieser Zeile alle Werte des 38. Tages nach Transplantation festgehalten wurden. Zunächst wurden sämtliche verfügbaren Parameter in den Tabellen festgehalten, später entschied man sich, aufgrund der unübersichtlichen Datenmenge oder teilweise zu wenigen Messwerten bei einigen Parametern, nur ausgewählte Parameter weiter zu verfolgen und die Fragestellung einzugrenzen. Deshalb wurden für das weitere Vorgehen nur noch folgende Parameter erfasst:

Anzahl der Leukozyten, Lymphozyten, Thrombozyten, Monozyten, stabkernigen neutrophilen Granulozyten, segmentkernigen neutrophilen Granulozyten, der Hämoglobin- und der Hämatokritwert. Außerdem wurde erfasst ob der Patient eine GvHD-Prophylaxe erhalten hatte und/oder eine Antimykotische Prophylaxe und welche Vorerkrankungen er hatte. Zur Einstufung mancher Vorerkrankungen wurde außerdem noch der Bilirubin- und Kreatininwert, sowie GOT und GPT benötigt.

In Tabelle 5, Tabelle 6 und Tabelle 7 sind weitere Ausschnitte aus der gleichen Tabelle desselben Patienten aus der Versuchsgruppe gezeigt.

**Tabelle 4:                    Ausschnitt 1 aus Tabelle mit Werten eines Patienten der Versuchsgruppe**

d+	Anzahl aller Leukozyten (n x1000/ $\mu$ l)	Lymphozyten (n x1000/ $\mu$ l)	Monozyten (n x1000/ $\mu$ l)	Basophile Granulozyten (n x1000/ $\mu$ l)	Eosinophile Granulozyten (n x1000/ $\mu$ l)	Segmentkernige neutrophile Granulozyten (%)

## Patienten und Methoden

d+	Anzahl aller Leukozyten (n x1000/ $\mu$ l)	Lymphozyten (n x1000/ $\mu$ l)	Monozyten (n x1000/ $\mu$ l)	Basophile Granulozyten (n x1000/ $\mu$ l)	Eosinophile Granulozyten (n x1000/ $\mu$ l)	Segmentkernige neutrophile Granulozyten (%)
38	14	1,49	2,42	0	0	63
45	18,2	1,41	1,27	0	0	82
63	13,7	1,59	0,65	0	0	75
74	7	0,86	0,67	0	0	76
87	8,2	1,22	1,38	0	0	67
101	4,3	0,69	0,32	0	0,1	76
106	3	0,5	0,25	0	0,1	65
126	6,8	1,17	1,34	0,1	0,2	55
140	8,3	1,12	0,82	0,1	0,8	50
151	5,4	/	/	/	/	51
162	5,2	/	/	/	/	43
179	2,7	/	/	/	/	32
203	7	/	/	/	/	44
206	7,9	/	/	/	/	51
212	5,8	/	/	/	/	56
228	5,9	/	/	/	/	51
239	7,4	/	/	/	/	44
245	3,8	/	/	/	/	55
247	3,2	1,05	0,64	0	0	/
287	5,9	/	/	/	/	51

**Tabelle 5: Ausschnitt 2 aus Tabelle mit Werten eines Patienten der Versuchsgruppe**

d+	Stabkernige neutrophile Granulozyten (%)	Thrombozyten (n x 1000/ $\mu$ l)	Erythrozyten (n x 10E6/ $\mu$ l)	Hämoglobin (g/dl)	Hämatokrit (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)
38	9	41	3,29	9,8	28,9	87,8	29,8	33,9
45	2	58	3,18	9,6	28,3	89	30,2	33,9
63	6	62	3,04	9,9	29	95,4	32,6	34,1
74	6	47	3,09	10,6	31,8	102,9	34,3	33,3
87	4	41	3,16	11	32,3	102,2	34,8	34,1
101	2	18	2,86	9,8	30	104,9	34,3	32,7
106	11	18	2,67	9,5	28,1	105,2	35,6	33,8
126	4	73	3,39	11,4	35,4	104,4	33,6	32,2
140	13	54	3,24	11,2	33,9	104,6	34,6	33

## Patienten und Methoden

d+	Stabkernige neutrophile Granulozyten (%)	Thrombozyten (n x 1000/ $\mu$ l)	Erythrozyten (n x 10E6/ $\mu$ l)	Hämoglobin (g/dl)	Hämatokrit (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)
151	3	51	3,15	11,3	33,8	107,3	35,9	33,4
162	3	92	3,32	11,6	35,9	108,1	34,9	32,3
179	/	86	3,43	12,2	37,2	108,5	35,6	32,8
203	3	61	3,5	12,6	37,7	107,7	36	33,4
206	3	63	3,47	12,5	37,5	108,1	36	33,3
212	2	75	3,54	12,8	38,3	108,2	36,2	33,4
228	3	84	3,37	12,2	37	109,8	36,2	33
239	7	102	3,28	11,8	35,9	109,5	36	32,9
245	10	64	3,14	11,4	34,7	110,5	36,3	32,9
247	/	56	3,13	10,9	33,3	106,4	34,8	32,7
287	3	84	3,37	12,2	37	109,8	36,2	33

**Tabelle 6:                    Ausschnitt 3 aus Tabelle mit Werten eines Patienten der Versuchsgruppe**

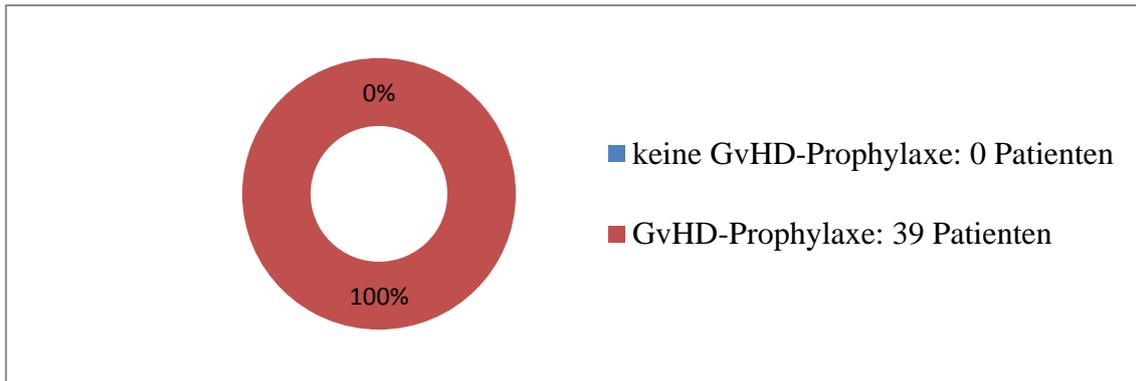
d+	Natrium (mmol/l)	Kalium (mmol/l)	Kalzium (mmol/l)	Kreatinin (mg/dl)	Glukose (mg/dl)	Harnstoff (mg/dl)	Harnsäure (mg/dl)
38	136	4,4	2,3	1,5	116	61,9	/
45	139	4,1	2,3	1,1	130	47,3	/
63	136	4,1	/	1,2	96	82,2	/
74	140	3,7	/	1,2	79	47,4	/
87	138	3,8	/	1,1	91	50,3	/
101	141	3,6	/	1,1	82	38,1	/
106	139	3,7	/	1,2	98	40,8	/
126	141	4,1	/	1	91	37	/
140	141	3,8	/	1,1	92	36,8	/
151	141	4,2	/	1,1	76	/	37,9
162	141	4,2	/	1	82	42,8	/
179	141	4,2	/	0,9	89	46,2	/
203	138	4	/	1,1	97	43,7	/
206	138	3,8	/	1	103	41,4	/
212	139	4,1	/	1	88	45,3	/
228	140	4,1	/	1	85	38,9	/
239	139	4,5	/	1	94	49,3	/
245	137	4,1	/	1,1	94	45,8	/
247	137	4,1	/	0,9	123	48,2	6,6
287	140	4,1	/	1	85	38,9	/

**Tabelle 7: Ausschnitt 4 aus Tabelle mit Werten eines Patienten der Versuchsgruppe**

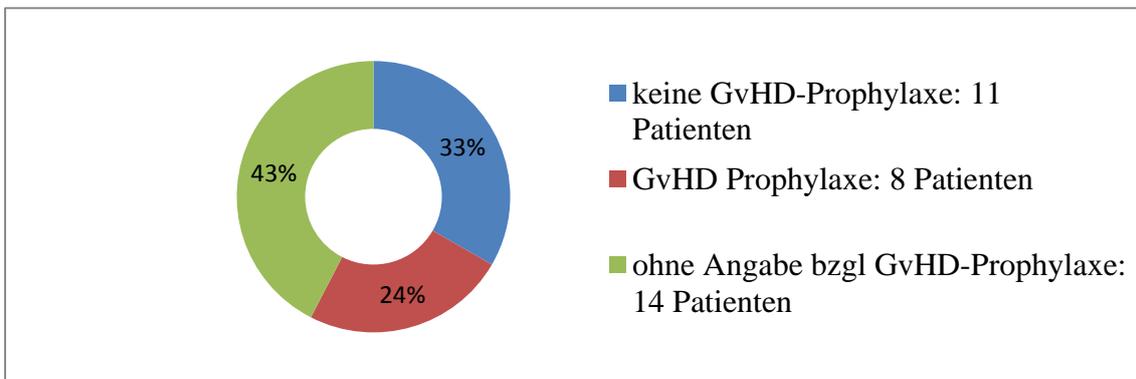
d+	Alkalische Phosphatase (U/l)	GPT (ALAT) (U/l)	GOT (ASAT) (U/l)	LDH (U/l)	Gesamt-Protein (g/dl)	gesamtes Bilirubin (mg/dl)	C-reaktives Protein (mg/dl)
38	275	292	141	251	/	0,5	0,77
45	227	684	305,4	323	/	0,8	0,53
63	136	133,7	32	303	/	1	0,24
74	95	191	64	319	/	0,9	1,73
87	67	97	40	378	/	1,1	0,19
101	76	81	34	386	/	0,8	2,64
106	74	60	34	368	/	1	2,39
126	108	270,3	123,1	384	/	0,6	2,33
140	116	248	80	363	/	0,9	1,26
151	99	106	44	270	/	0,9	0,67
162	85	96	44	303	/	0,7	0,4
179	62	94	37	382	/	0,4	0,51
203	68	86	41	484	/	1	1,09
206	70	81	37	455	/	0,7	1,14
212	67	108	39	427	/	0,8	0,57
228	65	63	27	446	/	0,5	1,13
239	57	58,1	25,7	556	/	0,7	0,31
245	67	124	41	670	/	0,6	6,63
247	/	124	36,5	705	4,8	/	5,78
287	65	63	27	446	/	0,5	1,13

**2.2.1 Patientenunterteilung nach Erhalt der GvHD-Prophylaxe und Testverfahren zur Überprüfung des Risikofaktors GvHD-Prophylaxe-Gabe für die Entwicklung der IA**

Es wurde untersucht, ob das Risiko des Auftretens der Invasiven Aspergillose mit der Behandlung der Patienten mit einer Graft-versus-Host-Disease-Prophylaxe (GvHD-Prophylaxe) im Zusammenhang steht. Deshalb wurden alle Patienten sowohl in der Versuchs- als auch in der Kontrollgruppe unterteilt in „Patienten mit GvHD-Prophylaxe“ und „Patienten ohne GvHD-Prophylaxe“: Bei 39 Patienten der Kontrollgruppe erhielten alle (100%) die Prophylaxe (Abbildung 3), in der Versuchsgruppe mit 33 Patienten erhielten acht (24%) die GvHD-Prophylaxe, elf erhielten keine (33%), bei 14 (43%) fehlt die diesbezügliche Angabe (Abbildung 4).

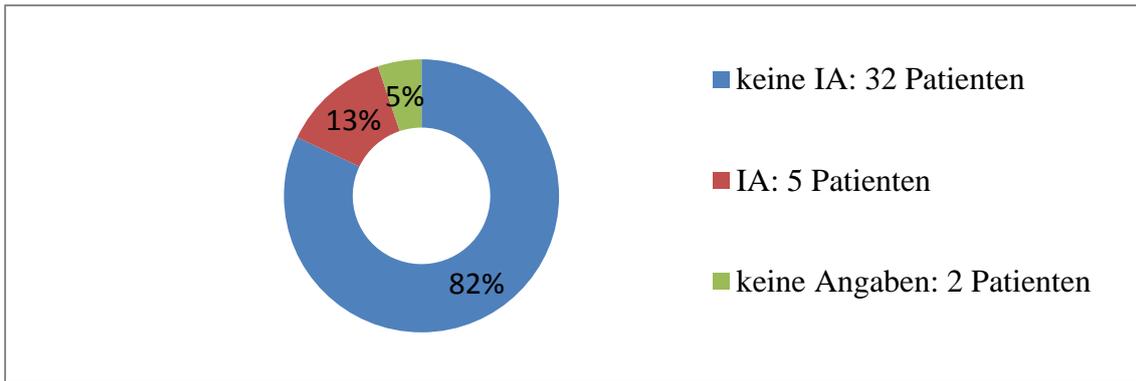


**Abbildung 3:** Einteilung der Patienten der Kontrollgruppe nach Erhalt der GvHD-Prophylaxe



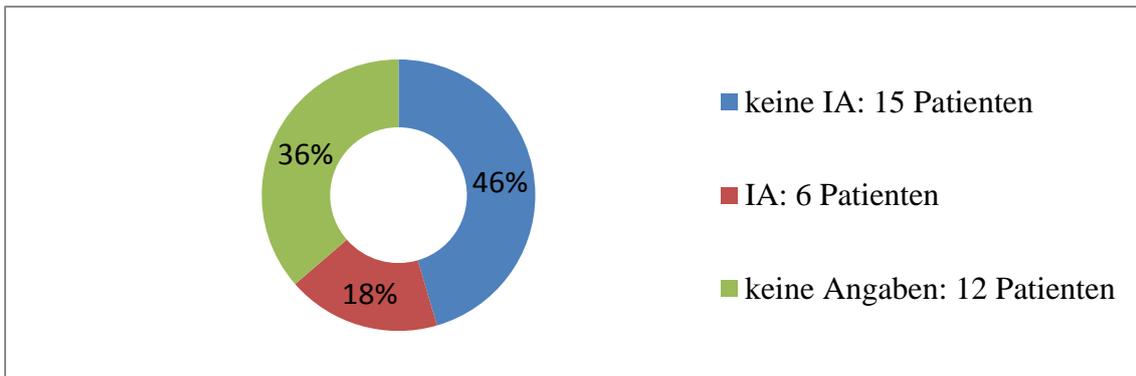
**Abbildung 4:** Einteilung der Patienten der Versuchsgruppe nach Erhalt der GvHD-Prophylaxe

Des Weiteren wurden alle Patienten, ebenfalls in beiden Gruppen separat, in „an IA Erkrankte“ und „nicht an IA Erkrankte“ eingeteilt (gemäß den neuen EORTC Kriterien, wobei nur die Fälle mit „probable“ und „proven“ als an IA Erkrankte gezählt wurden): In der Kontrollgruppe erkrankten fünf Patienten (13%) an Invasiver Aspergillose, 32 erkrankten nicht, bei den restlichen zwei Patienten (5%) fehlt die diesbezügliche Angabe (Abbildung 5).



**Abbildung 5: Einteilung der Patienten der Kontrollgruppe nach Erkrankung an IA**

Bei den Patienten der Versuchsgruppe litten sechs (18%) unter der Erkrankung, 15 Patienten (46%) hatten keine Beschwerden diesbezüglich, bei zwölf (36%) konnte man keine Angaben zur Erkrankung an IA finden (Abbildung 6).



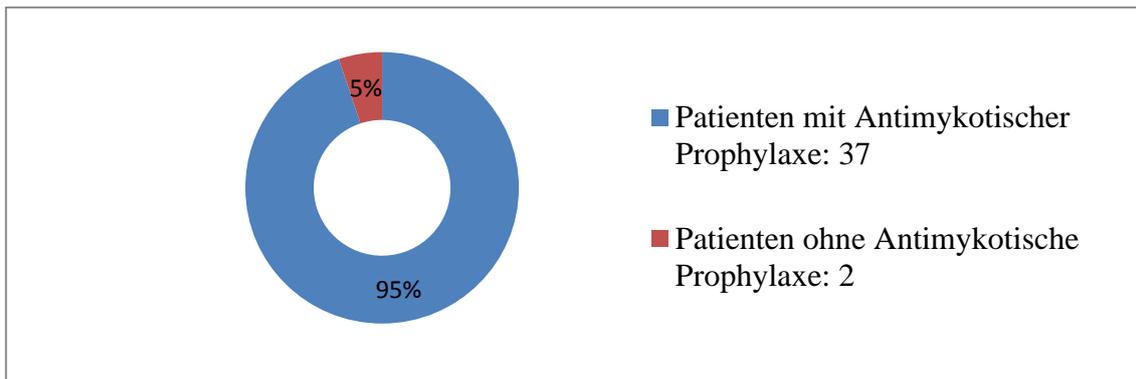
**Abbildung 6: Einteilung der Patienten der Versuchsgruppe nach ihrer Erkrankung an IA**

Mit Hilfe des Programms „IBM SPSS Statistics 21 Premium“ konnte dann in beiden Gruppen separat der Exakte Test nach Fisher durchgeführt werden, der den eben genannten Zusammenhang auf seine Signifikanz prüft. Dieser Test ist hierbei anzuwenden, da er auch bei geringem Stichprobenumfang (nur sechs Patienten waren in der Versuchsgruppe an IA erkrankt, in der Kontrollgruppe nur fünf) zuverlässige Resultate liefert und es sich um kategoriale Variablen handelt. Es wurde ein Signifikanzniveau von 5% angenommen.

### **2.2.2 Patientenunterteilung nach Erhalt der Antimykotischen Prophylaxe und Testverfahren zur Überprüfung des Zusammenhangs zwischen Antimykotischer Prophylaxe-Gabe und IA**

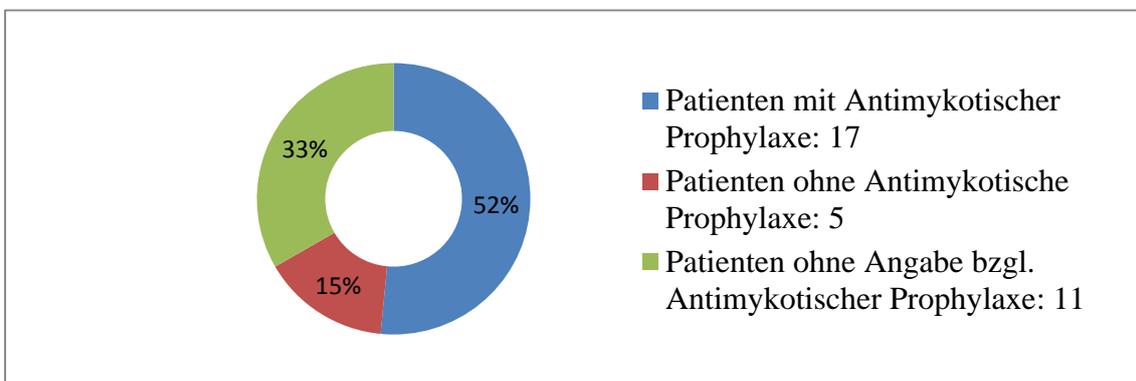
Des Weiteren wurde das Risiko des Auftretens der Invasiven Aspergillose in Zusammenhang mit der Verabreichung einer Antimykotischen Prophylaxe erforscht. Hierfür

wurden wiederum die Patienten, sowohl in der Versuchs- als auch in der Kontrollgruppe, eingeteilt nach „Patienten mit Antimykotischer Prophylaxe“ und „Patienten ohne Antimykotischer Prophylaxe“: In der Kontrollgruppe mit 39 Patienten erhielten 37 Patienten (95%) die Antimykotische Prophylaxe während 2 (5%) keine bekamen (Abbildung 7).



