

Aus der  
Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen  
Abteilung Innere Medizin II  
(Schwerpunkt: Hämatologie, Onkologie, Klinische Immunologie,  
Rheumatologie)

**Mobilisation von Stammzellen - ein unterschätzter Schritt  
auf dem Weg zur autologen Stammzelltransplantation  
bei Systemischer Sklerose**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von  
Ach, Katharina Renate, geb. Acker**

**2022**

Dekan: Professor Dr. rer. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. J. Henes

2. Berichterstatter: Professor Dr. A. Stenzl

Tag der Disputation: 13.07.2022

# Inhalt

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis .....	5
Abkürzungsverzeichnis .....	5
1 Einleitung .....	9
1.1 Systemische Sklerose .....	9
1.1.1 Pathogenese .....	9
1.1.2 Krankheitsformen.....	10
1.1.3 Epidemiologie .....	10
1.1.4 Autoantikörper .....	11
1.1.5 Symptome und betroffene Organsysteme.....	12
1.1.6 Klassifikationskriterien .....	16
1.1.7 Pathophysiologie .....	17
1.1.8 Verlauf, Überleben und Mortalität.....	19
1.1.9 Psychische Erkrankungen und Lebensqualität .....	20
1.2 Therapie.....	21
1.3 Autologe Stammzelltransplantation .....	25
1.3.1 Ablauf einer ASCT .....	25
1.3.2 Risiken der Stammzelltransplantation .....	27
1.3.3 Treatment Related Mortality .....	28
1.3.4 Rationale der Stammzelltransplantation bei SSc.....	29
1.3.5 Transplantat-Engineering.....	31
1.3.5 Autologe Stammzelltransplantation bei SSc.....	33
1.3.6 ASSIST (American Scleroderma Stem Cell versus Immune Suppression Trial)33	
1.3.7 ASTIS .....	34
1.3.8 SCOT-Trial (Scleroderma: Cyclophosphamide or Transplantation) .....	36
1.4 Poor Mobilizer/Schlechte Mobilisierer (SM) .....	37
1.4.1 Maßnahmen bei Poor Mobilizern .....	38
1.5 Ziel und Fragestellung der vorgelegten Arbeit .....	38
2 Material und Methodik .....	40
2.1 Ziel der vorliegenden Arbeit.....	40
2.2 Design der vorliegenden Arbeit.....	40
2.2.1 Demographie und Patienteneigenschaften .....	40
2.2.2 Mobilisationsprotokoll und Ausnahmen vom Protokoll .....	41
2.2.3 CD34 <sup>+</sup> -Selektion.....	41
2.3 Definition schlechte Mobilisierer (SM) .....	41
2.3.1 Therapiebedingte Variablen .....	42
2.3.2 Patientenbedingte Variablen .....	42
2.3.3 Unterschiede in der Mobilisationstherapie.....	42
2.4 Nebenwirkungen unter der Mobilisationstherapie .....	43
2.5 Datenerhebung, Vollständigkeit der Daten und Datenauswertung.....	43
3 Ergebnisse .....	45
3.1 Patienteneigenschaften .....	45
3.1.1 Demographie.....	45
3.1.2 Klassifikation der SSc und betroffene Organsysteme .....	45
3.1.3 Antikörper .....	45

3.1.4 Begleiterkrankungen.....	46
3.1.5 Begleitende Haut- und Autoimmunerkrankungen .....	46
3.2 Vortherapien der gesamten Studienpopulation .....	46
3.2.1 Immunsuppression .....	46
3.2.2 Therapie der Vaskulopathie .....	47
3.3 Mobilisationsschemata.....	47
3.3.1 Cyclophosphamid .....	47
3.3.2 GCSF- Dosierung .....	47
3.3.3 Ausnahmen vom Mobilisationsprotokoll.....	48
3.5 Schlechte Mobilisierer (SM) .....	48
3.5.1 Eigenschaften der SM im Vergleich zu NM.....	49
3.5.2 Vormedikation der schlechten Mobilisierer.....	49
3.5.3 Mobilisationstherapie der SM .....	50
3.6 Korrelationen .....	52
3.6.1 Demographie.....	52
3.6.2 Vortherapie.....	56
3.6.2.1 Vaskulopathietherapie .....	56
3.6.2.2 Immunsuppression und -modulation.....	56
3.6.2.3 Vortherapie mit Cyclophosphamid.....	57
3.6.3 Mobilisation unter 2x2 g/m <sup>2</sup> und reduzierter Dosierung .....	58
3.6.2.4 Korrelation zwischen SM und Cyclophosphamiddosierung in der Mobilisationstherapie .....	60
3.7 Nebenwirkungen unter den verschiedenen Mobilisationsregimes .....	65
3.8 GCSF.....	66
4 Diskussion .....	67
5 Zusammenfassung.....	76
6 Literaturverzeichnis .....	80
7 Erklärung zum Eigenanteil .....	87

## Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1 Alter bei Mobilisation und Mobilisierungsverhalten. Die SM waren im Vergleich etwas jünger, das Alter der NM war weiter gespreizt.....	53
Abbildung 2: Mobilisationsverhalten und Gewicht bei Mobilisation. Das Gewicht der SM war im Median deutlich geringer.....	54
Abbildung 3: Mobilisierungsverhalten und BMI bei Mobilisation. Der BMI war bei den SM deutlich geringer.....	54
Abbildung 4: Mobilisationsverhalten und mRSS. SM haben im Median einen etwas höheren mRSS.....	55

Tabelle 1 Vergleich NM und SM zur gesamten Studienpopulation.....	52
Tabelle 2 Vergleich 2x2g/m <sup>2</sup> und reduzierte Dosierung.....	560
Tabelle 3 SM im Vergleich zu NM unter den verschiedenen Dosierungen, Demographie und Krankheitslast .....	62
Tabelle 4 Vortherapien, aufgeschlüsselt nach Mobilisationsregime und SM vs. NM ...	64
Tabelle 5 Autoantikörper unter den Mobilisationsregimes, Vergleich von SM und NM	65
Tabelle 6 Nebenwirkungen unter 2x2 g/m <sup>2</sup> und reduzierter Dosierung.....	66

## Abkürzungsverzeichnis

ACA	Anti-Centromer Antikörper
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ACR	American College of Rheumatology
ADWP	autoimmune Disease Working Party
AIF1	Allograft inflammatory factor 1
AMA	Anti-Mitochondriale Antikörper
ANA	Anti-Nukleäre Antikörper
ASTIS	Autologous Stem Cell Transplantation International Scleroderma
ATG	Antithymozytenglobulin
BEAM	BCNU (Carmustin), Etoposid, Cytarabin und Melphalan
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CENP- A, -B, -C	Centromerprotein- A, -B, -C
cGy	Centigray
CREST	Calcinosis, Raynaud, Ösophagusmotilitätsstörungen, Sklerodaktylie, Teleangiektasie
CXCR4	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4+

CYC	Cyclophosphamid
dcSSc	diffus kutane systemische Sklerose
DETECT	Evidence-based detection of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis
DMARD	disease modifying antirheumatic drug
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DLCO	Kohlenmonoxid-Diffusionskapazität
EBMT ADWP	European Society for Blood and Marrow Autoimmune Disease Working Party
EGFL7	Epidermal Growth Factor Like Protein 7
EKG	Elektrokardiogramm
EULAR	European League against Rheumatism
EUSTAR	European Scleroderma Trials and Research Group
FSFI	Female Sexual Function Index
FVC	Forcierte Vitalkapazität
GAVE	gastrisch antrale vaskuläre Ektasien
GCSF	Granulozyten-Kolonien stimulierender Faktor
GERD	Gastroösophageale Refluxkrankheit
GRCS	Global Rank Composite Score
GvHD	Graft versus Host Disease
HAQ-DI	Health Assessment Questionnaire Disability Index
HIV	Humanes Immundefizienz Virus
HLA	Humanes Leukozyten Antigen
ICD	Implantierbarer Kardioverter-Defibrillator
IDDM	Insulinabhängiger Diabetes Mellitus
IL-1alpha	Interleukin-1alpha
ILD	Interstitielle Lungenerkrankung
ITTP	Idiopathische thrombozytopenische Purpura
KOF	Körperoberfläche

lcSSc	limitiert kutane systemische Sklerose
LVEF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
MCP-1	Makrophagen-Chemoattraktorprotein-1
MMF	Mycophenolatmofetil
mPAP	mittlerer pulmonal arterieller Druck
mRSS	modifizierter Rodnan Skin Score
MCP	Metacarpophalangealgelenk
MS	Multiple Sklerose
NHL	Non-Hodgkin Lymphom
Nt-pro-BNP	N-terminales pro brain natriuretic peptide
NYHA	New York Heart Association
OR	Odds Ratio
PAH	Pulmonal- arterielle Hypertonie
pAWP	pulmonalarterieller Wedgedruck
PBC	primäre biliäre Zirrhose
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PDE Inhibitoren	Phosphodiesterasehemmer
PH	Pulmonale Hypertonie
PPI	Protonenpumpeninhibitoren
PVR	pulmonal-vaskulärer Widerstand
RA	Rheumatoide Arthritis
RCT	randomisierte Kontrollstudie
RHK	Rechtsherzkatheter
RNA	Ribonucleinsäure
RTX	Rituximab
Sc170	Topoisomerase1-Antikörper
SCOpE	SCLeroderma mOrtality p Eustar
SHAQ	Scleroderma Health Assessment Questionnaire