**Abbildung 7:** Einteilung der Patienten der Kontrollgruppe nach Erhalt der Antimykotischen Prophylaxe

In der Versuchsgruppe mit 33 Patienten wurde 17 Patienten (52%) die Prophylaxe verabreicht, 5 (15%) erhielten keine und bei elf Patienten (33%) konnte man keine Angaben dazu finden (Abbildung 8).



**Abbildung 8:** Einteilung der Patienten der Versuchsgruppe nach Erhalt der Antimykotischen Prophylaxe

Es wurden wiederum alle Patienten, ebenfalls in beiden Gruppen separat, in „an IA Erkrankte“ und „nicht an IA Erkrankte“ eingeteilt (Abbildung 5, Abbildung 6, Erläuterung unter Abschnitt 2.2.1). Analog zur Überprüfung ob ein Zusammenhang zwischen der Entstehung der Invasiven Aspergillose und der Gabe der GvHD-Prophylaxe besteht, wurde auch hier beim Risikofaktor „Verabreichen der Antimykotischen Prophylaxe“ der Exakte Test nach Fisher im Programm „IBM SPSS Statistics 21 Premium“ ange-

wandt. Mit diesem Signifikanztest wurde hierbei aus denselben, bereits oben aufgeführten Gründen gearbeitet und ein Signifikanzniveau von 5% angenommen.

### 2.2.3 Einstufung der Vorerkrankungen gemäß Sorrow-Score und Testverfahren zur Überprüfung des Risikofaktors Vorerkrankung für die Entstehung der IA

Ebenso wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten der Invasiven Aspergillose und den bereits bekannten Vorerkrankungen der Patienten besteht. Hierfür wurden alle Patienten gemäß dem Sorrow Score (HCT-CI Score) eingeteilt. Die Vorerkrankungen der Patienten waren aus den Anamnesen und Arztbriefen ersichtlich, sodass jedem Patienten eine bestimmte Anzahl an HCT-CI Punkten zugeteilt werden konnte. Die Punktevergabe orientiert sich an den in Tabelle 8 gezeigten Richtlinien.

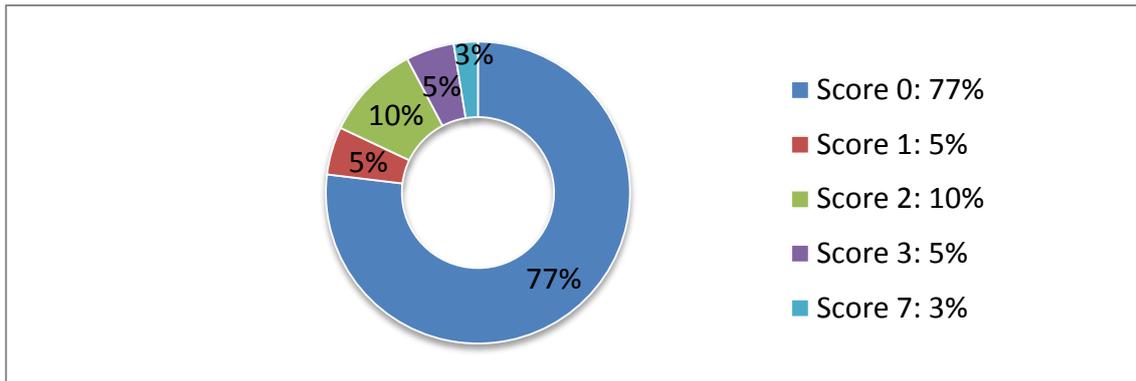
**Tabelle 8: HCT-CI Score (Sorrow, Maris et al., 2005)**

<b>Komorbidität</b>	<b>HCT-Punkte</b>	<b>Anzahl an erkrankten Patienten</b>
Arrhythmie (VH-Flimmern, VH-Flattern, Sick-Sinus-Syndrom, ventrikuläre Arrhythmien)	1	0
Kardiale Vorerkrankungen (KHK, Herzinsuffizienz, Zustand nach Myokardinfarkt, EF < 50%)	1	2
Herzklappenerkrankung (außer Mitralprolaps)	3	0
Leichte Lungenfunktionsstörung (DLCO und/oder FEV1 66-80%; Dyspnoe bei leichter Belastung)	2	4
Schwere Lungenfunktionsstörung (DLCO und/oder FEV1 < 65%; Ruhedyspnoe, Sauerstoff-Therapie erforderlich)	3	1
Leichte Leberfunktionsstörungen (chronische Hepatitis, Bilirubin erhöht < 1,5x der oberen Norm; GOT/GPT erhöht < 2,5x der oberen Norm)	1	3
Schwere Leberfunktionsstörung (Leberzirrhose, Bilirubin erhöht >1,5x der oberen Norm; GOT/GPT erhöht > 2,5x der oberen Norm)	3	0

## Patienten und Methoden

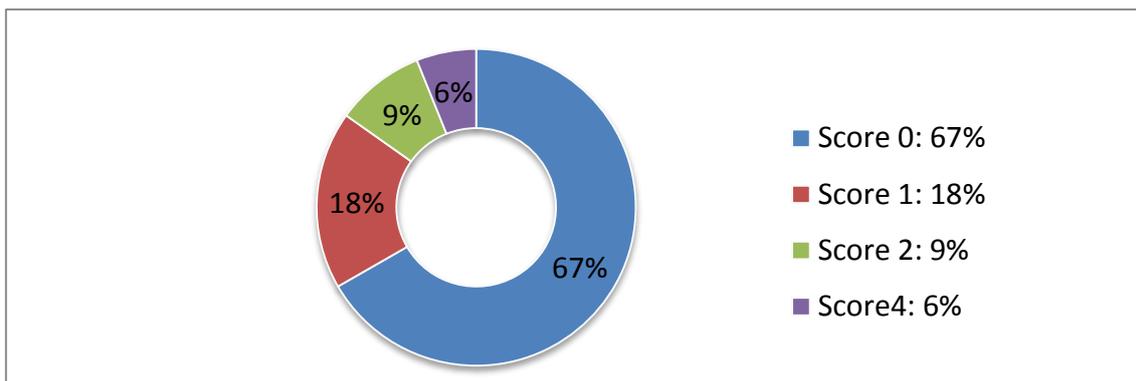
<b>Komorbidität</b>	<b>HCT- Punkte</b>	<b>Anzahl an erkrankten Patienten</b>
Leichte/ schwere Nierenfunktionsstörung (Serumkreatinin > 2mg/dl, Dialyse, vorige Nierentransplantation)	2	0
Diabetes (mit medizinischer Therapie)	1	5
Adipositas (BMI > 35kg/m <sup>2</sup> )	1	4
Rheumatologische Grunderkrankung (SLE, RA, Polymyositis, mixed CTD, Polymyalgia rheumatica)	2	1
Magenulcus (mit Behandlungsbedarf)	2	0
Psychiatrische Erkrankungen (Depression mit Behandlungsbedarf)	1	0
Chronisch entzündliche Darmerkrankungen (Morbus Crohn, Colitis Ulcerosa)	1	1
Infektionsneigung (durchgehende antimikrobielle Behandlung notwendig)	1	5
Cerebrovaskuläre Erkrankungen (transitorische ischämische Attacke, Apoplex)	1	0
vorige solide Tumorerkrankungen (außer Nicht-Melanom-Hautkrebs)	3	3
Abkürzungen: VH: Vorhof; KHK: koronare Herzkrankheit; EF: Ejektionsfraktion; DLCO: Diffusionskapazität für Kohlenmonoxid; FEV1: forcierte Einsekundenkapazität; GOT: Glutamat-Oxalacetat-Transaminase; GPT: Glutamat-Pyruvat-Transaminase; BMI: Body-Mass-Index; SLE: Systemischer Lupus erythematodes; RA: rheumatoide Arthritis; mixed CTD: mixed connective tissue disease		

Da in der Kontrollgruppe von insgesamt 39 Patienten (entspricht 100%) nur vier Patienten (10%) Score 2, zwei Patienten (5%) Score 3 und ein Patient (3%) Score 7 erreichten, wurden die Patienten mit Score 2, 3 und 7 denen mit Score 1 hinzugefügt (Abbildung 9).



**Abbildung 9:** Ursprüngliche Einteilung der Patienten der Kontrollgruppe gemäß Sorrow-Score

Ebenso wurde in der Kontrollgruppe verfahren. Hier erreichten von 33 Patienten (entspricht 100%) nur drei Patienten (9%) Score 2 und nur zwei Patienten (6%) Score 4 erreichten, wurden diese Patienten den sechs Patienten (18%) mit Score 1 hinzugefügt (Abbildung 10).



**Abbildung 10:** Ursprüngliche Einteilung der Patienten der Versuchsgruppe gemäß Sorrow-Score

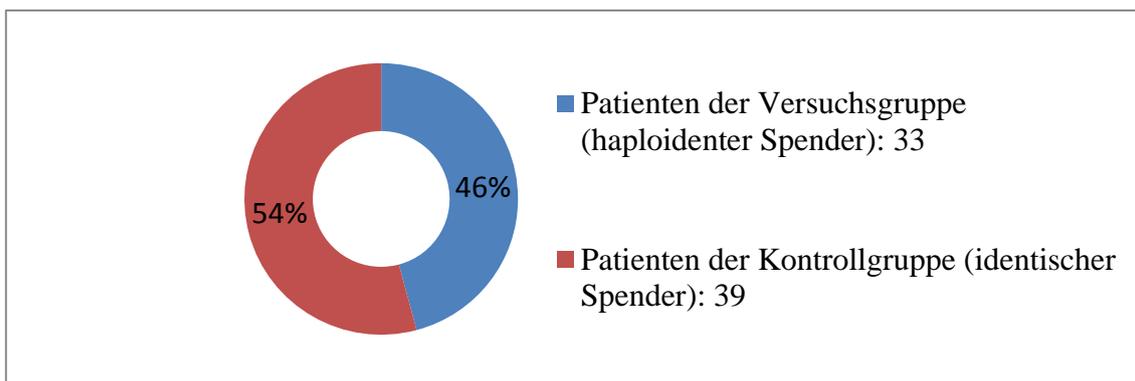
Bei insgesamt 72 Patienten waren die häufigsten Erkrankungen: Diabetes bei fünf Patienten, eine erhöhte Infektionsneigung bei fünf Patienten (beispielsweise aufgrund von Pneumonien, Aspergillosen oder Candidosen in der Vergangenheit), leichte Lungenfunktionsstörungen bei vier Patienten und weitere vier Patienten waren adipös (Tabelle 8).

Um nun herauszufinden, ob die Vorerkrankungen in Zusammenhang mit der Entstehung der IA stehen, wurden die Patienten in beiden Gruppen zusätzlich in „an IA Erkrankte“ und „nicht an IA Erkrankte“ gemäß den neuen EORTC-Kriterien unterteilt (Abbildung 5, Abbildung 6, Erläuterung unter Abschnitt 2.2.1). Mit Hilfe des Programms „IBM SPSS Statistics 21 Premium“ wurde dann wiederum in beiden Gruppen separat der

Exakte Test nach Fisher durchgeführt. Die Gründe, warum man sich für diesen Test entschied, sind bereits unter Abschnitt 2.2.1 aufgeführt. Ein Signifikanzniveau von 5% wurde angenommen.

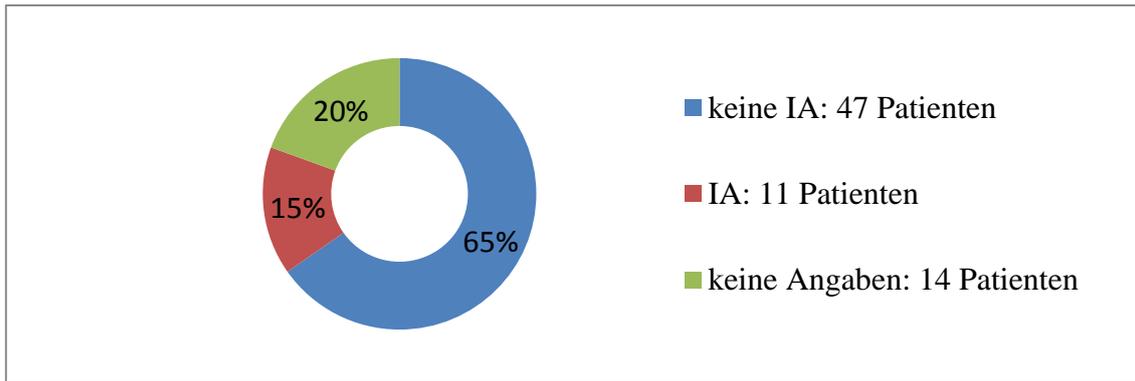
### 2.2.4 Patientenunterteilung nach Art der Stammzellspende und Testverfahren zur Überprüfung des Zusammenhangs zwischen Art der Stammzellspende und Erkrankung an IA

Um zu erforschen, ob das Risiko für die Entstehung der IA mit der Durchführung der haploidenten Stammzellspende zusammenhängt, wurden im nächsten Schritt die Patienten nach ihrer Gruppenzugehörigkeit und damit nach Art der empfangenen Spende, eingeteilt. Von den insgesamt 72 Patienten umfasst die Versuchsgruppe 33 Personen (46%) mit jeweils einem haploidenten Spender, die Kontrollgruppe besteht aus 39 Personen (54%) mit jeweils einem identischen Spender (Abbildung 11).



**Abbildung 11:** Einteilung der Patienten nach Art der Spende (entspricht Gruppenzugehörigkeit)

Zusätzlich wurden alle Patienten in „an IA Erkrankte“ und „nicht an IA Erkrankte“ unterteilt. Insgesamt erkrankten elf Patienten (15%) an dieser Pilzinfektion, 47 Personen (65%) erkrankten nicht und bei 14 Patienten (20%) wurde diesbezüglich keine Angabe gemacht (Abbildung 12).



**Abbildung 12:** Einteilung der Patienten nach Erkrankung an IA (gemäß neuen EORTC Kriterien)

Auch beim Überprüfen dieses Zusammenhangs auf Signifikanz wurde aus den bereits genannten Gründen der Exakte Test nach Fisher mit dem Programm „IBM SPSS Statistics 21 Premium“ durchgeführt. Wiederum wurde ein Signifikanzniveau von 5% angenommen.

### **2.2.5 Zusammenhang zwischen der Wiederherstellung des hämatopoetischen Systems und dem Auftreten der IA**

Um zu evaluieren, ob ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten der Invasiven Aspergillose und der Wiederherstellung des hämatopoetischen Systems besteht, wurde die Anzahl der Leukozyten, Lymphozyten, Thrombozyten, Monozyten, stabkernigen neutrophilen Granulozyten, segmentkernigen neutrophilen Granulozyten, der Hämoglobin- und der Hämatokritwert der Patienten der Versuchsgruppe, die eine IA entwickelt hatten mit der Anzahl der jeweiligen Zellart oder mit dem Wert des jeweiligen Parameters der Patienten aus der Versuchsgruppe, die nicht an IA (nach EORTC Kriterien) erkrankt waren, verglichen. Diesen Vergleich stellte man für jeden der eben genannten Parameter zu verschiedenen, bestimmten Tagen an.

Hierfür wurde bei jedem Patienten für jeden Parameter der jeweilige Wert an Tag 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330 und Tag 360 nach Transplantation aufgenommen. Da nicht bei jedem Patienten Werte für denselben Tag nach Transplantation vorlagen, nahm man, um die besser vergleichen zu können, die Werte der Messtage, die Tag 30, Tag 60, Tag 90 (usw.) nach Transplantation am nächsten waren. Zusätzlich unterteilte man die Patienten nach „Erkrankung an IA“ (linke Spalte) und „keine Erkrankung an IA“ (rechte Spalte) und schrieb dann den jeweiligen Wert des gemessenen Parameters in die jeweilige Spalte. In Tabelle 9 ist zur Veranschaulichung und zum bes-

## Patienten und Methoden

seren Verständnis ein Ausschnitt aus der Tabelle mit der Leukozytenanzahl an Tag 30 und Tag 60 für die Patienten der Versuchsgruppe gezeigt. So kann man hier erkennen, dass Patient 1 der Versuchsgruppe keine Aspergillose entwickelt hat. Deshalb wurde die Anzahl seiner Leukozyten an Tag 30 in die linke Spalte „Leukozytenanzahl an Tag 30 in (n x 1000/μl) bei Patienten ohne IA“ eingetragen. Wie man der Tabelle entnehmen kann, entwickelte im Gegensatz dazu zum Beispiel Patient 15 eine Invasive Aspergillose. Infolgedessen wurden die Werte dieses Patienten in der jeweils rechten Spalte „Leukozytenanzahl an Tag X in (n x 1000/μl) bei Patienten ohne IA“ notiert.

**Tabelle 9 :** Beispielhafter Ausschnitt aus Tabelle der Patienten der Versuchsgruppe mit Leukozytenanzahl an Tag 30 und 60, wobei Patienten unterteilt sind nach Erkrankung an IA

Einteilung der Patienten nach neuen E-ORTC Kriterien		LEGENDE: /= keine Angaben 0= nicht an Invasiver Aspergillose erkrankt 1= an Invasiver Aspergillose erkrankt				
nicht an IA Erkrankte	an IA Erkrankte	Patient	Leukozytenanzahl an Tag 30 in (n x 1000/μl) bei Patienten ohne IA	Leukozytenanzahl an Tag 30 in (n x 1000/μl) bei Patienten mit IA	Leukozytenanzahl an Tag 60 in (n x 1000/μl) bei Patienten ohne IA	Leukozytenanzahl an Tag 60 in (n x 1000/μl) bei Patienten mit IA
0		1	14		13,7	
/		2				
0		3	2,3		0,4	
	1	4		3,1		
0		5				
/		6				
	1	7		2,3		2,3
	1	8				
0		9	2			
0		10				
0		11	9,5		2	
0		12	2,7		12,7	
0		13				
0		14	4,4		11,9	
	1	15		6,1		2,2
0		16	8,6		1,7	
	1	17		11,6		0,1
0		18	2,1		1	
0		19	4,8		4,9	
0		20	5,1			
	1	21		7,2		2,9
0		22			6,7	
/		23				
0		24	6,7		5,8	
/		25				

/		26				
/		27				
/		28				
/		29				
/		30				
/		31				
/		32				
/		33				

Mit Hilfe des t-Tests für unverbundene Stichproben im Programm „Microsoft Office Excel 2007“ wurde nun der oben genannte Vergleich angestellt. Somit wurde getestet - wie bereits erwähnt- ob die IA mit der Wiederherstellung des hämatopoetischen Systems, also der Anzahl bestimmter Zellen oder Werte in Zusammenhang steht. Der t-Test für unverbundene Stichproben wurde hierfür ausgewählt, da es sich um metrische Variablen handelt und dieser Test den Mittelwertunterschied zweier unabhängiger Stichproben prüft. Da der t-Test die Voraussetzung hat, dass die Varianzen in beiden zu vergleichenden Gruppen gleich groß sind, führte man zuvor noch den F-Test durch. Wenn der F-Test signifikant war, wurde der t-Test durch den Welch-Test ersetzt.

Dasselbe Verfahren wurde auf die Werte der Patienten der Kontrollgruppe angewandt.

Bei beiden Gruppen wurde ein Signifikanzniveau von 5% angenommen.

#### **2.2.6 Testverfahren zur Überprüfung des Zusammenhangs zwischen Wiederherstellung des hämatopoetischen Systems und der Art der Stammzellspende**

Im Anschluss an die eben beschriebenen Tests wurde -zur Überprüfung des Zusammenhangs zwischen der Wiederherstellung des Immunsystems und der Art der Stammzellspende- folgender Vergleich angestellt:

An jedem einzelnen Tag, an dem die Werte (Leukozyten-, Lymphozyten-, Thrombozyten-, Monozyten-, stabkernige neutrophile Granulozyten- und segmentkernige neutrophile Granulozytenanzahl sowie Hämatokrit und Hämoglobinwert) gesammelt worden waren (also Tag 30, 60, 90 usw.), wurden die Werte der Patienten der Versuchsgruppe mit denen der Patienten der Kontrollgruppe verglichen. Dabei zog man nur die Patienten aus beiden Gruppen heran, die keine IA entwickelt hatten. Außerdem wurde der Vergleich zwischen den Gruppen nur zu denselben Zeitpunkten, also denselben Messstagen angestellt.

Ebenso verfuhr man mit den Werten eines jeweiligen Tages der Patienten der Versuchs- und der Kontrollgruppe, die an Invasiver Aspergillose erkrankt waren.

Zum besseren Verständnis ein Beispiel: Der Mittelwert aller Thrombozyten (der Patienten der Versuchsgruppe) an Tag 180, die eine IA entwickelt hatten, wurde mit dem Mittelwert aller Thrombozyten (der Patienten der Kontrollgruppe) an Tag 180 verglichen, die sich eine Invasive Aspergillose zugezogen hatten. Ebenso wurde der Mittelwert aller Thrombozyten (der Patienten der Versuchsgruppe) an Tag 180, die keine Invasive Aspergillose hatten, mit dem Mittelwert aller Thrombozyten (der Patienten der Kontrollgruppe) an Tag 180, die ebenfalls keine solche Pilzinfektion hatten, verglichen.

Dieser Vergleich der Mittelwerte wurde wiederum mit Hilfe des t-Tests für unverbundene Stichproben (mit vorangegangenem F-Test) mit dem Programm „Microsoft Office Excel 2007“ aus den in Abschnitt 2.2.5 aufgeführten Gründen angestellt. Somit prüfte man den oben genannten Zusammenhang auf seine Signifikanz, wobei ein Signifikanzniveau von 5% angenommen wurde

### **2.2.7 Einfluss eines einzelnen Risikofaktors auf die Entstehung der IA in Abhängigkeit aller anderen Risikofaktoren**

Da bisher immer nur jeder Risikofaktor einzeln, in Unabhängigkeit von den anderen zu testenden Risikofaktoren, auf seinen Zusammenhang mit der Entstehung der Invasiven Aspergillose überprüft wurde, sollten im nächsten Schritt alle Risikofaktoren gleichzeitig auf ihren Einfluss auf die Invasive Aspergillose getestet werden. Dazu dient die logistische Regression als multivariate Analyse, die wiederum mit Hilfe des Programmes „IBM SPSS Statistics 21 Premium“ gerechnet werden kann. Auch hierbei gilt ein Signifikanzniveau von 5%. Mangels Patienten konnte man diesen Test allerdings nicht in jeder Gruppe separat durchführen, sondern rechnete ihn nur einmal mit allen Variablen und nahm die Gruppenvariable (haploident/ identisch) zusätzlich als Variable auf. Da außerdem bei den meisten, das hämatopoetische System betreffenden Variablen (Zellzahlen sowie Hämoglobin und Hämatokrit an den unterschiedlichen Messtagen) zu wenige Werte verfügbar waren, wurden nur folgende Variablen in die logistische Regression aufgenommen und in Abhängigkeit der anderen Variablen auf ihren Einfluss auf die Entstehung der Invasiven Aspergillose getestet: Gruppenvariable (haploident/identisch), GvHD-Prophylaxe, Antimykotische Prophylaxe, Sorrow Score, Leukozytenanzahl an Tag 30, Thrombozytenanzahl an Tag 30, Hämoglobin an Tag 30.

## Patienten und Methoden

Zusätzlich wurden wiederum alle Patienten in „an Invasiver Aspergillose Erkrankte“ und „nicht an Invasiver Aspergillose Erkrankte“ eingeteilt.

So konnten von den insgesamt 72 zur Verfügung stehenden Patienten beider Gruppen aufgrund fehlender Daten (bei einer oder mehreren der einbezogenen Variablen) nur 50 in die Analyse einbezogen werden. 22 Patienten schieden hierbei aus.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 GvHD-Prophylaxe als möglicher Risikofaktor

Wie bereits unter 2.2.1 beschrieben, wurde der Exakte Test nach Fisher angewandt, um den Zusammenhang zwischen der Entstehung der Invasiven Aspergillose und der Gabe der GvHD-Prophylaxe bei Patienten nach Stammzelltransplantation statistisch nachzuweisen.

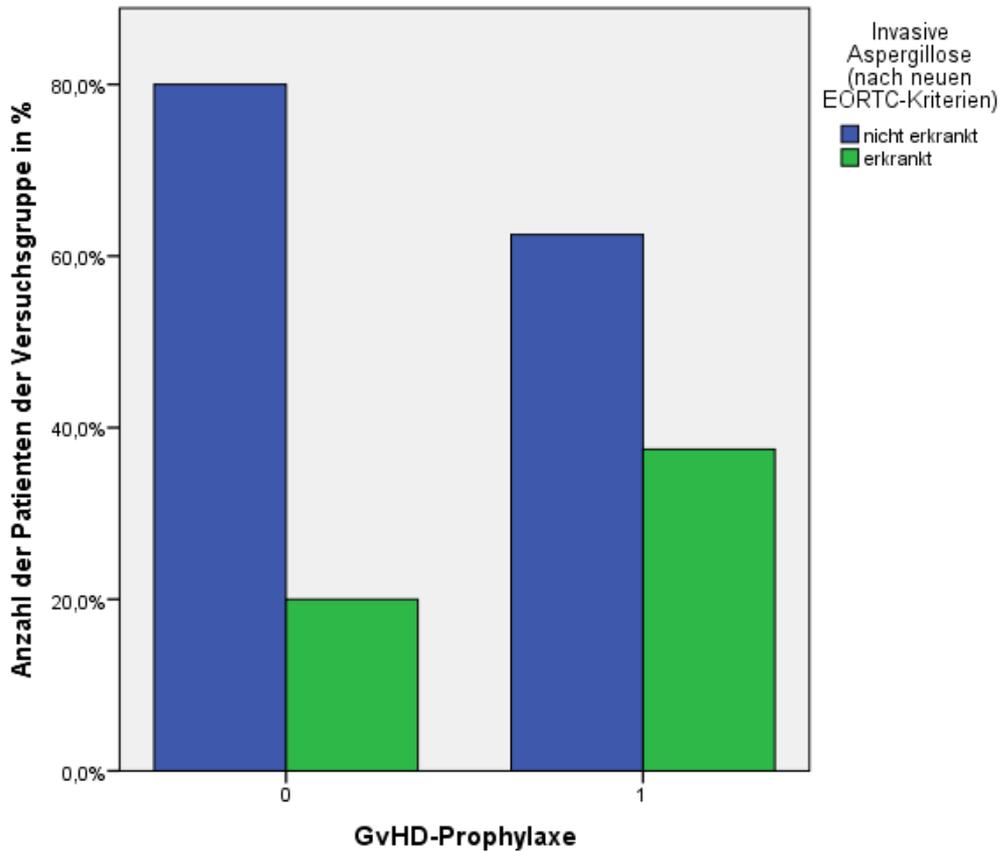
In der Versuchsgruppe konnten, aufgrund unvollständiger Daten von den insgesamt 33 Patienten nur 13 (39,4%) auf den eben genannten Zusammenhang überprüft werden. Wie aus Tabelle 10 ersichtlich, waren unter den fünf Patienten (100%), die die Prophylaxe nicht bekommen hatten, vier (80%), die nicht an IA erkrankten. Ein Patient (20%) war an IA erkrankt. Von den acht Patienten (100%), denen das Medikament verabreicht worden war, litten fünf (62,5%) nicht unter IA, wohingegen drei Patienten (37,5%) trotz des Medikaments an IA erkrankten.

**Tabelle 10: Kreuztabelle der Patienten der Versuchsgruppe beim Zusammenhang zwischen GvHD-Prophylaxe und IA**

			IA		Gesamt
			nein	ja	
GvHD-Prophylaxe	nein	Anzahl	4	1	5
		%	80.0%	20.0%	100.0%
	ja	Anzahl	5	3	8
		%	62.5%	37.5%	100.0%
Gesamt		Anzahl	9	4	13
		%	69.2%	30.8%	100.0%

Abbildung 13 veranschaulicht diese Verteilung graphisch.

## Ergebnisse



**Abbildung 13:** Balkendiagramm: Zusammenhang zwischen GvHD-Prophylaxe und IA in der Versuchsgruppe

Da beim Exakten Test nach Fisher  $p=1,000$  war (Signifikanzniveau 5%), konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Entstehung der Invasiven Aspergillose bei immunsupprimierten Patienten nach haploidenter Stammzelltransplantation und der Gabe der GvHD-Prophylaxe nachgewiesen werden.

In der Kontrollgruppe konnten, aus denselben, bereits genannten Gründen, von den insgesamt 39 Patienten (94,9%) nur 37 in den Test einbezogen werden.

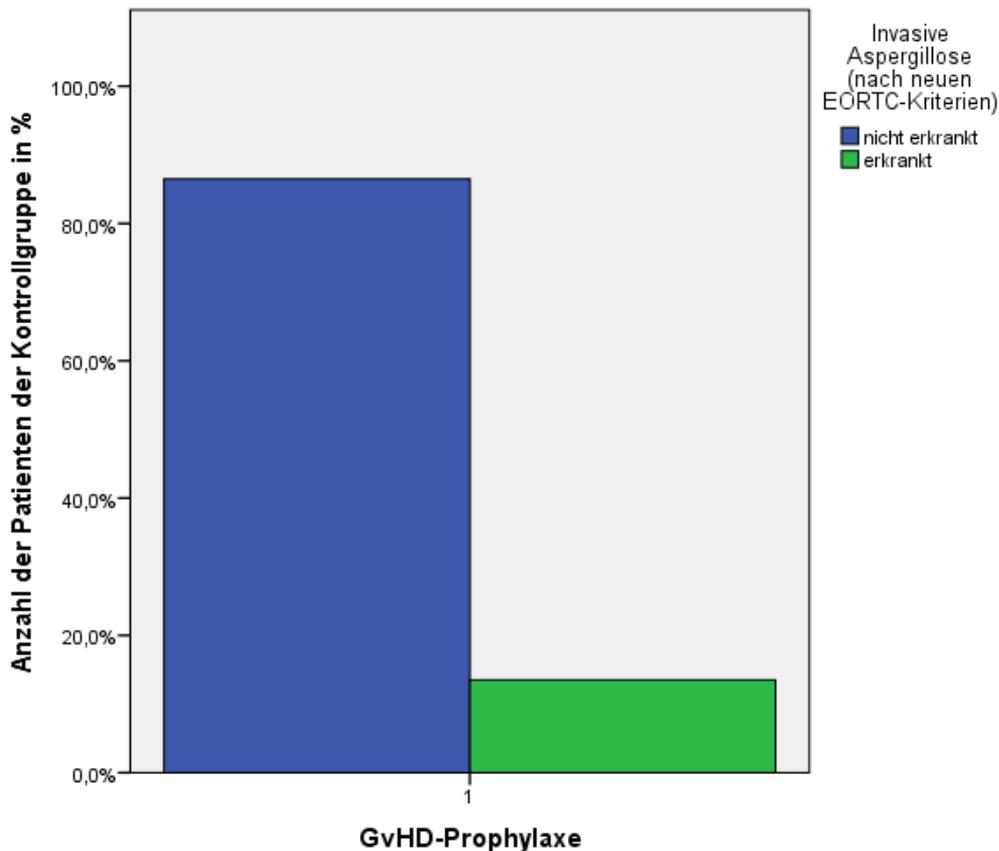
Wie aus Tabelle 11 ersichtlich, haben alle 37 Patienten (100%) die Prophylaxe bekommen. Darunter erkrankten fünf (13,5%) an IA. Die restlichen 32 Patienten (86,5%) erkrankten nicht.

## Ergebnisse

**Tabelle 11: Kreuztabelle der Patienten der Kontrollgruppe beim Zusammenhang zwischen GvHD-Prophylaxe und IA**

			IA		Gesamt
			nein	ja	
GvHD-Prophylaxe	ja	Anzahl	32	5	37
		%	86.5%	13.5%	100.0%
Gesamt		Anzahl	32	5	37
		%	86.5%	13.5%	100.0%

Abbildung 14 verdeutlicht die Verhältnisse graphisch.



**Abbildung 14: Balkendiagramm: Zusammenhang zwischen GvHD-Prophylaxe und IA in der Kontrollgruppe**

Da alle Patienten der Kontrollgruppe die Prophylaxe erhalten haben, konnten hier keine Tests gerechnet werden. Es kann demzufolge kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Verabreichung der GvHD-Prophylaxe und der Entwicklung der IA bei immunsupprimierten Patienten nach identischer Stammzelltransplantation überprüft werden.

### 3.2 Protektiver Faktor Antimykotische Prophylaxe

Auch hier wurde, wie bereits unter 2.2.2 erwähnt, der Exakte Test nach Fisher angewandt, um den Zusammenhang zwischen der Erkrankung an IA und der Gabe der Antimykotischen Prophylaxe bei immunsupprimierten Patienten nach Stammzelltransplantation statistisch zu belegen.

In der Versuchsgruppe konnte der Test auf 17 Patienten (51,5%) angewandt werden, die restlichen 16 Patienten schieden aufgrund mangelnder Daten zu Erkrankung an IA und Prophylaxe-Gabe aus.

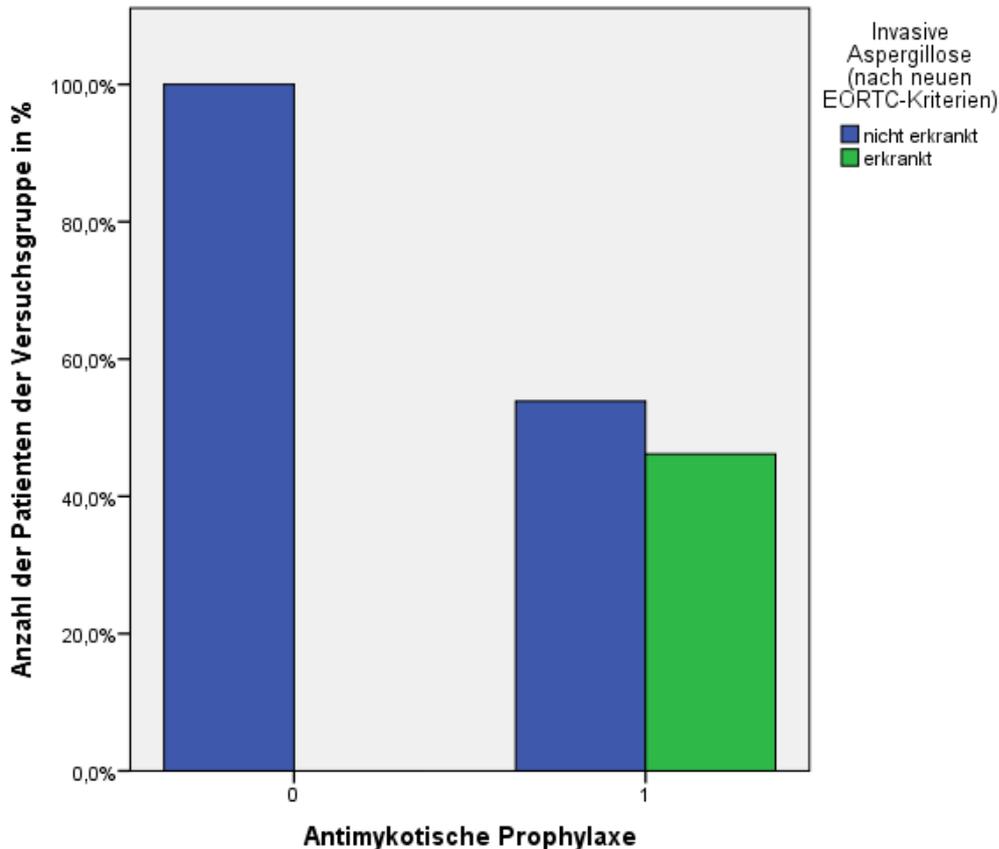
Bei den vier Patienten (100%) ohne Prophylaxe erkrankte keiner an IA. Von den 13 Patienten mit Antimykotischer Prophylaxe konnte bei sieben (53,8%) keine IA nachgewiesen werden, die anderen sechs Patienten (46,2%) hingegen testete man auf die Krankheit positiv (Tabelle 12).

**Tabelle 12: Kreuztabelle der Patienten der Versuchsgruppe beim Zusammenhang zwischen Antimykotischer Prophylaxe und IA**

			IA		Gesamt
			nein	ja	
Antimykotische Prophylaxe	nein	Anzahl	4	0	4
		%	100.0%	0.0%	100.0%
	ja	Anzahl	7	6	13
		%	53.8%	46.2%	100.0%
Gesamt		Anzahl	11	6	17
		%	64.7%	35.3%	100.0%

Abbildung 15 dient der graphischen Darstellung der Werte.

## Ergebnisse



**Abbildung 15:** Balkendiagramm: Zusammenhang zwischen Antimykotischer Prophylaxe und IA in der Versuchsgruppe

Da der Exakte Test nach Fisher  $p=0,237$  ergab, konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Erkrankung an IA und der Verabreichung der Antimykotischen Prophylaxe bei immunsupprimierten Patienten nach haploidenter Stammzelltransplantation nachgewiesen werden.

In der Kontrollgruppe konnten 37 (94,9%) von 39 Patienten auf den oben genannten Zusammenhang getestet werden.

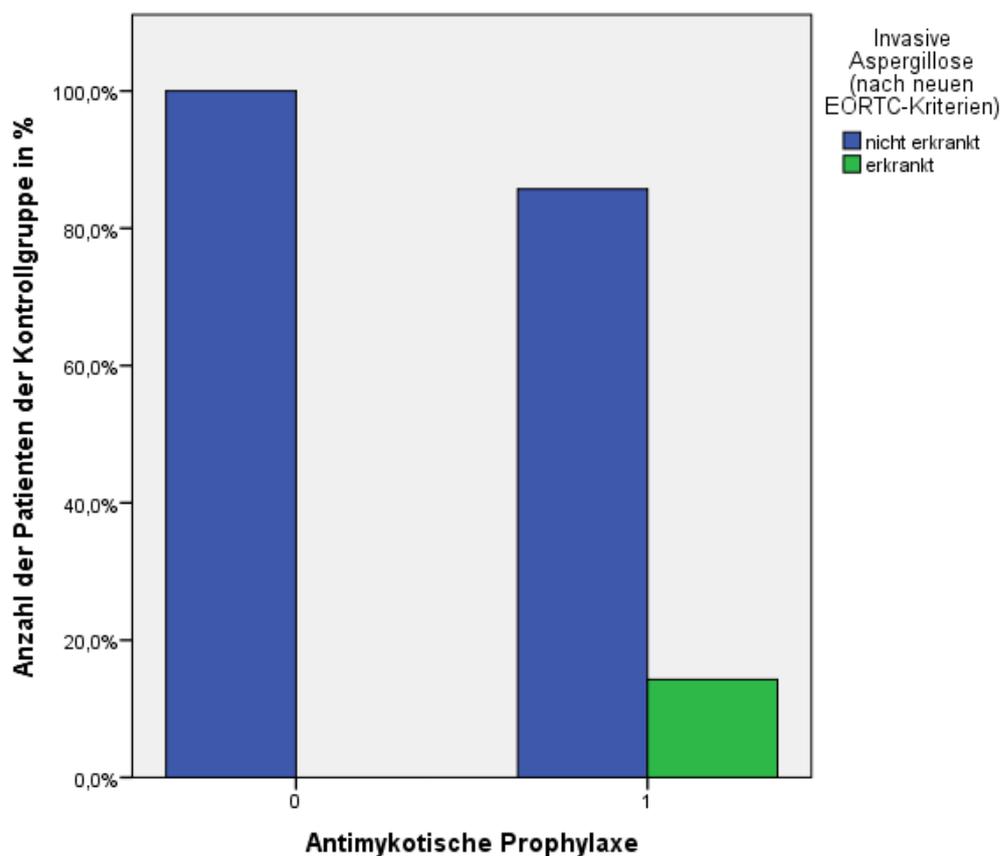
Von 35 Patienten (100%) mit Antimykotischer Prophylaxe konnte bei fünf (14,3%) die IA nachgewiesen werden, bei den restlichen 30 Patienten (85,7%) fiel der Nachweis negativ aus. Zwei Patienten (100%) bekamen die Prophylaxe nicht, keiner von ihnen erkrankte an IA (Tabelle 13).