SMR	standardisiertes Mortalitätsverhältnis
SLE	Systemischer Lupus Erythematoses
SLS1/2	Scleroderma Lung Study I/II
SNP	Single Nucleotid Polymorphism
SSc	Systemische Sklerose
SvO <sub>2</sub>	gemischtvenöser Sauerstoffsättigung
TBI	Total Body Irradiation (Ganzkörperbestrahlung)
TDI	Transition Dyspnea Index
TGFβ	Transforming Growth Factor β
TLC	Totale Lungenkapazität
TNF	Tumornekrosefaktor
TRM	Treatment Related Mortality/ behandlungsbedingte Mortalität
VAS	Visuelle Analogskala
VEGF	Vascular endothelial Growth Factor
VES	Ventrikuläre Extrasystole
WU	Wood Unit

# 1 Einleitung

## 1.1 Systemische Sklerose

### 1.1.1 Pathogenese

Die Systemische Sklerose (SSc) ist eine Autoimmunerkrankung, die eine abnorme Aktivierung des Immunsystems mit Bildung von Autoantikörpern, einer Veränderung der Fibroblastenfunktion und einer Schädigung der kleinen Blutgefäße beinhaltet [1-3]. Diese Veränderungen führen zu einer exzessiven Ansammlung von Kollagen und anderen extrazellulären Matrixproteinen, die sowohl Haut als auch die inneren Organe betreffen kann, insbesondere Blutgefäße, Lunge, Magen-Darm-Trakt, Herz und Niere [4-6]. Autoantikörper gegen Zellkernbestandteile, sogenannte Anti-Nukleäre Antikörper (ANA) sind hierbei in der Regel präsent, bevor Organerscheinungen auftreten [7].

Eine Entzündungsreaktion mit lymphozytärer Infiltration tritt in der Anfangsphase der Erkrankung in Lunge und Haut auf - diese Erscheinung ähnelt der nach einer allogenen Stammzell-Transplantation auftretenden Graft-versus-Host-Disease (GvHD) [7, 8]. Diese frühen entzündlichen Infiltrate sezernieren Interleukine wie Platelet Derived Growth Factor (PDGF) und Transforming Growth Factor  $\beta$  (TGF $\beta$ ) und sind an der Aktivierung von Fibroblasten und der Umwandlung zu Myofibroblasten beteiligt [9]. Mutmaßlich schreitet der fibrotische Prozess eigenständig und unabhängig vom immunologischen Geschehen fort, sobald er einmal in Gang gesetzt wurde und nicht durch Immunsuppressiva behandelt wird [7, 10]. Einige Publikationen sprechen daher von einem „window of opportunity“, also einem Zeitraum, in dem Patienten vor der Entwicklung einer irreversiblen Fibrose behandelt werden können [11].

Die Vaskulopathie betrifft alle Zellschichten der Gefäßwände; kennzeichnend ist hier eine fibrotische Intimahyperplasie und daraus folgend mangelnde Elastizität und Enge [8]. Dem voraus geht eine endotheliale Dysfunktion [8]. Zusätzlich sind Kompensationsmechanismen wie Angiogenese und Vaskulogenese reduziert durch die verminderte Expression von Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) und Epidermal Growth Factor Like Protein 7 (EGFL7) [11].

### **1.1.2 Krankheitsformen**

Die Erkrankung tritt in unterschiedlichen Schweregraden und Ausprägungen auf, insbesondere die Ausprägung des Hautbefalls variiert weit [12]. Man unterscheidet limitiert kutane Formen (lcSSc) von diffus kutanen Formen (dcSSc) und Sclerosis sine Scleroderma. Ca. 10–20 % der SSc-Patienten werden mit einem Overlapsyndrom diagnostiziert, d.h. sie haben zwei Kollagenosen gleichzeitig [13]; ein Overlapsyndrom kann mit allen drei SSc-Subspezifitäten auftreten, ist jedoch bei lcSSc am häufigsten [14].

LcSSc imponiert mit einem Hautbefall distal von Ellbogen und Knie, in Gesicht und Nacken unter Aussparung des Rumpfes [4, 15, 16]. Das Raynaudphänomen kann lange das einzige Symptom bleiben [17], der Befall innerer Organe tritt bei lcSSc häufig erst nach Jahren oder sogar Jahrzehnten auf [18, 19]. Obwohl lcSSc als „mildere“ Form der SSc gilt, gibt es auch in dieser Gruppe Patienten, die eine Lungenfibrose oder Primäre Pulmonale Hypertension entwickeln [7].

Die diffuse Form (dcSSc) beinhaltet zusätzlich Hautbefall am Rumpf [18]. Patienten, die unter der diffus kutanen Form leiden, haben häufiger Antikörper gegen Topoisomerase-I (Scl70-Antikörper) oder RNA-Polymerase-III, erleiden häufiger und früher schwerwiegende Organschäden an Lunge, Herz und Nieren und erleben ein schnelleres Fortschreiten der Erkrankung mit höherem Mortalitätsrisiko als Patienten mit lcSSc [18-20].

Patienten mit Sclerosis sine scleroderma (ca. 5 % der Patienten) haben das Raynaudphänomen und typische Autoantikörper oder Nagelfalzmikroskopie, jedoch keine Hautverdickung. Sie können SSc-typische Organ- und Gefäßmanifestationen entwickeln [14].

### **1.1.3 Epidemiologie**

Unterschiedliche Schätzungen gehen von einer Inzidenz von 0,6–122/1.000000 erwachsene Einwohner/Jahr und Prävalenzen von 7–700/1.000000 erwachsene Einwohner aus, abhängig vom Land, in dem die Studien durchgeführt wurden und den verwendeten diagnostischen Kriterien [21-23]. Zusätzlich scheint die Inzidenz in den USA und Australien signifikant zu steigen [23].

In den USA und Australien wurden ähnlich hohe Prävalenz- und Inzidenzraten nachgewiesen, während in Japan und Europa die Prävalenzen deutlich geringer sind und zusätzlich ein Süd-Nord-Gefälle aufweisen [22, 24]. Es bestehen geographische Cluster (z.B. Choctaw- Indianer, bestimmte Dörfer in der Nähe von Rom, Flughafennähe in London) [23].

Die SSc kann in allen Lebensphasen auftreten, jedoch am häufigsten im 5. Lebensjahrzent; es besteht eine große Streuung mit Fällen sowohl im Kindes- als auch Seniorenalter [20, 23, 25]. Männer sind seltener betroffen als Frauen (ca. 3:1–14:1), haben aber häufiger dcSSc (ca. 4:1) und andere negative prognostische Faktoren wie Scl70- Antikörper [17, 21, 23].

#### **1.1.4 Autoantikörper**

Bei über 95 % der SSc-Patienten können Antikörper nachgewiesen werden [26], diese sind zum Teil mit spezifischen Krankheitsausprägungen verbunden. Anti-Nukleäre Antikörper (ANA) kommen in 40–90 % der SSc-Patienten vor, je nach untersuchter Studienpopulation [27].

Patienten mit lcSSc haben in 50–70 % der Fälle Anti-Centromer-Antikörper (ACA, Antikörper gegen Centromerprotein A (CENP-A), B (CENP-B) oder C (CENP-C) [19, 21, 26]). Patienten mit ACA leiden häufiger unter Calcinosis und Teleangiektasien; der Antikörper tritt häufiger bei älteren Patienten und bei Frauen auf [18, 28]. Patienten mit ACA haben zudem häufiger eine pulmonal-arterielle Hypertonie (PAH) ohne Fibrose [21].

Anti-DNA-Topoisomerase 1-Antikörper (Scl70-Antikörper) treten bei 28 % aller SSc-Patienten auf, bei dcSSc in bis zu 70 % [27]. Sie sind häufiger bei Patienten mit dcSSc mit interstitieller Lungenerkrankungen (ILD) und digitalen Ulzerationen im frühen Krankheitsverlauf [17], zudem besteht häufiger ein PAH mit Fibrose [21]. Tritt der Scl70-Antikörper bei Patienten mit dcSSc auf, sind häufiger schwerere Gelenkbeschwerden und Lungeneinschränkungen sowie höhere Skin Scores im Vergleich zu Patienten mit lcSSc ohne Scl70-AK zu erwarten [18].

Weitere Antikörper sind RNA-Polymerase I,II oder III-Antikörper (häufiger dcSSc mit schwerer systemischer Betroffenheit, meist Herz und Niere, renalen Krisen und schlechtem Fünf-Jahres-Überleben [26]), höhere Assoziation zu gastralen vaskuläre Ektasien (GAVE) und Tumoren [11, 17, 29] und Scl75/-100-AK (häufiger digitale Ulcera, stärkere Beteiligung von Haut und Lunge, sowie Einschränkungen des muskuloskelettalen Systems [30]), U3-Ribonucleoprotein-Antikörper (anti-U3-RNP, Fibrillarin-Antikörper; häufig dunkelhäutige Patienten mit dcSSc und Dünndarmbeteiligung[26]) und PM-Scl-Antikörper (häufig bei Polymyositis-SSc-Overlap-Syndromen [26]).