## Ergebnisse

**Tabelle 13: Kreuztabelle der Patienten der Kontrollgruppe beim Zusammenhang zwischen Antimykotischer Prophylaxe und IA**

			IA		Gesamt
			nein	ja	
Antimykotische Prophylaxe	nein	Anzahl	2	0	2
		%	100.0%	0.0%	100.0%
	ja	Anzahl	30	5	35
		%	85.7%	14.3%	100.0%
Gesamt		Anzahl	32	5	37
		%	86.5%	13.5%	100.0%

Abbildung 16 veranschaulicht die eben genannten Zahlen.



**Abbildung 16: Balkendiagramm: Zusammenhang zwischen Antimykotischer Prophylaxe und IA in der Kontrollgruppe**

Der p-Wert ergab  $p=1,000$  beim Exakten Test nach Fisher. Demzufolge konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Erkrankung an IA und der Gabe der Antimykotischen Prophylaxe bei immunsupprimierten Patienten nach identischer Stammzelltransplantation nachgewiesen werden.

### 3.3 Vorerkrankungen als mögliche Risikofaktoren

Zur Überprüfung des Zusammenhangs zwischen der Erkrankung an IA und bereits bestehenden Vorerkrankungen bei immunsupprimierten Patienten nach Stammzelltransplantation, zog man auch hier, wie bereits unter 2.2.3 erklärt, den Exakten Test nach Fisher heran.

Bei 33 Patienten der Versuchsgruppe konnten 21 Patienten (63,6%), dank vollständiger Datenlage, auf diesen Zusammenhang getestet werden.

Von 14 Patienten (100%) mit Score 0 erkrankten vier Patienten (28,6%) an IA, zehn (71,4%) blieben diesbezüglich gesund. Sieben Patienten (100%) aus der Versuchsgruppe hatten Score 1 oder höher. Von ihnen entwickelten zwei (28,6%) die IA, die restlichen fünf (71,4%) erkrankten nicht an der Pilzinfektion. Dies zeigt Tabelle 14.

**Tabelle 14: Kreuztabelle der Patienten der Versuchsgruppe beim Zusammenhang zwischen Vorerkrankungen und IA**

		IA		Gesamt
		nein	ja	
Sorrer Score 0	Anzahl	10	4	14
	%	71,4%	28,6%	100,0%
Sorrer Score $\geq$ 1	Anzahl	5	2	7
	%	71,4%	28,6%	100,0%
Gesamt	Anzahl	15	6	21
	%	71,4%	28,6%	100,0%

In Abbildung 17 sind diese Verhältnisse graphisch dargestellt.

## Ergebnisse

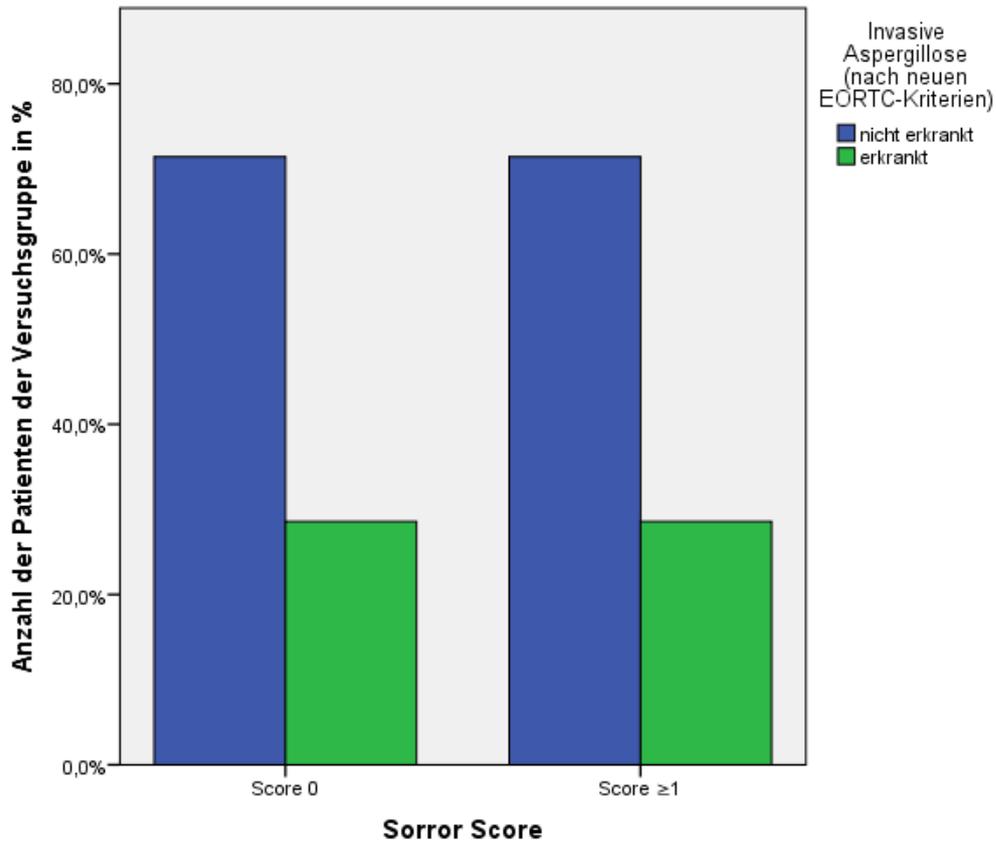


Abbildung 17: Balkendiagramm: Zusammenhang zwischen Vorerkrankungen und IA in der Versuchsgruppe

Da der Exakte Test nach Fisher  $p=1,000$  ergab, konnte man auch hier keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Entwicklung der IA und den bereits bestehenden Vorerkrankungen der immunsupprimierten Patienten nach haploidenter Stammzelltransplantation feststellen.

In der Kontrollgruppe konnte man 37 von 39 Patienten (94,9%) für den Exakten Test nach Fisher heranziehen.

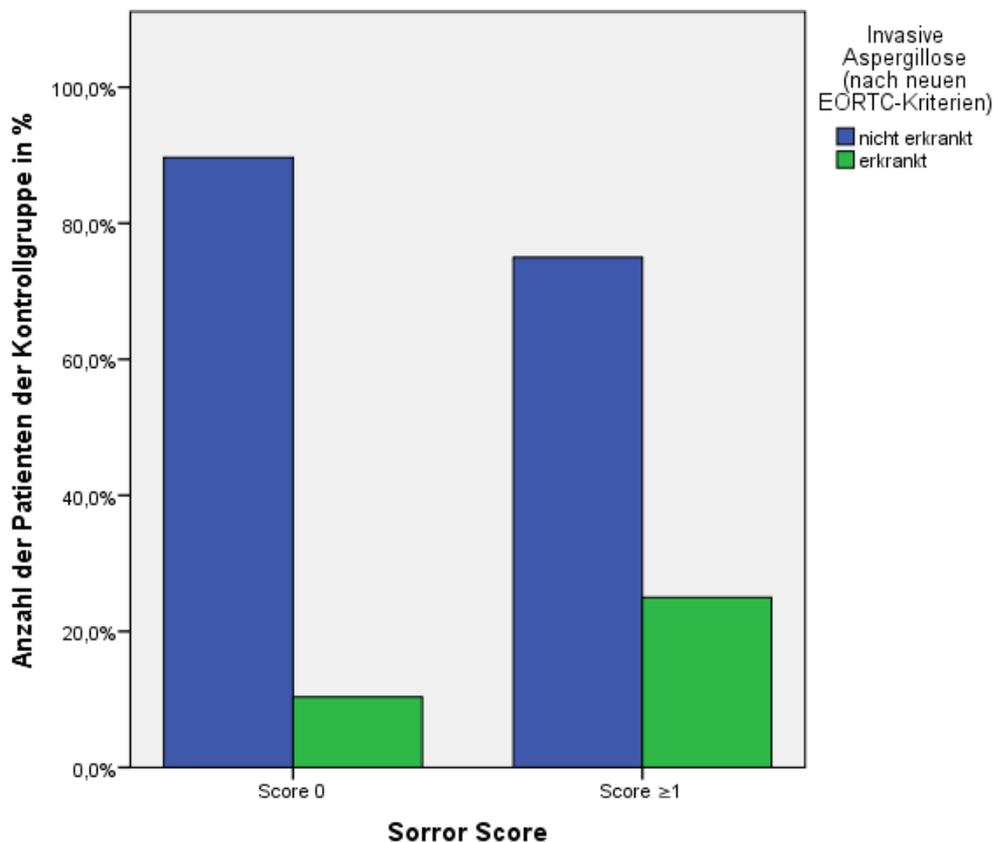
Tabelle 15 zeigt folgende Verteilung: 29 Patienten (100%) hatten Score 0. Davon entwickelten nur drei Patienten (10,3%) eine IA, 27 (89,7%) blieben diesbezüglich beschwerdefrei. Nur acht Patienten (100%) der 37 Getesteten hatten einen Score von 1 oder höher. Zwei (25%) von ihnen erkrankten an IA, die restlichen sechs (75%) nicht.

## Ergebnisse

**Tabelle 15: Kreuztabelle der Patienten der Kontrollgruppe beim Zusammenhang zwischen Vorerkrankungen und IA**

		IA		Gesamt
		nein	ja	
Sorrer Score 0	Anzahl	26	3	29
	%	89,7%	10,3%	100,0%
Sorrer Score $\geq 1$	Anzahl	6	2	8
	%	75,0%	25,0%	100,0%
Gesamt	Anzahl	32	5	37
	%	86,5%	13,5%	100,0%

Abbildung 18 dient der graphischen Darstellung dieser Werte.



**Abbildung 18: Balkendiagramm: Zusammenhang zwischen Vorerkrankungen und IA in der Kontrollgruppe**

Da beim Exakten Test nach Fisher  $p=0,292$  ergab, konnte man keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Entstehung der IA und den bereits bestehenden Vorerkrankungen der immunsupprimierten Patienten nach identischer Stammzelltransplantation nachweisen.

### 3.4 Zusammenhang zwischen Art der Stammzellspende und Auftreten der IA

Wie bereits unter 2.2.4 erwähnt, wurde auch zur Überprüfung dieses Risikofaktors der Exakte Test nach Fisher angewandt.

Von den insgesamt 72 Patienten beider Gruppen konnte man aufgrund fehlender Daten zu Erkrankung an IA den Zusammenhang zwischen Entstehung der IA und der Art der Stammzellspende bei nur 58 Patienten (80,6%) überprüfen.

Tabelle 16 zeigt, dass darunter lediglich 21 Patienten (100%) eine haploidente Stammzellspende empfangen hatten (=Versuchsgruppe). 15 (71,4%) von ihnen blieben bezüglich der IA beschwerdefrei, sechs Patienten (28,6%) erkrankten daran. Bei 37 (100%) der 58 in den Test einbezogenen Patienten war eine identische Stammzellspende durchgeführt worden (=Kontrollgruppe). 32 Patienten (86,5%) unter ihnen entwickelten keine IA, bei den restlichen fünf (13,5%) wurde die Krankheit diagnostiziert.

**Tabelle 16: Kreuztabelle der Patienten beider Gruppen beim Zusammenhang zwischen Art der Stammzellspende und IA**

		IA		Gesamt
		nein	ja	
Versuchsgruppe	Anzahl	15	6	21
	%	71,4%	28,6%	100,0%
Kontrollgruppe	Anzahl	32	5	37
	%	86,5%	13,5%	100,0%
Gesamt	Anzahl	47	11	58
	%	81,0%	19,0%	100,0%

Abbildung 19 veranschaulicht diesen Zusammenhang.

## Ergebnisse

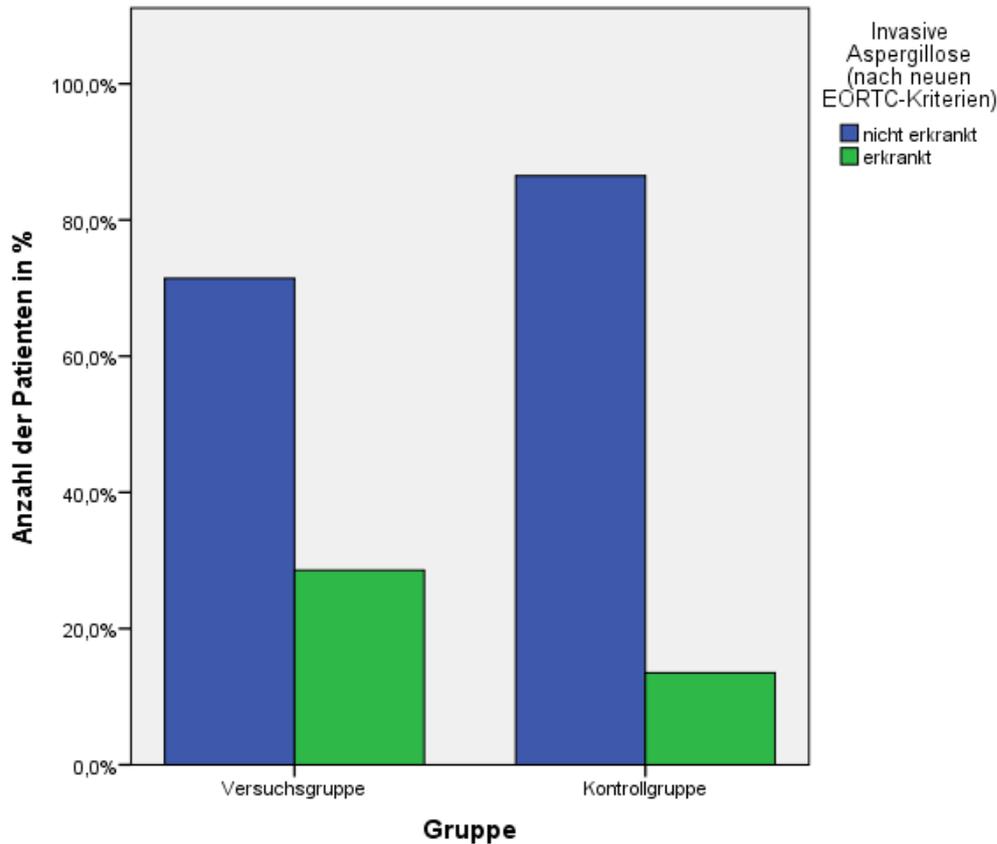


Abbildung 19: Balkendiagramm: Zusammenhang zwischen IA und Gruppenzugehörigkeit/Art der Stammzellspende

Der Exakte Test nach Fisher ergab  $p=0,181$ . Deshalb konnte auch hier kein Zusammenhang zwischen der Erkrankung an Invasiver Aspergillose und der Art der Stammzellspende (haploid oder identisch) nachgewiesen werden.

### 3.5 Zusammenhang zwischen der Wiederherstellung des hämatopoetischen Systems und dem Auftreten der Invasiven Aspergillose

Um diesen Zusammenhang zu testen, bediente man sich des t-Tests für unverbundene Stichproben, wie bereits unter 2.2.5 erklärt wurde.

Im Folgenden werden alle Ergebnisse aller getesteten Parameter, die mit der Wiederherstellung des hämatopoetischen Systems in Zusammenhang stehen, aufgezeigt. Die Ergebnisse der Versuchsgruppe zeigt außerdem Tabelle 17, die der Kontrollgruppe Tabelle 18.

#### 3.5.1 Ergebnisse der Versuchsgruppe

Das Prüfen des Zusammenhangs zwischen der Leukozytenanzahl an Tag X und dem Auftreten der IA konnte nur ein signifikantes Ergebnis hervorbringen: Beim Vergleich

## Ergebnisse

der Leukozytenanzahl an Tag 60 bei Patienten mit IA mit der Leukozytenanzahl an Tag 60 bei Patienten ohne IA ergab  $p=0,032$ . Personen, die keine IA hatten, hatten einen Mittelwert von  $6,08 \pm 5,07 \times 1000/\mu\text{l}$ , bei Personen mit IA betrug der Mittelwert  $1,88 \pm 1,22 \times 1000/\mu\text{l}$ . Der Mittelwert der Leukozytenanzahl der Patienten ohne IA an Tag 60 ist also signifikant höher als der Mittelwert der Leukozytenanzahl der Patienten an Tag 60, die an IA erkrankt waren. Aufgrund zu weniger Daten zur Leukozytenanzahl in den Tabellen konnte nur bis einschließlich Tag 150 getestet werden.

Beim Überprüfen eines Zusammenhangs zwischen der Lymphozytenanzahl an Tag X und dem Auftreten der IA lagen nur an Tag 60 und 90 genügend Werte vor, sodass nur an diesen beiden Tagen der Zusammenhang getestet werden konnte. Beide lieferten jedoch kein signifikantes Ergebnis.

Aufgrund mangelnder Angaben zur Monozytenanzahl konnte man diese Daten nicht zum t-Test heranziehen, um den oben genannten Zusammenhang überprüfen zu können.

Dank ausreichender Datenlage konnte die Anzahl der segmentkernigen neutrophilen Granulozyten an Tag 30, 90, 120 und 150 herangezogen werden, um an diesen Messstagen den Zusammenhang zwischen Entstehung der IA und der Anzahl dieser Zellen am jeweiligen Tag zu testen. Jedoch lieferten auch hier die Vergleiche der Mittelwerte (t-Tests) kein signifikantes Ergebnis.

Auch bei Überprüfung des Zusammenhangs zwischen Anzahl der stabkernigen neutrophilen Granulozyten und der Entstehung der IA konnten lediglich die Anzahl der Zellen an den Tagen 30, 120 und 150 in die Analyse einbezogen werden. Die Ergebnisse der Mittelwertvergleiche waren ebenfalls nicht signifikant.

Die Daten zur Thrombozytenanzahl, zum Hämoglobin- und zum Hämatokritwert genügten an den Tagen 30 bis 150 den Anforderungen des t-Tests hinsichtlich des Stichprobenumfangs, um hier jeweils den Zusammenhang mit der IA zu testen. Aber auch bei diesen Parametern konnten die t-Tests kein signifikantes Ergebnis liefern.