Die Assoziation der Antikörper zu verschiedenen Krankheitsausprägungen scheint hierbei in den verschiedenen ethnischen Gruppen weitgehend gleich zu sein, obwohl die Häufigkeiten der SSc und Antikörper in verschiedenen Bevölkerungsgruppen auseinandergehen [19, 26]. So haben Afroamerikaner häufiger Scl70-Antikörper und seltener ACA als Kaukasier [26].

#### **1.1.5 Symptome und betroffene Organsysteme**

Die verschiedenen Organsysteme können in unterschiedlicher Ausprägung betroffen sein und entsprechend variabel sind die auftretenden Symptome.

##### **Haut und Bewegungsapparat**

Bis zu Jahre vor der eigentlichen Hautverdickung treten Raynaudattacken auf, die insbesondere durch Kälte getriggert werden und ein Tricolorephänomen aufweisen. Hierbei verfärben sich die Finger zunächst weißlich-ischämisch und nachfolgend hypoxisch bläulich aufgrund einer Minderdurchblutung durch Gefäßspasmen; eine hyperäme, rote Reperfusion-Phase folgt [15]. In der Nagelfalzmikroskopie lassen sich bereits in diesem frühen Stadium Veränderungen als Zeichen der Vaskulopathie feststellen [31]. Als Vorläufer der Hautinduration tritt häufig ein Ödem der Finger auf, sogenannte Puffy fingers. Narbengrübchen, stecknadelkopfgroße konkave Einsenkungen mit Hyperkeratose, finden sich sowohl an den Fingerspitzen und Seiten der Phalangen [32].

Abhängig von der Art der SSc kann sich die Haut am gesamten Körper verdicken, bei der lcSSc akral betont, bei der dcSSc unter Einschluss des Rumpfes. Hierdurch können Kontrakturen und schmerzhaftes Bewegungseinschränkungen entstehen. Im weiteren Verlauf wird die Haut atroph.

Der modifizierte Rodnan-Skin Score (mRSS) beschreibt die Hautverdickung, bewertet mit 0–3 Punkten (0=keine Verdickung, 1=leichte Verdickung, 2=mittlere Verdickung, 3=starke Verdickung der Haut) an 17 verschiedenen Körperarealen (Finger, Hand, Unterarm, Oberarm, Oberschenkel, Unterschenkel, Füße jeweils beide Seiten separat, Gesicht, Brust und Abdomen jeweils einfach) mit einem Punktmaximum von 51; die jeweils höchste in einem Bereich vergebene Punktzahl zählt für den Bereich [33]. Der mRSS gilt als Surrogatmarker für Krankheitsaktivität und Risikoprädiktor für einen schwerwiegenden Verlauf mit Komplikationen innerer Organe [33-36]. Insbesondere ein mRSS über 20 wird mit erhöhten Sterblichkeitsraten verbunden, das Sterberisiko steigt deutlich mit einer Zunahme um 10 Punkte [34].

Weitere typische Hauterscheinungen sind eine Mikrostomie mit Tabaksbeutelmund und verkleinerter Mundöffnung, Ulcera an den Fingern (sogenannte Rattenbissnekrosen) sowie eine krallenartige Verformung der Hände und Verdünnung der Phalangen (Madonnenhände), weiterhin sichtbare Kapillargefäßerweiterungen an der Hautoberfläche (Teleangiectasien), an Gesicht, Zunge, Lippen oder Hand. Arthritiden haben etwa 20–30 % der SSc-Patienten [37].

## **Lunge**

Respiratorische Einschränkungen durch SSc beinhalten sowohl eine restriktive als auch eine obstruktive Komponente. Radiologisch lässt sich eine Lungenfibrose mit teilweise aktiver Entzündung, eine Alveolitis mit einem sog. Milchglasphänomen, abgrenzen.