**Tabelle 17: Ergebnisse der t-Tests in der Versuchsgruppe**

Legende: -IA=0: Patienten ohne IA -IA=1: an IA erkrankte Patienten	IA	Tag	Mittelwert	Standardabweichung	p-Wert
Leukozyten in $n \times 1000/\mu\text{l}$	0	30	5,65	3,78	0,844
	1	30	6,06	3,70	
	0	60	6,08	5,07	0,032

## Ergebnisse

Legende: -IA=0: Patienten ohne IA -IA=1: an IA erkrankte Patienten	IA	Tag	Mittelwert	Standardabweichung	p-Wert	
	1	60	1,88	1,22	0,213	
	0	90	5,28	2,60		
	1	90	3,00	1,59		
		0	120	5,28	4,19	0,800
		1	120	4,53	3,61	
		0	150	5,03	1,86	0,260
		1	150	3,20	1,92	
Lymphozyten in n x 1000/ $\mu$ l	0	60	0,68	0,79	0,649	
	1	60	0,98	0,14		
	0	90	0,68	0,38	0,367	
	1	90	0,38	0,23		
segmentkernige neutrophile Granulozyten in %	0	30	52,75	25,43	0,115	
	1	30	80,50	6,24		
	0	90	75,33	11,24	0,531	
	1	90	62,00	43,84		
	0	120	61,00	34,88		
		1	120	64,00	31,11	0,924
		0	150	65,00	19,80	
	1	150	56,00	34,60	0,768	
	stabkernige neutrophile Granulozyten in %	0	30	5,50	4,95	0,375
1		30	1,50	0,71		
0		120	2,67	1,53	0,923	
1		120	2,50	2,12		
0		150	4,00	1,41	0,293	
1		150	2,00	1,41		
Thrombozyten in n x 1000/ $\mu$ l	0	30	62,75	55,81	0,716	
	1	30	74,00	60,49		
	0	60	61,91	49,28	0,742	
	1	60	72,25	62,82		
	0	90	76,00	48,96	0,198	
	1	90	33,33	18,01		
	0	120	53,33	30,39		
		1	120	56,25	37,17	0,895
		0	150	38,80	9,68	
	1	150	53,67	30,09	0,327	
	Hämoglobin in g/dl	0	30	10,36	1,34	0,538
1		30	10,80	1,27		
0		60	11,29	3,03	0,730	
1		60	10,70	2,27		
0		90	11,77	1,49	0,380	
1		90	10,57	2,43		
0		120	11,60	2,43		
		1	120	9,60	5,50	0,447
		0	150	16,15	12,69	
	1	150	11,33	1,10	0,397	
	Hämatokrit in %	0	30	30,77	4,08	0,549
1		30	32,08	3,86		
0		60	28,43	9,86	0,459	
1		60	32,55	6,91		
0		90	35,15	4,55	0,309	
1		90	31,27	6,01		
0		120	34,45	7,03		
		1	120	36,65	5,25	0,610
		0	150	34,54	6,16	
	1	150	34,60	2,60	0,988	

### 3.5.2 Ergebnisse der Kontrollgruppe

Aufgrund fehlender Daten bezüglich der Leukozytenanzahl an bestimmten Tagen konnten zur Analyse des Zusammenhangs zwischen Entstehung der IA und der Anzahl der Leukozyten nur die Daten der Tage 30 bis 150 und 210 verwendet werden. Der Vergleich der Mittelwerte zeigte kein signifikantes Ergebnis.

Wegen der geringen Anzahl an Messwerten zur Lymphozyten- und Monozytenanzahl war eine statistische Auswertung mittels t-Test nicht möglich.

Zur Überprüfung des Zusammenhangs zwischen Anzahl der stabkernigen neutrophilen Granulozyten und der Entstehung der IA wurden die Daten bezüglich der Anzahl der eben genannten Zellen an Tag 30, 90 und 210 herangezogen, da nur hier eine ausreichende Datenmenge vorhanden war. Die Ergebnisse waren jedoch nicht signifikant.

Beim Testen des Zusammenhangs zwischen Auftreten der IA und der Anzahl der stabkernigen neutrophilen Granulozyten reichten nur die Angaben zur Anzahl der Zellen an Tag 90 aus, um den Anforderungen des doppelten t-Tests gerecht zu werden. Allerdings zeigte sich kein signifikantes Ergebnis.

Des Weiteren überprüfte man den bekannten Zusammenhang in Bezug auf die Thrombozytenanzahl an Tag 30, 60, 90, 150 und 210, da an den anderen Messtagen zu wenig Werte vorlagen. Der Vergleich der Mittelwerte brachte nur ein signifikantes Ergebnis an Tag 210 hervor:  $p=0,001$  (Mittelwert der Patienten ohne IA:  $195,94 \pm 54,70 \times 1000/\mu\text{l}$ , Mittelwert der Patienten mit IA:  $39,50 \pm 13,44 \times 1000/\mu\text{l}$ ). Der Mittelwert der Thrombozytenanzahl der Patienten ohne IA ist also an Tag 210 signifikant höher als der der Thrombozytenanzahl der Patienten mit IA an Tag 210.

In Hinblick auf die Hämoglobinwerte genügten die Angaben zum Analysieren des Zusammenhangs mit der Entstehung der IA nur an den Messtagen 30, 60, 90, 150 und 210. Es konnte nur am Tag 210 ein signifikantes Ergebnis gefunden werden mit  $p=0,007$  (Mittelwerte der Patienten ohne IA:  $12,76 \pm 1,73 \text{ g/dl}$ ; Mittelwerte der Patienten mit IA:  $8,90 \pm 0,28 \text{ g/dl}$ ). Der Mittelwertunterschied der Hämoglobinwerte an Tag 210 zwischen den Patienten, die keine IA entwickelten und denen, die daran erkrankten, ist demzufolge signifikant.

## Ergebnisse

Auch bei den Hämatokritwerten konnten nur die Werte der Tage 30, 60, 90, 150 und 210 für die t-Tests herangezogen werden. Da an Tag 210  $p=0,003$  ergab, konnte ein signifikanter Mittelwertunterschied der Hämatokritwerte an Tag 210 zwischen den Patienten ohne IA (Mittelwert:  $38,65 \pm 5,31$  %) und denen mit IA (Mittelwert:  $24,95 \pm 3,04$  %) festgestellt werden.

**Tabelle 18: Ergebnisse der t-Tests in der Kontrollgruppe**

Legende: -IA=0: Patienten ohne IA -IA=1: an IA erkrankte Patienten	IA	Tag	Mittelwert	Standardabweichung	p-Wert
Leukozyten in n x 1000/ $\mu$ l	0	30	7,24	4,35	0,341
	1	30	5,24	3,76	
	0	60	5,24	2,49	0,418
	1	60	4,15	2,37	
	0	90	4,99	2,57	0,888
	1	90	4,77	2,08	
	0	120	7,26	9,22	0,464
	1	120	2,30	2,83	
	0	150	5,96	4,61	0,491
	1	150	3,60	2,40	
0	210	6,50	3,93	0,238	
1	210	3,00	0,71		
segmentkernige neutrophile Granulozyten in %	0	30	68,25	10,81	0,533
	1	30	51,67	38,40	
	0	90	66,90	21,38	0,548
	1	90	59,50	23,33	
	0	210	62,14	17,14	0,148
1	210	83,50	10,61		
stabkernige neutrophile Granulozyten in %	0	90	2,75	2,06	0,888
	1	90	3,00	1,41	
Thrombozyten in n x 1000/ $\mu$ l	0	30	158,87	75,91	0,238
	1	30	114,60	79,36	
	0	60	174,89	79,14	0,181
	1	60	112,50	124,59	
	0	90	160,00	68,44	0,700
	1	90	120,67	152,11	
	0	150	177,00	92,67	0,741
	1	150	201,50	176,07	
	0	210	195,94	54,70	0,001
1	210	39,50	13,44		
Hämoglobin in g/dl	0	30	10,68	1,22	0,448
	1	30	10,20	1,72	
	0	60	11,11	1,88	0,278
	1	60	10,03	1,44	
	0	90	10,92	1,44	0,154
	1	90	9,53	2,42	
	0	150	10,62	2,78	0,969
	1	150	10,70	2,55	
	0	210	12,76	1,73	0,700
1	210	8,90	0,28		
Hämatokrit in %	0	30	30,80	5,42	0,848

## Ergebnisse

Legende: -IA=0: Patienten ohne IA -IA=1: an IA erkrankte Patienten	IA	Tag	Mittelwert	Standardabweichung	p-Wert
	1	30	30,30	4,53	
	0	60	33,28	5,62	0,276
	1	60	30,03	4,01	
	0	90	32,93	4,58	0,160
	1	90	28,63	7,24	
	0	150	33,16	4,77	0,765
	1	150	32,05	7,14	
	0	210	38,65	5,31	0,003
	1	210	24,95	3,04	

### 3.6 Zusammenhang zwischen Wiederherstellung des hämatopoetischen Systems und der Art der Stammzellspende

Um diesen Zusammenhang statistisch zu bewerten, bediente man sich ebenfalls des t-Tests für unverbundene Stichproben, wie bereits unter 2.2.6 erklärt wurde.

Im Folgenden werden wiederum alle Ergebnisse aller getesteten Parameter, die mit der Wiederherstellung des hämatopoetischen Systems in Zusammenhang stehen (Leukozyten, Lymphozyten, usw.), aufgezeigt.

#### 3.6.1 Ergebnisse der Patienten ohne IA

Alle im Nachfolgenden aufgezählten Vergleiche der Mittelwerte wurden zwischen den nicht an IA erkrankten Patienten der Versuchsgruppe und den nicht an IA erkrankten Patienten der Kontrollgruppe vorgenommen. Zur Übersicht dient Tabelle 19.

Zur Überprüfung des Zusammenhangs zwischen der Wiederherstellung des Immunsystems und der Art der Stammzellspende wurde der Mittelwert der Leukozytenanzahl (an Tag X) der Patienten der Versuchsgruppe, die nicht an IA erkrankt waren, mit der Leukozytenanzahl (am selben Tag) der Patienten der Kontrollgruppe verglichen, die ebenfalls nicht unter IA litten. Zur Überprüfung dieses Zusammenhangs konnten bei den Leukozyten die Werte der Tage 30 bis 240 verwendet werden. Die gesammelten Werte der Messtage 270, 300, 330 und 360 mussten aus Gründen des Datenmangels vom Testverfahren ausgeschlossen werden. Nur der t-Test, der mit den Werten des Tages 180 durchgeführt wurde, brachte ein signifikantes Ergebnis:  $p < 0,001$  (Mittelwert der Patienten der Versuchsgruppe:  $2,73 \pm 0,97 \times 1000/\mu\text{l}$ ; Mittelwerte der Patienten der Kontrollgruppe:  $7,10 \pm 3,67 \times 1000/\mu\text{l}$ ). Die Anzahl der Leukozyten der gesunden Patienten der Kontrollgruppe (Patienten mit in Bezug auf die HLA-Merkmale identischer

## Ergebnisse

Spende) war also signifikant höher als die der gesunden Patienten der Versuchsgruppe (Patienten, die eine haploidente Spende erhalten hatten), bezogen auf die IA.

Zum Nachweis des oben genannten Zusammenhangs wurden ebenso die Werte der Lymphozytenanzahlen an den Tagen 30 bis 90 herangezogen. Zu den restlichen Messungen lagen zu wenige Daten vor. Allerdings zeigte der Vergleich der Mittelwerte keinen signifikanten Unterschied.

Beim Testen der Mittelwerte der Monozytenanzahlen wurden die Werte der Tage 30 bis 90 und 150 verglichen. Auch hier ergaben die t-Tests kein signifikantes Ergebnis.

Die t-Tests, die den oben genannten Zusammenhang bei den segmentkernigen neutrophilen Granulozyten überprüften, wurden auf die Werte der Tage 30, 90, 120, 150, 180 und 240 angewandt. Nur der Test an Tag 180 brachte mit  $p=0,007$  ein signifikantes Ergebnis hervor. Somit war die Anzahl der segmentkernigen neutrophilen Granulozyten der Patienten der Versuchsgruppe (Mittelwert:  $20 \pm 16,97$  %) an Tag 180 signifikant niedriger als die der eben genannten Zellen der Patienten der Kontrollgruppe (Mittelwert:  $55,17 \pm 9,17$  %).

Bei den stabkernigen neutrophilen Granulozyten konnten nur die Daten der Tage 30, 90, 120 und 150 für die Analyse herangezogen werden. Die Ergebnisse der t-Tests waren jedoch nicht signifikant.

Zum Nachweis eines signifikanten Zusammenhangs zwischen der Wiederherstellung des hämatopoetischen Systems und der Art der durchgeführten Stammzellspende wurden zudem auch die Thrombozytenanzahlen der Messtage 30 bis 240 verwendet. Bei den hier durchgeführten t-Tests konnten an mehreren Tagen signifikante Ergebnisse erzielt werden. So z.B. an Tag 30, an dem der Mittelwert der Thrombozyten der gesunden Patienten (bezüglich IA) der Versuchsgruppe mit  $62,75 \pm 55,81 \times 1000/\mu\text{l}$  signifikant niedriger war als der der eben genannten Zellen der gesunden Patienten (in Bezug auf IA) der Kontrollgruppe mit  $158,87 \pm 75,91 \times 1000/\mu\text{l}$ . Der p-Wert ergab  $p<0,001$ . Auch an Tag 60 war der p-Wert  $<0,001$ . An diesem Tag war der Mittelwert der Thrombozyten der gesunden Patienten der Versuchsgruppe mit  $61,91 \pm 49,28 \times 1000/\mu\text{l}$  zum wiederholten Mal signifikant niedriger als der der Thrombozyten der gesunden Patienten der Kontrollgruppe mit  $174,89 \pm 79,14 \times 1000/\mu\text{l}$ . Ähnlich signifikante Mittelwertunterschiede zeigen sich an den Tagen 90, 120, 150, 180 und 210. Stets war die Throm-

## Ergebnisse

bozytenanzahl der Patienten der Versuchsgruppe geringer als die der Patienten der Kontrollgruppe. Einzig das Ergebnis des Tages 240 war nicht signifikant.

Auch die Hämoglobin- und Hämatokritwerte der Tage 30 bis 240 konnten für die t-Tests herangezogen werden. Allerdings erbrachten die Analysen hier kein signifikantes Ergebnis.

**Tabelle 19: Ergebnisse der t-Tests der Patienten ohne IA**

Gruppe 0= Versuchsgruppe Gruppe 1= Kontrollgruppe	Gruppe	Tag	Mittelwert	Standardabweichung	p-Wert
Leukozyten in n x 1000/ µl	0	30	5,65	3,78	0,202
	1	30	7,24	4,35	
	0	60	6,08	5,07	0,626
	1	60	5,24	2,49	
	0	90	5,28	2,6	0,803
	1	90	4,99	2,57	
	0	120	5,28	4,19	0,617
	1	120	7,26	9,22	
	0	150	5,03	1,86	0,699
	1	150	5,96	4,61	
	0	180	2,73	0,97	<0,001
	1	180	7,1	3,67	
	0	210	2,2	3,13	0,093
	1	210	6,5	3,93	
0	240	5,43	2,85	0,738	
1	240	5,84	1,92		
Lymphozyten in n x 1000/ µl	0	30	0,7	0,54	0,76
	1	30	0,77	0,45	
	0	60	0,68	0,79	0,715
	1	60	1,22	2,45	
	0	90	0,68	0,38	0,271
	1	90	1,4	2,55	
Monozyten in n x 1000/ µl	0	30	0,86	1,04	0,806
	1	30	0,97	0,78	
	0	60	0,48	0,31	0,791
	1	60	0,43	0,29	
	0	90	0,63	0,45	0,666
	1	90	0,56	0,24	
	0	150	0,17	0,11	0,058
	1	150	0,65	0,32	
segmentkernige neutrophile Granulozyten in	0	30	52,75	25,43	0,313
	1	30	68,25	10,81	
	0	90	79,33	11,24	0,364

## Ergebnisse

Gruppe 0= Versuchsgruppe Gruppe 1= Kontrollgruppe	Gruppe	Tag	Mittelwert	Standardabweichung	p-Wert
%	1	90	66,9	21,38	0,807
	0	120	61	34,88	
	1	120	57,36	21,12	
	0	150	65	34,6	0,451
	1	150	52,5	19,96	
	0	180	20	16,97	0,007
	1	180	55,17	9,71	
	0	240	36,67	33,61	0,385
1	240	56	20,67		
stabkernige neutrophile Granulozyten in %	0	30	5,5	4,95	0,455
	1	30	1,5	1	
	0	90	2,5	2,12	0,896
	1	90	2,75	2,06	
	0	120	2,67	1,53	0,643
	1	120	2	1,73	
	0	150	4	1,41	0,273
	1	150	2,57	1,51	
Thrombozyten in n x 1000/ µl	0	30	62,75	55,81	<0,001
	1	30	158,87	75,91	
	0	60	61,91	49,28	<0,001
	1	60	174,89	79,14	
	0	90	76	48,96	0,009
	1	90	160	68,44	
	0	120	53,33	30,39	<0,001
	1	120	165,17	87,9	
	0	150	38,8	9,68	<0,001
	1	150	177	92,67	
	0	180	74	43,78	0,007
	1	180	210,47	86,24	
	0	210	30,33	38,8	<0,001
	1	210	195,94	54,7	
0	240	92	66,51	0,181	
1	240	160,86	90,91		
Hämoglobin in g/dl	0	30	10,36	1,34	0,457
	1	30	10,68	1,22	
	0	60	11,29	3,03	0,86
	1	60	11,11	1,88	
	0	90	11,77	1,49	0,212
	1	90	10,92	1,44	
	0	120	11,6	2,43	0,5
	1	120	11,03	1,65	
	0	150	16,15	12,69	0,071
	1	150	10,62	2,78	
0	180	11,47	0,64	0,295	

## Ergebnisse

Gruppe 0= Versuchsgruppe Gruppe 1= Kontrollgruppe	Gruppe	Tag	Mittelwert	Standardabweichung	p-Wert
	1	180	12,33	1,34	0,119
	0	210	11	1,61	
	1	210	12,76	1,73	
	0	240	11,58	1,95	0,647
	1	240	12,1	1,99	
Hämatokrit in %	0	30	30,77	4,08	0,986
	1	30	30,8	5,42	
	0	60	28,43	9,86	0,149
	1	60	33,28	5,62	
	0	90	35,15	4,55	0,295
	1	90	32,93	4,58	
	0	120	34,45	7,03	0,609
	1	120	33,17	4,96	
	0	150	34,54	6,16	0,588
	1	150	33,16	4,77	
	0	180	33,75	2,5	0,088
	1	180	37,62	4,07	
	0	210	32,33	5,22	0,073
	1	210	38,65	5,31	
	0	240	35,28	6,36	0,647
	1	240	36,83	5,76	

### 3.6.2 Ergebnisse der an IA erkrankten Patienten

Alle im Nachfolgenden aufgezeigten Vergleiche der Mittelwerte wurden zwischen den an IA erkrankten Patienten der Versuchsgruppe und den an IA erkrankten Patienten der Kontrollgruppe vorgenommen. Zur Übersicht dient Tabelle 20.

Um zu prüfen, ob ein Zusammenhang zwischen der Wiederherstellung des hämatopoetischen Systems und der Art der Stammzellspende besteht, bediente man sich der Daten bezüglich der Leukozytenanzahl an den Messtagen 30 bis 150. Da zu wenige Messwerte an den übrigen Messtagen vorlagen, konnte man diese nicht in die Analyse mit Hilfe des t-Tests einbeziehen. Die Ergebnisse der getesteten Messtage waren jedoch nicht signifikant.

Aufgrund mangelnder Werte zu Lympho- und Monozyten sowie zu stabkernigen neutrophilen Granulozyten, konnte man diese nicht für die t-Tests heranziehen.

## Ergebnisse

Beim Vergleich der Mittelwerte der segmentkernigen neutrophilen Granulozyten konnte man die Werte der Tage 30 und 90 für die t-Tests verwenden. Allerdings konnte auch hier kein signifikantes Ergebnis gefunden werden.

Des Weiteren konnten beim Überprüfen des oben genannten Zusammenhangs die Thrombozytenanzahlen, die Hämoglobin- und Hämatokritwerte der Tage 30, 60, 90 und 150 einbezogen werden, da hierzu ausreichendes Datenmaterial vorlag. Die t-Tests lieferten kein signifikantes Ergebnis.