Eine interstitielle Lungenerkrankung (ILD) entsteht bei etwa 50 % der Patienten und bei 15 % der Patienten mit SSc-ILD ist eine rapide Verschlechterung zu erwarten [38]. Risikofaktoren für Entstehung und Verschlechterung sind eine

dcSSc, afroamerikanische Herkunft, höheres Lebensalter bei Erkrankungsbeginn, kürzere Erkrankungsdauer, Vorhandensein von Scl70-Antikörper und das Fehlen von ACA; radiologisch ist eine unspezifische interstitielle Lungenentzündung am häufigsten [39]. In Lungenfunktionstest zeigen sich bei SSc-ILD eine Restriktion mit reduzierter forcierter Vitalkapazität (FVC) und reduzierter Diffusionskapazität der Lunge für Kohlenmonoxid (DLCO). Je nach Fibroseausmaß wird zwischen limitiertem (< 10 %) und extensivem Befall (30 %) unterschieden, bei Werten dazwischen entscheidet die FVC (< 70 % des vorhergesagten Wertes → extensiver Befall) [39]

### **Pulmonale Hypertonie (PH)**

Eine PH gehört zu der bedrohlichsten und am stärksten einschränkenden Entwicklung [40]. Pulmonale Hypertension ist definiert als ein mittlerer pulmonalarterieller Druck (mPAP) von 25 mmHg gemessen im Rechtsherzkatheter (RHK). Grenzwertige Messwerte zwischen 21 und 24 mmHg sind bei Patienten mit SSc mit einem erhöhten Risiko verknüpft, eine manifeste PH zu entwickeln. Eine pulmonalarterielle Hypertonie (PAH) wird beschrieben durch eine präkapilläre PH mit einem endexpiratorischem Wedgedruck (pAWP) von 15 mmHg und einem pulmonalen Gefäßwiderstand von > 3 Wood Einheiten (WU, mmHg/l·min) [41]. Bei der SSc kommen sowohl PH aufgrund der interstitiellen Lungenerkrankung (ILD) (Gruppe 3 der klinischen Klassifikation des PH), sowie präkapilläre und isolierte pulmonalarterielle Hypertonie (PAH, Gruppe 1) und postkapilläre PH (Gruppe 2) vor [40]. Die Entstehung einer PH unter ILD ist multifaktoriell und kann fibrotische Destruktion der pulmonalen Gefäße, Remodelling aufgrund chronischer Hypoxie und diffuse pulmonale Vaskulopathie beinhalten [42]. Eine PAH kann zu jedem Zeitpunkt auftreten [37]

Das Überleben unterscheidet sich unter den Patienten mit PAH und ILD-assoziiertes PH (gepooltes Drei-Jahres-Überleben 56 % vs. 35 %). Die prognostischen Faktoren unterscheiden sich ebenfalls - bei Patienten mit ILD-assoziiertes PH sind lediglich DLCO und Perikarderguss prognostisch mit signifikant erhöhter Hazard Ratio (HR), bei Patienten mit PAH sind Alter bei PAH-Diagnose, männliches Geschlecht, pulmonaler Gefäßwiderstand (PVR),

Herzindex (Quotient aus Herzminutenvolumen und Körperoberfläche, l/min/m<sup>2</sup>), rechtsatrialer Druck, mPAP, gemischtvenöser Sauerstoffsättigung (SvO<sub>2</sub>), DLCO, Perikarderguss, Sechs-Minuten-Gehtest und New York Heart Association (NYHA)-Status prognostisch signifikant [40].

### **Mundhöhle und Magen-Darm-Trakt**

Bis zu 90 % der Patienten haben einen Befall des Magen-Darm-Traktes, aber die Hälfte berichtet keine Symptome [29]. Etwa 8 % der Patienten entwickeln einen schwerwiegenden Befall [43]. Im gesamten Magen-Darm-Trakt sind Motilitätsstörungen, Pseudoobstruktionen und Strikturen möglich [44]. Bereits die Mundhöhle kann krankheitsspezifische Veränderungen erfahren, so zum Beispiel fehlende Speichelproduktion und eine verminderte Mundöffnung, die zu verschlechterter Mundhygiene und Problemen beim Kauen führen können [29]. Klinisch imponieren Zeichen einer Dysphagie, Obstipation und Diarrhoen, Gewichtsverlust und zum Teil Unterernährung bei Malabsorption bei starkem Befall [43]. Neben Magenzulzera sind gastrisch-antrale vaskuläre Ektasien (GAVE) mit entsprechender Blutungsneigung typisch. Auch der Dünndarm kann Veränderungen aufweisen: chronische intestinale Pseudoobstruktion, Weithalsdivertikel, bakterielle Überwucherung und Fehlbesiedelung des Dünndarms mit dadurch nötiger Antibiose, Vaskuläre Ektasien und Pneumatosis cystoides intestinales (luftgefüllte Zysten in der Darmwand) [45].

In ca. 2,5 % der Fälle tritt eine Primäre biliäre Zirrhose (PBC) als zusätzliche Autoimmunerkrankung auf [46]. Auch exokrine Pankreasinsuffizienzen kommen vor, der Enddarm kann durch einen Rektalprolaps oder auch Inkontinenz betroffen sein [29].

### **Herz**

Bei kardialen Befall entwickelt sich eine im Myokard und subendokardial nachweisbare Fibrose, die zu einer Kardiomyopathie mit verminderter Ejektionsfraktion der Ventrikel und diastolischer Dysfunktion führen kann [37, 43]. Ebenso sind Überleitungsstörungen mit nodalen und ventrikulären Arrhythmien möglich [36, 44]. Ventrikuläre Tachykardien können die Implantation eines implantierbaren Kardioverter-Defibrillator (ICD) notwendig machen;

insbesondere bei hohen Raten von ventrikulären Extrasystolen (VES) im Langzeit-EKG und erhöhten Troponinwerten [37]. Weitere Krankheitszeichen sind Perikarditis und Myokarditis [44]. Ein Perikarderguss kann sowohl aufgrund der Entzündungsaktivität als auch aufgrund der veränderten Druckverhältnisse auftreten [37].

## **Niere**

Akute renale Krisen, die normotensiv als auch hypertensiv ablaufen können, waren bis vor Einführung der ACE-Hemmer führende Todesursache. Insbesondere kamen sie bei Patienten unter hohen Glukokortikoiddosen vor [37]. Die prophylaktische Gabe von ACE-Hemmern, aber auch die Therapie eines arteriellen Hypertonus bei SSc-Patienten mit ACE-Hemmern ist jedoch ein unabhängiger Risikofaktor zur Entwicklung einer renalen Krise, sodass die Gabe nur zur Therapie der renalen Krise erfolgt [47]. Erhöhte Kreatininwerte und Proteinurie können unabhängig von einer renalen Krise auftreten [44, 45].

### **1.1.6 Klassifikationskriterien**

Für die Diagnose von Patienten mit SSc werden die American College of Rheumatology (ACR)/European League Against Rheumatism (EULAR)-Guidelines von 2015 genutzt. Die Kriterien erfassen SSc-Patienten mit einer Sensitivität von 91 % und einer Spezifität von 92 % in der Validationskohorte. Auch frühe Formen und Sclerosis sine Scleroderma werden durch die Kriterien erfasst.

Eine SSc gilt als erwiesen, wenn ein Score von neun Punkten erreicht wird und keine andere Erkrankung die Erscheinungen besser erklärt; Patienten ohne Hautverdickung der Finger werden ebenfalls nicht als SSc klassifiziert [12]. Maximal können 24 Punkte erreicht werden. Zu den Kriterien zählt das Vorhandensein SSc-typische Autoantikörper (ACA, Scl70, Anti-RNA-Polymerase III) (3 Punkte), Raynaud-Phänomen (3 Punkte), pulmonaler Hypertonus und/oder ILD (2 Punkte), auffällige Nagelbettpapillaren (2 Punkte), Teleangiektasien (2 Punkte), Läsionen der Fingerspitzen, dabei Narbengrübchen 3 Punkte oder Ulzerationen der Fingerspitzen 2 Punkte, wobei jeweils nur die

höchsten Punktzahlen zählen, sowie Hauterscheinungen, dabei Hautverdickung der Finger beider Hände über die Metacarpophalangealgelenke hinaus (9 Punkte), Hautverdickung der Finger mit Puffy Fingers (2 Punkte) oder Hautverdickung der ganzen Finger distal der MCP-Gelenke (4 Punkte); hierbei wieder der höchste Score [\[12\]](#).

### **1.1.7 Pathophysiologie**

Bisher wurden keine spezifischen Auslöser erkannt, was für eine allgemeine Exposition spricht, die bei Menschen mit genetischer Determination SSc auslöst [\[48\]](#). Über eine Störung der Stammzellen wird diskutiert: Eine erhöhte Häufung hämatopoetischer Stammzellen mit Mikrochimerismen wurde bei SSc-Patienten beobachtet [\[7\]](#). Übereinstimmend ist das relative Risiko für Geschwister und erstgradige Verwandte von SSc-Patienten erhöht, das absolute Risiko ist jedoch mit ca. 1 % weiter gering [\[23\]](#). Obwohl bei Zwillingen häufig die Autoantikörperproduktion bei beiden Geschwistern ausgeprägt ist, ist die Konkordanz der klinischen Ausprägung nicht sonderlich hoch, sodass die Umweltfaktoren eine bedeutende Rolle zu spielen scheinen [\[21\]](#).