**Tabelle 20: Ergebnisse der t-Tests der Patienten mit IA**

Gruppe 0= Ver- suchsgruppe Gruppe 1= Kontroll- gruppe	Gruppe	Tag	Mittelwert	Standardabweichung	p-Wert
Leukozyten in n x 1000/ µl	0	30	6,06	3,70	0,737
	1	30	5,24	3,76	
	0	60	1,88	1,22	0,139
	1	60	4,15	2,37	
	0	90	3,00	1,59	0,307
	1	90	4,77	2,08	
	0	120	4,53	3,61	0,520
	1	120	2,30	2,83	
	0	150	5,03	1,92	0,847
	1	150	3,60	2,40	
segmentkernige neutrophile Gra- nulozyten in %	0	30	80,50	6,24	0,322
	1	30	51,67	38,40	
	0	90	62,00	43,84	0,890
	1	90	56,50	23,33	
Thrombozyten in n x 1000/ µl	0	30	74,00	60,49	0,390
	1	30	114,60	79,36	
	0	60	72,25	62,82	0,585
	1	60	112,50	124,59	
	0	90	33,33	18,01	0,425
	1	90	120,67	152,11	
	0	150	53,67	30,09	0,219
	1	150	201,50	176,07	
Hämoglobin in g/dl	0	30	10,80	1,27	0,548
	1	30	10,20	1,72	
	0	60	10,70	2,27	0,633
	1	60	10,03	1,44	
	0	90	10,57	2,43	0,630
	1	90	9,53	2,42	
	0	150	11,33	1,10	0,714
	1	150	10,70	2,55	
Hämatokrit in %	0	30	32,08	3,86	0,523
	1	30	30,30	4,53	
	0	60	32,55	6,91	0,551
	1	60	30,03	4,01	
	0	90	31,27	6,01	0,295
	1	90	28,63	7,24	

## Ergebnisse

Gruppe 0= Versuchsgruppe Gruppe 1= Kontrollgruppe	Gruppe	Tag	Mittelwert	Standardabweichung	p-Wert
	0	150	34,60	2,60	0,589
	1	150	32,50	7,14	

### **3.7 Einfluss eines einzelnen Faktors auf die Entstehung der IA in Abhängigkeit aller anderen Faktoren**

Wie bereits unter 2.2.7 beschrieben, wurde mit Hilfe der logistischen Regression zusätzlich zur Überprüfung des Zusammenhangs zwischen jedem einzelnen Risikofaktor und der IA, nun auch noch der Einfluss eines einzelnen Risikofaktors auf die Entstehung der IA in Abhängigkeit aller anderen Faktoren getestet.

Von den insgesamt 72 Patienten konnten -wiederum aufgrund fehlender Daten- nur die Versuchsergebnisse von 50 (69,4%) in die Analyse einbezogen werden. Es wurden hierbei nur einige Variablen in die Analyse aufgenommen, die Gründe wurden bereits unter 2.2.7 dargelegt.

Bei der Durchführung des Tests stellte sich allerdings heraus, dass die Fallzahlen so gering sind, dass eine multivariate Analyse, selbst in anderen Konstellationen und Kombinationen, aus statistischer Sicht nicht sinnvoll durchführbar ist und die Fragestellung an dieser Stelle nicht weiter bearbeitet werden kann.

### 4 Diskussion

Die Invasive Aspergillose ist eine gewöhnliche infektiöse Erkrankung, die vor allem bei Patienten mit hämatologischen Erkrankungen oder bei hochgradig immunsupprimierten Patienten auftritt, wie z.B. den Empfängern einer allogenen Stammzelltransplantation. Sie kann dann häufig zu einer lebensgefährlichen Komplikation werden. (Parody, Martino et al., 2009)

Ziel dieser Studie war es, verschiedene Risikofaktoren, von denen man annehmen kann, dass sie einen Einfluss auf die Entstehung der Invasiven Aspergillose haben, auf ihren diesbezüglichen statistischen Zusammenhang zu untersuchen. Diese Risikofaktoren sind: Verabreichen einer GvHD-Prophylaxe, Gabe einer Antimykotischen Prophylaxe, bereits bestehende Vorerkrankungen, das noch nicht vollständig wiederhergestellte hämatologische System und die Durchführung der Stammzelltransplantation mit einer haploidenten Spende.

Die Erhebung der Daten erfolgte retrospektiv anhand der Krankenakten der Patienten einer Versuchs- und einer Kontrollgruppe. Bei den Patienten der Versuchsgruppe wurde eine haploidente Stammzelltransplantation durchgeführt, die der Kontrollgruppe erhielten eine identische Spende von einem Geschwister. Mit Hilfe dieser Daten wurden die eben genannten Risikofaktoren in verschiedenen statistischen Testverfahren auf ihren Zusammenhang mit der Entstehung der IA überprüft.

Wie unter 4.1 und 4.2 aufgezeigt, konnten jedoch weder bei der Gabe einer der Prophylaxen, noch (wie unter 4.3 dargestellt) bei den Vorerkrankungen ein statistisch signifikanter Zusammenhang zur Entstehung der IA festgestellt werden. Auch im Hinblick auf die haploidente oder identische Stammzellspende als Risikofaktor für die Entstehung der IA konnte kein signifikanter Nachweis geführt werden (siehe unter 4.4). Beim Überprüfen des Zusammenhangs sowohl zwischen der Wiederherstellung des hämatologischen Systems und dem Auftreten der IA (siehe unter 4.5) als auch zwischen der Wiederherstellung des hämatologischen Systems und der Art der Stammzellspende (siehe unter 4.6) konnte nur bei wenigen Zellarten und Parametern ein signifikantes Ergebnis erreicht werden. Auch beim Testen der einzelnen Risikofaktoren -unabhängig von den anderen- konnte in Bezug auf die Erkrankung an IA kein signifikanter Nachweis

erbracht werden (siehe unter 4.7), da der Test aufgrund der geringen Fallzahlen nicht durchführbar ist.

### **4.1 Risikofaktor GvHD-Prophylaxe**

In der Versuchsgruppe (d.h. bei Patienten nach haploidenter HSCT) konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Erhalt der GvHD-Prophylaxe und der Erkrankung an IA gefunden werden (siehe unter 3.1). Bei Patienten der Kontrollgruppe (Patienten nach identischer HSCT) konnte dieser Zusammenhang nicht überprüft werden, da alle Patienten dieser Gruppe die Prophylaxe erhalten hatten und somit keine Tests angewandt werden konnten.

Obwohl diese Ergebnisse der Hypothese nicht entsprechen und somit nicht die Ergebnisse anderer Studien widerspiegeln, ist die Untersuchung dieses Zusammenhangs durchaus sinnvoll. Denn, wie bereits unter 1.4.6 beschrieben, basiert die GvHD-Prophylaxe auf der Verabreichung von Immunsuppressiva. Diese verhindern nicht nur die Entstehung der GvHD, sondern eben durch die Immunsuppression und daraus resultierende erhöhte Infektanfälligkeit auch den Weg für die Entstehung von opportunistischen Infektionen, wie z.B. die IA. (Piper, 2013)

Beim Vergleich dieser Studie mit anderen Studien fällt auf, dass bei den vielen verschiedenen Transplantationsarten (Art der Spende, Spender, Konditionierung, T-Zell-Depletion, Vorerkrankungen usw.) und Möglichkeiten in der Behandlung die Voraussetzungen der Studien sehr unterschiedlich sind. Außerdem untersuchten die meisten immer nur die GvHD als Risikofaktor für die IA, nie wurde jedoch direkt, wie in der hier vorliegenden Studie, die GvHD-Prophylaxe als Risikofaktor für IA getestet.

Sun, Xu et al. (2012) beispielsweise identifizierten die akute GvHD Grad III-IV neben anderen Faktoren als Risikofaktor für die Entstehung einer IFI nach haploidenter HSCT ohne in vitro T-Zell-Depletion. Ein entscheidender Unterschied zu der in dieser Arbeit behandelten Studie besteht darin, dass keine T-Zell-Depletion durchgeführt wurde. Bei den Patienten der Versuchsgruppe der hier vorliegenden Studie hingegen wurde vor Transplantation eine in vitro T-Zell-Depletion von CD3+ und CD19+ Zellen und/oder eine CD34+ Selektion durchgeführt. Bei einer T-Zell-Depletion ist nur eine verminderte Gabe an Immunsuppressiva nötig. In der Folge ergibt sich eine schnellere Immunrekonstitution und dadurch ist die Entstehung einer GvHD unwahrscheinlicher. Jedoch steigt

mit der Aggressivität der Depletion auch das Risiko für eine Pilzinfektion (van Burik, Carter et al., 2007). In einer Studie fanden van Burik, Carter et al. (2007) heraus, dass nach Stammzelltransplantation mit T-Zell-Depletion der Spende 38% der Patienten an einer ernsthaften Pilzinfektion erkrankten. Bei der Gruppe der Patienten, bei denen eine Stammzelltransplantation ohne vorhergehende T-Zell-Depletion durchgeführt wurde, erkrankten lediglich 24%. Allerdings stammten bei dieser Studie die Spenden aus dem Knochenmark und nicht, wie bei der hier vorliegenden Studie, aus dem peripheren Blut.

Auch Wald, Leisenring et al. (1997) fanden in ihrer Studie heraus, dass eine GvHD nach einer allogenen Knochenmarktransplantation mit gleichzeitiger Anwendung von Kortikosteroiden (bspw. Glukokortikoide) mit einem erhöhten Risiko einhergeht, an IA zu erkranken. Die Autoren geben als Grund dafür an, dass bei einer allogenen Transplantation im Vergleich zu einer autologen die Gabe von immunsupprimierenden Medikamenten zur Bekämpfung der GvHD verlängert erfolgen muss. (Wald, Leisenring et al., 1997)

Ein Unterschied ist jedoch, dass bei der Studie von Wald, Leisenring et al. (1997) die Stammzellen aus dem Knochenmark stammten, während in der hier vorliegenden Studie eine Transplantation von peripheren Blutstammzellen stattfand. Dies spielt insofern eine Rolle, als dass eine periphere Blutstammzellspende bis zu zehnmal mehr T- und B-Lymphozyten enthält als eine Knochenmarkspende und der Empfänger dadurch weniger immunologisch geschwächt ist, was wiederum das Risiko für die Entstehung von Infektionen senkt. Außerdem erfolgt die Immunrekonstitution bei einer peripheren Blutstammzellspende schneller. (Storek, Dawson et al., 2001)

Auch Marr, Carter et al. (2002) fanden in ihrer Studie zu epidemiologischen Veränderungen und Risikofaktoren für die Entstehung der IA bei Patienten nach allogener HSCT heraus, dass durch die an der Spende vorgenommene T-Zell-Depletion oder CD34+ Selektion das Risiko steigt, an IA zu erkranken.

In einer Studie von Baddley, Andes et al. (2010), die das Ziel hatte, Risikofaktoren für die Mortalität von Transplantationspatienten mit IA zu identifizieren, wurde der Gebrauch von Methylprednisolon auf seinen Zusammenhang mit der Mortalität von HSCT Patienten getestet und konnte signifikant nachgewiesen werden. Da die vorliegende Arbeit jedoch die GvHD-Prophylaxe als Risikofaktor für die Entstehung der IA prüft

und die Studie von Baddley, Andes et al. (2010) ein spezielles Medikament der Prophylaxe als Risikofaktor für die Mortalität bei Patienten untersucht, die bereits an IA erkrankt sind, ist auch hier ein direkter Vergleich wissenschaftlich nicht vertretbar.

Es kann sowohl aus der Studie von Wald, Leisenring et al. (1997), als auch aus der von Sun, Xu et al. (2012) geschlossen werden, dass die Gabe der Immunsuppressiva -wie beispielsweise bei der GvHD-Prophylaxe- die Entstehung der IA begünstigt.

Das Zustandekommen der im Vergleich zu anderen Studien abweichenden Ergebnisse bezüglich GvHD-Prophylaxe als Risikofaktor für IA in der vorliegenden Arbeit ist auf den relativ kleinen Stichprobenumfang dieses Versuchs zurückzuführen. Je kleiner die Patientenzahl, desto mehr gewinnen einzelne Ausreißer an Bedeutung und desto größer ist ihr Einfluss auf das Ergebnis. In der Versuchsgruppe konnten lediglich 13 Patienten (39,4%) auf diesen Zusammenhang getestet werden. Von diesen 13 Patienten hatten nur vier (30,8%; siehe Tabelle 10 und Abbildung 13) die Diagnose IA.

Es sollte ein weiterer Aspekt beachtet werden bei der Überlegung, warum in dieser Studie in Bezug auf den Zusammenhang zwischen GvHD-Prophylaxe und IA kein signifikantes Ergebnis zu Tage trat: Viele Patienten starben schon vor einem möglicherweise auftretendem Ausbruch der IA, was die Relevanz dieser Studie vor allem in Bezug auf die haploidente Spende unterstreicht. Denn in der Versuchsgruppe (haploidente Spende) war die mittlere Überlebensrate mit 115 Tagen (Intervall: 3-1198 Tage) sehr gering. Im Vergleich dazu betrug die mittlere Überlebensrate in der Kontrollgruppe 484 Tage (Intervall: 36-1266 Tage).<sup>3</sup>

Eine weitere Anregung für nachfolgende detaillierte Untersuchungen konnte im Laufe dieser komplexen Studie herausgearbeitet werden: Das Testen der einzelnen Medikamente der GvHD-Prophylaxe auf ihren Zusammenhang mit der IA. In der vorliegenden Arbeit wurde nicht zwischen den unterschiedlichen Medikamenten differenziert, es wurde nur einen genereller Zusammenhang der Prophylaxe-Medikamente mit der IA untersucht. Zusätzliche Informationen über Zeitpunkt der Applikation, Dosis und Übergang von Prophylaxe in Therapie können zu neuen Erkenntnissen bezüglich des untersuchten Zusammenhangs führen. So könnte möglicherweise der Zusammenhang zwi-

<sup>3</sup> Vielen Dank an Sandra Kühn für das Überlassen der Daten zur mittleren Überlebensrate der Patienten.

schen Prophylaxe-Medikament und Entstehung der IA in der Dauer der Anwendung oder der Dosierung liegen. Auch die Kombination verschiedener Medikamente könnte zur Entstehung der IA beitragen. Dies gilt es in weiterführenden Studien zu überprüfen.

### **4.2 Protektiver Faktor Antimykotische Prophylaxe**

Beim Testen des Zusammenhangs zwischen dem Verabreichen der Antimykotischen Prophylaxe und der Erkrankung an IA war weder das Ergebnis der Patienten der Versuchsgruppe, noch das der Kontrollgruppe signifikant (siehe auch unter 3.2). Es konnte demzufolge kein diesbezüglicher Zusammenhang nachgewiesen werden.

Dieses Ergebnis entspricht den Erwartungen, da die Antimykotische Prophylaxe speziell auf die Vermeidung bzw. Bekämpfung einer Pilzinfektion abzielt und somit nicht als Risikofaktor für die Entstehung einer IA gelten sollte.

Auch in Bezug auf diesen Zusammenhang gibt es bisher kaum vergleichbare Studien, was die Notwendigkeit der Überprüfung des protektiven Faktors Antimykotische Prophylaxe verdeutlicht.

Upton, Kirby et al. (2007) beispielsweise führten eine Studie zur Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten nach HSCT und über die prognostischen Faktoren, die das Auftreten der IA bei Patienten nach HSCT vorhersagen, durch. Darin belegen sie, dass die Mortalitätsrate an IA durch den Gebrauch von Voriconazol sinkt, machen jedoch keine Aussage darüber, ob die Entstehung der IA durch das Medikament beeinflusst wird.

In einer Studie von Baddley, Andes et al. (2010) konnte nachgewiesen werden, dass der Gebrauch von Amphotericin B mit einer erhöhten Mortalität bei Patienten mit IA nach HSCT einhergeht. Dies beweist jedoch nicht den Zusammenhang zwischen dem Medikament und der Entstehung der IA, weshalb auch hier wiederum kein direkter Vergleich angestellt werden kann.

Auch hier konnten einige Anregungen für weitere Studien herausgearbeitet werden: Wie auch bei der GvHD-Prophylaxe, könnte die differenziertere Untersuchung der einzelnen Medikamente zur Antimykotischen Prophylaxe und Therapie, Dosierung und Zeitpunkt der Applikation noch genaueren Aufschluss bringen. In dieser Arbeit wurde lediglich

ein genereller Zusammenhang zwischen den antimykotischen Medikamenten und der Entstehung der IA getestet.

### **4.3 Risikofaktor Vorerkrankungen**

Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Entwicklung der IA und den bereits bestehenden Vorerkrankungen der immunsupprimierten Patienten nach haploidenter oder identischer Stammzelltransplantation festgestellt werden (siehe unter 3.3).

Dieses Ergebnis entspricht nicht den Erwartungen. Andere Studien befassten sich ebenfalls mit bestehenden Vorerkrankungen und Patienten nach HSCT, nie wurde bisher jedoch der Zusammenhang mit der Entstehung der IA berücksichtigt.

Eine Studie von Upton, Kirby et al. (2007) beispielsweise benannte erhöhte Bilirubin- und Kreatininlevel und eine Beeinträchtigung der Lungenfunktion als Risikofaktoren für eine erhöhte Mortalitätsrate bei Patienten mit IA nach HSCT. Ob diese Risikofaktoren allerdings auch die Entstehung der IA begünstigen, wurde hierbei nicht untersucht.

Auch Sorrow, Sandmaier et al. (2007) untersuchten in ihrer Studie die Rolle von Vorerkrankungen bei Patienten mit AML oder Myelodysplasie nach allogener HSCT und verglichen auch die myeloablative mit der nicht myeloablativen Konditionierungstherapie bei eben genannten Patienten. Dabei fanden sie unter anderem heraus, dass mit zunehmendem Vorerkrankungs-Score (nach HCT-CI) auch die nicht dem Rückfall geschuldete Mortalitätsrate steigt. Eine direkte Untersuchung der Frage, ob die Vorerkrankungen mit der Entstehung der IA im Zusammenhang stehen, fand hierbei jedoch nicht statt. Man kann aber aufgrund der hohen Mortalitätsrate (laut Sun, Xu et al. (2012) bei ca. 80% nach allogener HSCT aufgrund von IA) darauf schließen, dass die IA bei der nicht dem Rückfall geschuldeten Mortalitätsrate eine große Rolle spielt. Deshalb wäre es in diesem Zusammenhang durchaus denkbar, dass die Vorerkrankungen der IA den Weg ebnen und zu einer erleichterten Infektion führen können, was in der hier vorliegenden Studie erstmals direkt untersucht wurde.

Aufgrund der niedrigen Patientenzahl mussten jedoch -wie bereits erwähnt- in der Versuchsgruppe alle Patienten mit Score 1, 2, und 4 und in der Kontrollgruppe alle Patienten mit Score 1, 2, 3 und 7 zusammengefasst werden. Dies führte möglicherweise zu falsch nicht signifikanten Ergebnissen, da doch ein erheblicher gesundheitlicher Unter-

schied zwischen einem Patienten mit Score 1 und einem mit Score 7 besteht. Auch dieses Argument betont die Wichtigkeit größerer Patientenzahlen in zukünftiger Forschung auf diesem Gebiet.

#### **4.4 Zusammenhang zwischen Art der Stammzellspende und Auftreten der IA**

Das Überprüfen des Zusammenhangs zwischen Art der Stammzellspende und Auftreten der IA brachte kein signifikantes Ergebnis, sodass hier kein diesbezüglicher Zusammenhang festgestellt werden konnte.

Dieses Ergebnis entspricht nicht den Erwartungen.

So belegten beispielsweise Wald, Leisenring et al. (1997) in einer Studie über die Epidemiologie von Aspergillus Infektionen bei Personen nach Knochenmarktransplantation folgendes: Patienten, die eine Knochenmarkspende von einem nicht verwandten Spender empfangen, haben ein 1,7fach erhöhtes Risiko, an IA zu erkranken, als Patienten mit einer Spende von einem passenden, verwandten Spender. Autologe oder syngene HSCT hingegen sollen sogar eine protektive Wirkung gegen IA haben. Da es sich dabei allerdings um eine Knochenmarkspende und nicht wie in der hier vorliegenden Studie um eine periphere Blutstammzellspende handelt, sind die Ergebnisse nicht direkt vergleichbar. Eine periphere Blutstammzellspende führt zu einer schnelleren immunologischen und hämatopoetischen Rekonstitution (To, Haylock et al., 1997) und senkt so das Risiko für das Auftreten einer IA.

Auch Morgan, Wannemuehler et al. (2005) berichteten in ihrer Studie über das Auftreten der IA nach HSCT und Organtransplantation, dass die kumulative Inzidenz der IA nach 12 Monaten bei 0,5% nach autologer HSCT lag. Des Weiteren lag sie bei 2,3% nach allogener HSCT bei Patienten mit passendem (HLA-matched), verwandtem Spender, bei 3,2% nach HSCT bei Patienten mit nicht passendem (HLA-mismatched), verwandtem Spender und bei 3,9% bei Patienten nach HSCT mit nicht verwandtem Spender. Auch die Mortalitätsrate nach der Diagnose von IA lag nach 3 Monaten nach autologer HSCT bei 53,8%, nach allogener HSCT von unverwandten Spendern bei 84,6% (Morgan, Wannemuehler et al., 2005).

Aufgrund der Ergebnisse der eben aufgeführten Studien, hätte man bei der hier vorliegenden Arbeit vor allem in der Versuchsgruppe einen signifikanten Zusammenhang zwischen allogener haploidenter HSCT und Auftreten der IA erwartet.

Eine Möglichkeit, warum das Ergebnis nicht der Anfangsprämisse entspricht, könnte sein, dass wiederum die Anzahl der in den Test einbezogenen Patienten zu niedrig ist bzw. die Überlebensdauer nach HSCT einiger Patienten zu gering, um eine IA entwickeln (bzw. diagnostizieren) zu können.

### **4.5 Zusammenhang zwischen Wiederherstellung des hämatologischen Systems und Auftreten der IA**

Zwar konnte in der Versuchsgruppe an Tag 60 in Bezug auf die Leukozytenzahl bei Patienten mit IA mit einem Mittelwert von  $1,88 \pm 1,22 \times 1000/\mu\text{l}$  ein signifikant ( $p=0,032$ ) niedrigerer Mittelwert festgestellt werden, als bei Patienten ohne IA (Mittelwert:  $6,08 \pm 5,07 \times 1000/\mu\text{l}$ ), allerdings ist fraglich, ob dieses Ergebnis aussagekräftig ist, da es das einzige signifikante Ergebnis in diesem Zusammenhang ist.

Alle anderen Tests in der Versuchsgruppe zum Mittelwertunterschied zwischen Anzahl der Lymphozyten, segment- und stabkernigen neutrophilen Granulozyten, Thrombozyten, Hämoglobin- und Hämatokritwert der Patienten mit IA und der Patienten ohne IA waren nicht signifikant. Zu den Monozyten konnten keine Tests durchgeführt werden, da die Anzahl der gemessenen Werte zu gering war.

In der Kontrollgruppe konnten aufgrund der wenigen vorhandenen Messwerte keine Tests bei den Lympho- und Monozyten durchgeführt werden. Bei den Leukozyten, den segment- und den stabkernigen neutrophilen Granulozyten konnten die Tests zwar angestellt werden, jedoch kein signifikanter Mittelwertunterschied zwischen den Patienten mit IA und denen ohne IA festgestellt werden.

Nur für Thrombozyten ließ sich ein signifikanter Mittelwertunterschied an Tag 210 finden ( $p=0,001$ ): Der Mittelwert der Thrombozyten war bei den Patienten ohne IA signifikant höher ( $195,94 \pm 54,70 \times 1000/\mu\text{l}$ ) als bei den Patienten mit IA ( $39,50 \pm 13,44 \times 1000/\mu\text{l}$ ). Auch in Bezug auf die Hämoglobinwerte an Tag 210 konnte man einen signifikanten Mittelwertunterschied ( $p=0,007$ ) feststellen: Die Patienten ohne IA hatten einen deutlich höheren Mittelwert des Hämoglobins ( $12,76 \pm 1,73 \text{ g/dl}$ ) als die Patienten, denen die IA diagnostiziert wurde ( $8,90 \pm 0,28 \text{ g/dl}$ ). Des Weiteren konnte auch bei den

## Diskussion

Hämatokritwerten ein signifikantes Ergebnis am Tag 210 ( $p=0,003$ ) gefunden werden. Patienten, die nicht an IA erkrankt waren, hatten einen signifikant höheren Mittelwert ( $38,65 \pm 5,31 \%$ ), als Patienten mit IA ( $24,95 \pm 3,04 \%$ ). Ob jedoch diese wenigen signifikanten Ergebnisse aussagekräftig sind, bleibt, wie auch bereits bei der Versuchsgruppe, fraglich.

Die Ergebnisse zur Versuchsgruppe sind unter 3.5.1 dargestellt und werden durch Tabelle 17 veranschaulicht, die zur Kontrollgruppe unter 3.5.2 und durch Tabelle 18.

Es fällt in beiden Gruppen auf, dass immer die Patienten ohne IA höhere Werte aufweisen als die Patienten mit IA. Eine logische Erklärung ist, dass die Patienten, die zu einer schnelleren bzw. besseren hämatologischen Rekonstitution fähig waren, auch bessere Abwehrmechanismen gegen die IA hatten und somit weniger daran erkrankten.

Zur genaueren Beurteilung wäre allerdings auch die Erfassung der Wiederherstellung des immunologischen Systems nötig. Um aber auch darüber eine Aussage machen zu können, bedarf es nicht nur der aufgeführten Parameter, sondern zusätzlich auch der Angabe des Verhältnisses zwischen Anzahl der CD4+ Zellen und den CD8+ Zellen, wie im Folgenden noch näher erläutert wird. Erst wenn sich dieses Verhältnis, die Anzahl der Leukozyten, Thrombozyten und der Hämoglobinwert normalisiert haben und keine Immunsuppression mehr nötig ist, spricht man von einem voll regenerierten Immunsystem.<sup>4</sup>

Obwohl die Thrombozyten in erster Linie für die Blutgerinnung zuständig sind und der Hämoglobinwert eine Aussage über die Fähigkeit des Blutes zum Sauerstofftransport macht (Behrends, 2010) und somit diese beiden Parameter nicht im direkten Zusammenhang mit der Abwehrleistung des Immunsystems stehen, sind sie trotzdem Indikatoren für den Zustand des Immunsystems.

Die Leukozyten hingegen spielen in der zellulären Abwehr eine zentrale Rolle: Granulozyten und Monozyten, die sich später zu Makrophagen differenzieren, sind unter anderem als Phagozyten tätig. Zu den Lymphozyten zählen neben den B- und T-Lymphozyten auch die Natürlichen Killerzellen. Sie dienen der Bekämpfung infizierter Zellen. Bei den T-Lymphozyten unterscheidet man zwischen CD4+ Lymphozyten und

<sup>4</sup> Ein Dankeschön an dieser Stelle an Dr. Claudia Löffler für diese Informationen

CD8<sup>+</sup> Lymphozyten, je nachdem welchen der beiden Korezeptoren die T-Lymphozyten neben dem T-Zellrezeptor auf ihrer Oberfläche exprimieren. Bindet ein T-Lymphozyt mit seinem T-Zellrezeptor an den MHC-Antigen-Komplex einer antigenpräsentierenden Zelle (die Antigene werden über MHC I oder MHC II Moleküle gebunden und präsentiert), wird der Lymphozyt aktiviert und zur Proliferation und Differenzierung angeregt. MHC I Moleküle befinden sich auf fast allen kernhaltigen Zellen und auf Thrombozyten und bewirken die Differenzierung der CD8<sup>+</sup> Lymphozyten zu zytotoxischen T-Zellen (T-Killerzellen), die in der Folge befallene Zellen durch Zytotoxine abtöten. Dendritische Zellen, Makrophagen, Monozyten und B-Lymphozyten tragen MHC II Moleküle auf ihrer Oberfläche und bewirken die Differenzierung von CD4<sup>+</sup> Zellen zu T-Helferzellen, die in der Folge entweder B-Lymphozyten zur Differenzierung zu Plasmazellen und zur Antikörperproduktion anregen oder Makrophagen aktivieren. (Behrends, 2010)

Daher ist nicht nur die Gesamtzahl der Leukozyten, sondern auch das Verhältnis der CD4<sup>+</sup> zu den CD8<sup>+</sup> Lymphozyten für die Beurteilung der Rekonvaleszenz des Immunsystems wichtig.

Auch Garcia-Vidal, Upton et al. (2008) fanden in ihrer Studie zur Epidemiologie von Invasiven Pilzinfektionen bei Patienten nach allogener Stammzelltransplantation heraus, dass Zytopenien (Neutropenie, Lymphopenie, Monozytopenie) als eine der Hauptrisikofaktoren für die Erkrankung an einer Invasiven Pilzinfektion gelten. In diese Studie wurden retrospektive Daten aller Patienten einbezogen, die sich innerhalb einer Fünfjahres-Periode von Januar 1998 bis Dezember 2002 im Fred Hutchinson Cancer Research Center in Seattle einer allogenen HSCT unterzogen hatten. Dabei wurden Patienten mit Invasiver Pilzinfektion („proven“ oder „probable“) mit Patienten ohne Invasive Pilzinfektion verglichen.

Wie bereits unter 4.1 erwähnt, kamen Wald, Leisenring et al. (1997) in ihrer Studie zur Epidemiologie von Aspergillus Infektionen bei Patienten nach Knochenmarktransplantation ebenfalls zu dem Schluss, dass unter anderem eine Neutropenie als Risikofaktor für die Erkrankung an IA gilt.

Ein möglicher Ansatz zur Erklärung der nicht signifikanten Ergebnisse in diesem Zusammenhang sind die wenigen Messwerte bei manchen Zellarten oder Parametern (z.B.

aufgrund des frühen Versterbens vieler Patienten nach der Transplantation, v.a. in der Versuchsgruppe, siehe unter 4.1). So konnte der Test oft nicht durchgeführt werden oder das Ergebnis könnte durch die wenigen Werte verfälscht sein.

Zudem konnte herausgearbeitet werden, dass -wie oben erwähnt- die Wiederherstellung ohne die fehlenden Angaben zu CD4+ Zellen, CD8+ Zellen und Zeitpunkt des Absetzens der Immunsuppressiva nicht ausreichend festgestellt werden kann. Ein weiterer Ansatz zur Verbesserung der Studie wäre daher, künftig zusätzlich den Zeitpunkt des Absetzens der Immunsuppressiva und die Anzahl der CD4+ Zellen und CD8+ Zellen zu erfassen.

Allerdings zeigen die Ergebnisse -wie bereits erwähnt- dass stets die Patienten ohne IA höhere Messwerte haben, als die, die an IA erkrankt sind. Man kann daher von einem Zusammenhang zwischen der Wiederherstellung des hämatologischen und immunologischen Systems und dem Auftreten der IA ausgehen.

#### **4.6 Zusammenhang zwischen Wiederherstellung des hämatologischen Systems und Art der Stammzellspende**

Wie bereits unter 3.6 beschrieben und in Tabelle 19 und Tabelle 20 dargestellt, konnten bei der Überprüfung dieses Zusammenhangs signifikante Ergebnisse gefunden werden.

Zunächst wurden die Patienten beider Gruppen, die nicht an IA erkrankt waren, miteinander verglichen: So ergab sich mit  $p < 0,001$  (Mittelwert der Patienten der Versuchsgruppe:  $2,73 \pm 0,97 \times 1000/\mu\text{l}$ ; Mittelwert der Patienten der Kontrollgruppe:  $7,10 \pm 3,67 \times 1000/\mu\text{l}$ ) ein signifikanter Mittelwertunterschied am Tag 180 in Bezug auf die Anzahl der Leukozyten. Dieser war bei den nicht an IA erkrankten Patienten der Kontrollgruppe signifikant höher als der bei den nicht an IA erkrankten Patienten der Versuchsgruppe. Auch bei den segmentkernigen neutrophilen Granulozyten brachte das Testverfahren an Tag 180 mit  $p = 0,007$  ein signifikantes Ergebnis hervor. Somit war die Anzahl der segmentkernigen neutrophilen Granulozyten der Patienten der Versuchsgruppe ohne IA (Mittelwert:  $20 \pm 16,97 \%$ ) an Tag 180 signifikant niedriger als die der eben genannten Zellen der Patienten der Kontrollgruppe ohne IA (Mittelwert:  $55,17 \pm 9,17 \%$ ). Bei den durchgeführten t-Tests zur Thrombozytenanzahl konnten an mehreren Tagen signifikante Ergebnisse erzielt werden. So z.B. an Tag 30, an dem der Mittelwert der Thrombozyten der gesunden Patienten (bezüglich IA) der Versuchsgruppe mit  $62,75 \pm 55,81 \times$

## Diskussion

1000/ $\mu$ l signifikant niedriger war als der der eben genannten Zellen der gesunden Patienten (in Bezug auf IA) der Kontrollgruppe mit  $158,87 \pm 75,91 \times 1000/\mu$ l. Der p-Wert ergab  $p < 0,001$ . Ähnlich signifikante Mittelwertunterschiede zeigen sich an den Tagen 60 bis 210. Stets war die Thrombozytenanzahl der Patienten der Versuchsgruppe ohne IA geringer als die der Patienten der Kontrollgruppe ohne IA.

Ob jedoch ein einzelnes signifikantes Ergebnis bei den Lymphozyten und den segmentkernigen neutrophilen Granulozyten den Zusammenhang zwischen der Rekonvaleszenz des hämatologischen Systems und der Art der Stammzellspende beweist, bleibt fraglich. Die Ergebnisse beim Vergleich der Thrombozytenanzahl hingegen sprechen eindeutig für einen diesbezüglichen Zusammenhang.

Diese Erkenntnis wird durch Bolwell, Pohlman et al. (2004) gestützt, die in ihrer Studie über die prognostische Relevanz des Thrombozyten-Counts 100 Tage nach allogener Knochenmarktransplantation zeigten, dass das Überleben der in die Studie einbezogenen Patienten stark von der Anzahl der Thrombozyten am 100. Tag nach Transplantation abhängt und die Thrombozytenanzahl somit eine wichtige Rolle spielt.

Beim Vergleich der Patienten beider Gruppen, die an IA erkrankt waren, fand sich kein signifikantes Ergebnis.

Auffällig ist, dass stets die Patienten der Kontrollgruppe höhere Mittelwerte bei den verschiedenen Parametern aufweisen als die Patienten der Versuchsgruppe. Eine logische Erklärung ist, dass bei einer haploidenten Transplantation -wie sie bei den Patienten der Versuchsgruppe durchgeführt worden ist- eine im Vergleich zu einer HLA-identen Transplantation langsamere hämatologische Regeneration aufgrund einer eingeschränkten Knochenmarkreserve stattfindet (Hong, Hait et al., 2010). Dadurch kann die Rekonvaleszenz des hämatologischen Systems nur sehr langsam erfolgen und die Anzahl der einzelnen immunkompetenten Zellen steigt erst verzögert an.

Die Gründe für das Auftreten der nicht signifikanten Ergebnisse können auch bei der Betrachtung des Zusammenhangs zwischen Wiederherstellung des hämatologischen Systems und der Art der Stammzellspende unterschiedlicher Natur sein. Zum einen ist wiederum anzuführen, dass eine höhere Anzahl an dieser Studie teilnehmenden Patienten die Auswirkung von Ausreißern auf das Gesamtergebnis minimieren würde, und somit zumindest eine Tendenz in Richtung Signifikanzniveau hätte erreicht werden

können. Ein weiterer Aspekt ist, dass vor allem beim Vergleich der Mittelwerte der Patienten beider Gruppen, die an IA erkrankt waren, die Daten nur weniger Messtage zum Vergleich herangezogen werden konnten, da an vielen Tagen zu wenige Messwerte vorlagen. Eine mögliche Ursache hierfür könnte die durch die IA erhöhte Mortalität dieser Patienten sein.

### **4.7 Einfluss eines einzelnen Faktors auf die Entstehung der IA in Abhängigkeit aller anderen Faktoren**

Wie bereits im Vorfeld erwähnt, konnte die logistische Regression als Variante der multivariaten Analyse nicht durchgeführt werden, da dies bei so geringen Fallzahlen statistisch nicht möglich ist. Auch andere Varianten sind aus statistischer Sicht mit der geringen Patientenzahl nicht sinnvoll durchführbar. Eine Anregung für weitere Studien könnte daher sein, mit einer erhöhten Patientenanzahl speziell diese Fragestellung noch einmal aufzugreifen.

### 5 Zusammenfassung

Die Studie befasst sich mit der Untersuchung verschiedener Risikofaktoren auf ihren Zusammenhang mit der Entstehung der Invasiven Aspergillose bei Patienten nach HSCT. Diese Faktoren sind: Verabreichen einer GvHD-Prophylaxe, Gabe einer Antimykotischen Prophylaxe, bereits bestehende Vorerkrankungen, das noch nicht vollständig wiederhergestellte hämatologische System und die Durchführung der Stammzelltransplantation mit einer haploidenten Spende.

Die Daten von 72 Patienten wurden retrospektiv aus den Krankenakten erfasst. 33 von ihnen hatten eine haploidente Stammzellspende empfangen, bei der also nur die Hälfte der HLA-Merkmale mit denen des Empfängers übereinstimmten. Die anderen 39 Patienten erhielten eine identische Spende von einem Geschwister, bei der demzufolge die HLA-Merkmale mit denen des Empfängers komplett übereinstimmten. Mit Hilfe dieser Daten wurde die Verabreichung von Prophylaxen nachvollzogen, die Vorerkrankungen erfasst und kategorisiert, Zellzahlen und andere Blutwerte zu bestimmten Tagen zusammengetragen und notiert, ob die Diagnose IA nach den neuen EORTC Kriterien vorlag. Im Anschluss führte man verschiedene statistische Testverfahren zum Nachweis eines signifikanten Zusammenhangs mit der Entstehung der IA durch.

In der vorliegenden Arbeit konnte zwar nicht nachgewiesen werden, dass ein Zusammenhang zwischen der Gabe der GvHD-Prophylaxe und der Entstehung der IA besteht, allerdings bleibt die Vermutung weiterhin bestehen und sollte durch künftige Studien untermauert werden. Gleiches gilt für die Antimykotische Prophylaxe, die Vorerkrankungen und die haploidente allogene Stammzellspende. Auch der Einfluss der Wiederherstellung des hämatologischen Systems auf die Entstehung der IA brachte -entgegen der Erwartungen- kein eindeutig signifikantes Ergebnis, mit Ausnahme einiger einzelner Werte bei verschiedenen Zellarten. Es bietet sich folglich auch hierbei ein möglicher Ansatz für künftige Studien. Es gingen jedoch auch signifikante Ergebnisse aus der vorliegenden Untersuchung hervor. So konnte gezeigt werden, dass es einen Zusammenhang zwischen der Wiederherstellung des hämatologischen Systems (in Bezug auf die Thrombozyten) und der Art der Spende gibt. Letztlich sollte dies aber durch detaillierte Untersuchungen untermauert werden.

## Zusammenfassung

Trotz der gezeigten Ergebnisse dieser Studie weisen die Daten aus der Literatur darauf hin, dass sowohl die GvHD-Prophylaxe als auch verschiedene Vorerkrankungen und die haploidente allogene Stammzellspende durch schlechtere Regeneration des hämatologischen Systems als Risikofaktoren für die Erkrankung an IA gelten. Darüber hinaus besteht aus denselben Gründen ein Zusammenhang zwischen der Wiederherstellung des hämatologischen Systems und der Art der Spende, da bei haploidenter Spende eine langsamere hämatologische Regeneration stattfindet und nur noch eine eingeschränkte Knochenmarkreserve vorliegt. Somit wird auch hier die Immunrekonstitution beeinträchtigt. Fraglich bleibt weiterhin der Einfluss der Antimykotischen Prophylaxe auf die Entstehung der IA.

Diese Studie konnte in Hinblick auf die Frage nach den Risikofaktoren für die Entstehung der Invasiven Aspergillose nach Stammzelltransplantation einen wichtigen Beitrag leisten und ebnet den Weg für künftige Forschungen bezüglich dieses Themas.

## 6 Literaturverzeichnis

Andreesen, R. and H. Heimpel (2009). Klinische Hämatologie. 80-82, Elsevier, Urban & Fischer.

Ascioglu, S., J. H. Rex, B. de Pauw, J. E. Bennett, J. Bille, F. Crokaert, D. W. Denning, J. P. Donnelly, J. E. Edwards, Z. Erjavec, D. Fiere, O. Lortholary, J. Maertens, J. F. Meis, T. F. Patterson, J. Ritter, D. Selleslag, P. M. Shah, D. A. Stevens and T. J. Walsh (2002). "Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus." Clin Infect Dis **34**(1): 7-14.

Atsuta, Y., R. Suzuki, T. Nagamura-Inoue, S. Taniguchi, S. Takahashi, S. Kai, H. Sakamaki, Y. Kouzai, M. Kasai, T. Fukuda, H. Azuma, M. Takanashi, S. Okamoto, M. Tsuchida, K. Kawa, Y. Morishima, Y. Kodera and S. Kato (2009). "Disease-specific analyses of unrelated cord blood transplantation compared with unrelated bone marrow transplantation in adult patients with acute leukemia." Blood **113**(8): 1631-1638.

Baddley, J. W., D. R. Andes, K. A. Marr, D. P. Kontoyiannis, B. D. Alexander, C. A. Kauffman, R. A. Oster, E. J. Anaissie, T. J. Walsh, M. G. Schuster, J. R. Wingard, T. F. Patterson, J. I. Ito, O. D. Williams, T. Chiller and P. G. Pappas (2010). "Factors associated with mortality in transplant patients with invasive aspergillosis." Clin Infect Dis **50**(12): 1559-1567.

Baird, K. and S. Z. Pavletic (2006). "Chronic graft versus host disease." Curr Opin Hematol **13**(6): 426-435.

Behrends, J. C. (2010). Physiologie: 93 Tabellen. 167, 177 Thieme.

Billingham, R. E. (1966). "The biology of graft-versus-host reactions." Harvey Lect **62**: 21-78.

Bohme, A., M. Ruhnke, D. Buchheidt, M. Karthaus, H. Einsele, S. Guth, G. Heussel, C. P. Heussel, C. Junghanss, W. K. Kern, T. Kubin, G. Maschmeyer, O. Sezer, G. Silling, T. Sudhoff, H. Szelenyi Daggar and A. J. Ullmann (2003). "Treatment of fungal infections in hematology and oncology--guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO)." Ann Hematol **82 Suppl 2**: S133-140.

Bolwell, B., B. Pohlman, R. Sobecks, S. Andresen, S. Brown, L. Rybicki, V. Wentling and M. Kalaycio (2004). "Prognostic importance of the platelet count 100 days post allogeneic bone marrow transplant." Bone Marrow Transplant **33**(4): 419-423.

Chen, X.-H., L. Gao, X. Zhang, L. Gao, C. Zhang, P.-Y. Kong, H. Liu, X.-G. Peng, A.-H. Sun, D.-g. Qi, Y. Gong and Q.-Y. Wang (2009). "HLA-haploidentical blood and bone marrow transplantation with anti-thymocyte globulin: Long-term comparison with HLA-identical sibling transplantation." Blood Cells, Molecules, and Diseases **43**(1): 98-104.

## Literaturverzeichnis

- Civin, C. I., L. C. Strauss, M. J. Fackler, T. M. Trischmann, J. M. Wiley and M. R. Loken (1990). "Positive stem cell selection--basic science." Prog Clin Biol Res **333**: 387-401; discussion 402.
- Copelan, E. A. (2006). "Hematopoietic stem-cell transplantation." N Engl J Med **354**(17): 1813-1826.
- De Pauw, B., T. J. Walsh, J. P. Donnelly, D. A. Stevens, J. E. Edwards, T. Calandra, P. G. Pappas, J. Maertens, O. Lortholary, C. A. Kauffman, D. W. Denning, T. F. Patterson, G. Maschmeyer, J. Bille, W. E. Dismukes, R. Herbrecht, W. W. Hope, C. C. Kibbler, B. J. Kullberg, K. A. Marr, P. Munoz, F. C. Odds, J. R. Perfect, A. Restrepo, M. Ruhnke, B. H. Segal, J. D. Sobel, T. C. Sorrell, C. Viscoli, J. R. Wingard, T. Zaoutis and J. E. Bennett (2008). "Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group." Clin Infect Dis **46**(12): 1813-1821.
- Denning, D. W., P. Ribaud, N. Milpied, D. Caillot, R. Herbrecht, E. Thiel, A. Haas, M. Ruhnke and H. Lode (2002). "Efficacy and safety of voriconazole in the treatment of acute invasive aspergillosis." Clin Infect Dis **34**(5): 563-571.
- Ferrara, J. L., J. E. Levine, P. Reddy and E. Holler (2009). "Graft-versus-host disease." Lancet **373**(9674): 1550-1561.
- Filipovich, A. H., D. Weisdorf, S. Pavletic, G. Socie, J. R. Wingard, S. J. Lee, P. Martin, J. Chien, D. Przepiorka, D. Couriel, E. W. Cowen, P. Dinndorf, A. Farrell, R. Hartzman, J. Henslee-Downey, D. Jacobsohn, G. McDonald, B. Middleman, J. D. Rizzo, M. Robinson, M. Schubert, K. Schultz, H. Shulman, M. Turner, G. Vogelsang and M. E. Flowers (2005). "National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report." Biol Blood Marrow Transplant **11**(12): 945-956.
- Garcia-Vidal, C., A. Upton, K. A. Kirby and K. A. Marr (2008). "Epidemiology of invasive mold infections in allogeneic stem cell transplant recipients: biological risk factors for infection according to time after transplantation." Clin Infect Dis **47**(8): 1041-1050.
- Gatti, R. A., H. J. Meuwissen, H. D. Allen, R. Hong and R. A. Good (1968). "Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency." Lancet **2**(7583): 1366-1369.
- Gemsa, D., J. R. Kalden and K. Resch (1997). Immunologie Grundlagen, Klinik, Praxis. 636-640, 669, Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
- Glucksberg, H., R. Storb, A. Fefer, C. D. Buckner, P. E. Neiman, R. A. Clift, K. G. Lerner and E. D. Thomas (1974). "Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors." Transplantation **18**(4): 295-304.
- Herbrecht, R., D. W. Denning, T. F. Patterson, J. E. Bennett, R. E. Greene, J. W. Oestmann, W. V. Kern, K. A. Marr, P. Ribaud, O. Lortholary, R. Sylvester, R. H. Rubin, J.

## Literaturverzeichnis

R. Wingard, P. Stark, C. Durand, D. Caillot, E. Thiel, P. H. Chandrasekar, M. R. Hodges, H. T. Schlamm, P. F. Troke and B. de Pauw (2002). "Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis." N Engl J Med **347**(6): 408-415.

Hong, W. K., W. Hait, A. A. f. C. Research and D. W. Kufe (2010). Holland-Frei Cancer Medicine **8**. People's Medical Publishing House.

Jacobsohn, D. and G. Vogelsang (2007). "Acute graft versus host disease." Orphanet Journal of Rare Diseases **2**(1): 35.

Jantunen, E., V. J. Anttila and T. Ruutu (2002). "Aspergillus infections in allogeneic stem cell transplant recipients: have we made any progress?" Bone Marrow Transplant **30**(12): 925-929.

Jantunen, E., A. Piilonen, L. Volin, T. Parkkali, P. Koukila-Kahkola, T. Ruutu and P. Ruutu (2000). "Diagnostic aspects of invasive Aspergillus infections in allogeneic BMT recipients." Bone Marrow Transplant **25**(8): 867-871.

Kataoka, Y., T. Iwasaki, T. Kuroiwa, Y. Seto, N. Iwata, N. Hashimoto, A. Ogata, T. Hamano and E. Kakishita (2001). "The role of donor T cells for target organ injuries in acute and chronic graft-versus-host disease." Immunology **103**(3): 310-318.

Kernan, N. A., N. H. Collins, L. Juliano, T. Cartagena, B. Dupont and R. J. O'Reilly (1986). "Clonable T lymphocytes in T cell-depleted bone marrow transplants correlate with development of graft-v-host disease." Blood **68**(3): 770-773.

Krukemeyer, M. G. and A. E. Lison (2006). Transplantationsmedizin: Ein Leitfaden für den Praktiker. 268, De Gruyter.

Kurtzberg, J., M. Laughlin, M. L. Graham, C. Smith, J. F. Olson, E. C. Halperin, G. Ciocci, C. Carrier, C. E. Stevens and P. Rubinstein (1996). "Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients." N Engl J Med **335**(3): 157-166.

Latge, J. P. (1999). "Aspergillus fumigatus and aspergillosis." Clin Microbiol Rev **12**(2): 310-350.

Laughlin, M. J., M. Eapen, P. Rubinstein, J. E. Wagner, M. J. Zhang, R. E. Champlin, C. Stevens, J. N. Barker, R. P. Gale, H. M. Lazarus, D. I. Marks, J. J. van Rood, A. Scaradavou and M. M. Horowitz (2004). "Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia." N Engl J Med **351**(22): 2265-2275.

Link, H. (1997). "Die Transplantation hämatopoetischer Stammzellen." Der Onkologe **3**(1 ): S1-S11.

Link, H., L. Arseniev, O. Bahre, R. J. Berenson, K. Battmer, J. G. Kadar, R. Jacobs, J. Casper, J. Kuhl, J. Schubert, H. Diedrich and H. Poliwoda (1995). "Combined transplantation of allogeneic bone marrow and CD34+ blood cells." Blood **86**(7): 2500-2508.

## Literaturverzeichnis

- Lüllmann, H. and K. Mohr (2006). Pharmakologie und Toxikologie. 474-478, Thieme.
- Marr, K. A., R. A. Carter, M. Boeckh, P. Martin and L. Corey (2002). "Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: changes in epidemiology and risk factors." Blood **100**(13): 4358-4366.
- Marr, K. A., R. A. Carter, F. Crippa, A. Wald and L. Corey (2002). "Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients." Clin Infect Dis **34**(7): 909-917.
- Mein, D. P. and D. D. C. Müller. (2014). "ZKRD Zentrales Knochenmarkspender-Register für die Bundesrepublik Deutschland gemeinnützige GmbH." Retrieved 30.06., 2014, from <http://www.zkrd.de/de/spenderzahlen>.
- Morgan, J., K. A. Wannemuehler, K. A. Marr, S. Hadley, D. P. Kontoyiannis, T. J. Walsh, S. K. Fridkin, P. G. Pappas and D. W. Warnock (2005). "Incidence of invasive aspergillosis following hematopoietic stem cell and solid organ transplantation: interim results of a prospective multicenter surveillance program." Med Mycol **43 Suppl 1**: S49-58.
- Odds, F. C., A. J. Brown and N. A. Gow (2003). "Antifungal agents: mechanisms of action." Trends Microbiol **11**(6): 272-279.
- Offner, F., C. Cordonnier, P. Ljungman, H. G. Prentice, D. Engelhard, D. De Bacquer, F. Meunier and B. De Pauw (1998). "Impact of previous aspergillosis on the outcome of bone marrow transplantation." Clin Infect Dis **26**(5): 1098-1103.
- Parody, R., R. Martino, F. Sanchez, M. Subira, A. Hidalgo and J. Sierra (2009). "Predicting survival in adults with invasive aspergillosis during therapy for hematological malignancies or after hematopoietic stem cell transplantation: Single-center analysis and validation of the Seattle, French, and Strasbourg prognostic indexes." Am J Hematol **84**(9): 571-578.
- Passweg, J. R., H. Baldomero, A. Gratwohl, M. Bregni, S. Cesaro, P. Dreger, T. de Witte, D. Farge-Bancel, B. Gaspar, J. Marsh, M. Mohty, C. Peters, A. Tichelli, A. Velardi, C. R. de Elvira, F. Falkenburg, A. Sureda and A. Madrigal (2012). "The EBMT activity survey: 1990-2010." Bone Marrow Transplant **47**(7): 906-923.
- Piper, W. (2013). Innere Medizin. 598-599, 658, 743, 946, SpringerMedizin.
- Reichard, U., M. Monod and R. Ruchel (1995). "Molecular cloning and sequencing of the gene encoding an extracellular aspartic proteinase from *Aspergillus fumigatus*." FEMS Microbiol Lett **130**(1): 69-74.
- Reiche, D. (2003). Roche Lexikon Medizin. Jena, Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag, München.
- Shulman, H. M., K. M. Sullivan, P. L. Weiden, G. B. McDonald, G. E. Striker, G. E. Sale, R. Hackman, M.-S. Tsoi, R. Storb and E. Donnall Thomas (1980). "Chronic graft-versus-

host syndrome in man: A long-term clinicopathologic study of 20 seattle patients." The American Journal of Medicine **69**(2): 204-217.

Silberstein, L. E. and L. C. Jefferies (1996). "Placental-blood banking--a new frontier in transfusion medicine." N Engl J Med **335**(3): 199-201.

Sorrer, M. L. (2010). "Comorbidities and hematopoietic cell transplantation outcomes." Hematology Am Soc Hematol Educ Program **2010**: 237-247.

Sorrer, M. L., M. B. Maris, R. Storb, F. Baron, B. M. Sandmaier, D. G. Maloney and B. Storer (2005). "Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT." Blood **106**(8): 2912-2919.

Sorrer, M. L., B. M. Sandmaier, B. E. Storer, M. B. Maris, F. Baron, D. G. Maloney, B. L. Scott, H. J. Deeg, F. R. Appelbaum and R. Storb (2007). "Comorbidity and disease status based risk stratification of outcomes among patients with acute myeloid leukemia or myelodysplasia receiving allogeneic hematopoietic cell transplantation." J Clin Oncol **25**(27): 4246-4254.

Storek, J., M. A. Dawson, B. Storer, T. Stevens-Ayers, D. G. Maloney, K. A. Marr, R. P. Witherspoon, W. Bensinger, M. E. Flowers, P. Martin, R. Storb, F. R. Appelbaum and M. Boeckh (2001). "Immune reconstitution after allogeneic marrow transplantation compared with blood stem cell transplantation." Blood **97**(11): 3380-3389.

Sun, Y. Q., L. P. Xu, D. H. Liu, X. H. Zhang, Y. H. Chen, H. Chen, Y. Ji, Y. Wang, W. Han, J. Z. Wang, F. R. Wang, K. Y. Liu and X. J. Huang (2012). "The incidence and risk factors of invasive fungal infection after haploidentical haematopoietic stem cell transplantation without in vitro T-cell depletion." Clin Microbiol Infect **18**(10): 997-1003.

Thomas, E. D. and K. G. Blume (1999). "Historical markers in the development of allogeneic hematopoietic cell transplantation." Biol Blood Marrow Transplant **5**(6): 341-346.

To, L. B., D. N. Haylock, P. J. Simmons and C. A. Juttner (1997). "The biology and clinical uses of blood stem cells." Blood **89**(7): 2233-2258.

Traunmuller, F., M. Popovic, K. H. Konz, F. M. Smolle-Juttner and C. Joukhadar (2011). "Efficacy and safety of current drug therapies for invasive aspergillosis." Pharmacology **88**(3-4): 213-224.

Upton, A., K. A. Kirby, P. Carpenter, M. Boeckh and K. A. Marr (2007). "Invasive aspergillosis following hematopoietic cell transplantation: outcomes and prognostic factors associated with mortality." Clin Infect Dis **44**(4): 531-540.

Van Bekkum, D. W., M. J. de Vries and D. van der Waay (1967). "Lesions characteristic of secondary disease in germfree heterologous radiation chimeras." J Natl Cancer Inst **38**(2): 223-231.

van Burik, J.-A. H., S. L. Carter, A. G. Freifeld, K. P. High, K. T. Godder, G. A. Papanicolaou, A. M. Mendizabal, J. E. Wagner, S. Yanovich and N. A. Kernan (2007).

## Literaturverzeichnis

"Higher Risk of Cytomegalovirus and Aspergillus Infections in Recipients of T Cell–Depleted Unrelated Bone Marrow: Analysis of Infectious Complications in Patients Treated with T Cell Depletion Versus Immunosuppressive Therapy to Prevent Graft-versus-Host Disease." Biology of Blood and Marrow Transplantation **13**(12): 1487-1498.

Vogelsang, G. B., L. Lee and D. M. Bensen-Kennedy (2003). "Pathogenesis and treatment of graft-versus-host disease after bone marrow transplant." Annu Rev Med **54**: 29-52.

Wald, A., W. Leisenring, J. A. van Burik and R. A. Bowden (1997). "Epidemiology of Aspergillus infections in a large cohort of patients undergoing bone marrow transplantation." J Infect Dis **175**(6): 1459-1466.

Walsh, T. J., E. J. Anaissie, D. W. Denning, R. Herbrecht, D. P. Kontoyiannis, K. A. Marr, V. A. Morrison, B. H. Segal, W. J. Steinbach, D. A. Stevens, J. A. van Burik, J. R. Wingard and T. F. Patterson (2008). "Treatment of aspergillosis: clinical practice guidelines of the Infectious Diseases Society of America." Clin Infect Dis **46**(3): 327-360.

Weiden, P. L., N. Flournoy, E. D. Thomas, R. Prentice, A. Fefer, C. D. Buckner and R. Storb (1979). "Antileukemic effect of graft-versus-host disease in human recipients of allogeneic-marrow grafts." N Engl J Med **300**(19): 1068-1073.

### **7 Danksagung**

Für die Überlassung des Promotionsthemas und die großartige und sympathische Betreuung bei der Durchführung der Arbeit gilt mein besonderer Dank Herrn Prof. Dr. Jürgen Löffler.

Ebenso möchte ich Frau Dr. Maria Bouzani für die freundliche und geduldige Betreuung, Unterstützung und fortwährende Motivation großen Dank aussprechen.

Ein besonderes Dankeschön richte ich an Frau Sabine Karl, Leiterin der studentischen statistischen Beratungsstelle der Universität Würzburg.

Für die stets nette und hilfsbereite Auskunft in medizinischen Fragen vielen Dank an Frau Dr. Claudia Löffler.

Danke auch an Frau Sandra Kühn für die lieben Ratschläge. Außerdem bedanke ich mich für das Überlassen der Daten zu Alter, Geschlecht, Vorgeschichte (bezüglich Stammzelltransplantation und invasiven Pilzinfektionen) und Überlebensrate der Patienten beider Gruppen.

Ein liebevoller Dank gilt meiner Familie, besonders meinen Eltern, für die bedingungslose und geduldige Unterstützung in jeglicher Hinsicht während all der Zeit. Danke!

**8 Lebenslauf**

**Daniela Krauß**

Zahnärztin

Beruf

Seit Februar 2014

Assistenz Zahnärztin in zahnärztlicher Praxis

Studium

April 2008 - Juni 2013

Studium der Zahnmedizin an der Julius-Maximilians-Universität, Würzburg

Schulbildung

Oktober 1998 - Juli 2007

Rhön-Gymnasium, Bad Neustadt/Saale

Oktober 1994 - Juli 1998

Grundschule, Rödelmaier