Mittlerweile wurden durch die Analyse des kompletten Genoms von SSc-Erkrankten Nukleotidpolymorphismen (SNPs) identifiziert, die mit der Anfälligkeit für SSc verknüpft sind [\[2, 17\]](#). Die ersten beschriebenen Loci gehörten zu HLA (Humanes Leukozyten Antigen)-Antigenen [\[17\]](#). Zu den weiteren auffälligen Loci gehören auch Proteine, unter anderem Transforming Growth Factor  $\beta$  (TGF $\beta$ ), Makrophagen-Chemoattraktorprotein 1 (MCP1), IL-1alpha, Tumornekrosefaktor (TNF), Allograft inflammatory factor 1 (AIF1) und Angiotensin Converting Enzyme (ACE), also Stoffe, die unter anderem für Immunregulation und Inflammation beeinflussen oder auch in Transkription, Kinaseaktivität und DNA-Reparatur [\[2, 17\]](#).

Als Umweltfaktoren werden Silicaexposition und Lösungsmittel diskutiert; während ersteres mit einer Odds Ratio (OR) von 3,93–5,57 als erwiesen gilt und in Deutschland und anderen europäischen Ländern zu einer Aufnahme in die gesetzliche Unfallversicherung geführt hat, ist die Studienlage zu Lösungsmitteln inkonsistent. Mehrere Fallkontrollstudien kommen zu unterschiedlichen

Ergebnissen für die verschiedenen Lösungsmittel, viele zeigen jedoch einen Zusammenhang [23]; eine hohe kumulative Exposition gegenüber Lösungsmitteln (u.a. Trichlorethylen, aromatische Lösungsmittel, Ketone) wird als ursächlich gewertet [17]. Auch wurde eine höhere mediane Belastung von SSc-Patienten mit Schwermetallen berichtet [17].

Für die häufigere Betroffenheit von Frauen wird der sich im Lebensverlauf stark ändernde Östrogenspiegel als Ursache diskutiert [10]. Andere Theorien gehen von einem Mikrochimerismus durch bilaterale fetal-maternale Zelltransfers aus, die in entsprechend empfänglichen Menschen SSc auslösen können; SSc wäre folglich eine Art GvHD [25]. Der fetale Mikrochimerismus ist noch lange nach der Schwangerschaft persistent und zum Teil in Zellen vorhanden, die sich in immunkompetente Zellen weiterentwickeln können oder in immunkompetenten Zellen selbst [25]. Denkbar wäre auch eine Schwangerschaft mit einer HLA-Inkompatibilität des Kindes zur Mutter. Zudem ist bei Frauen mit SSc sowohl in Haut als auch Blut signifikant mehr männliche DNA vorhanden, wenn sie Söhne geboren haben als bei gesunden Frauen [25].

Folgt man dieser Theorie, wären Männer und kinderlose Frauen nicht betroffen – da dies aber nicht der Fall ist, sind andere Quellen für chimäre Zellen denkbar, beispielsweise ein Zwillingsgeschwister, unbestrahlte Blutprodukte oder das Bestehenbleiben von maternalen Zellen im kindlichen Organismus [25].

In US-amerikanischen Studien wurde eine höhere Prävalenz sowie höhere altersspezifische Inzidenz bei afroamerikanischen Frauen im Vergleich zu Frauen europäischer Herkunft beobachtet; häufig begann die Krankheit früher, trat öfter in Form einer dcSSc auf und nahm einen schwereren Krankheitsverlauf als bei kaukasischen Frauen. Letztlich führte die SSc im Vergleich zu betroffenen Weißen auch zu einem verminderten Überleben [22, 23, 49]. Der Unterschied zwischen Afroamerikanern und Kaukasiern besteht nicht bei männlichen Betroffenen [23]. Bei Franzosen nicht-europäischer Herkunft wurde ebenfalls eine höhere Prävalenz und eine häufigere dcSSc beschrieben [23].

### 1.1.8 Verlauf, Überleben und Mortalität

In aller Regel tritt das Raynaud-Phänomen als erstes auf [50]. Eine Auswertung der European Scleroderma Trials and Research Group (EUSTAR) von Patienten, bei denen das Raynaudsyndrom innerhalb eines Jahres aufgetreten war und die die American College of Rheumatology (ACR)-Klassifikation von 1980 (ein Hauptkriterium [proximale Hautverdickung] oder zwei Nebenkriterien [Sklerodaktylie, Narbengrübchen, Substanzverlust am distalen Fingerglied, pulmonale Fibrose] müssen für die Diagnose SSc erfüllt sein [51]) erfüllten, zeigte, dass im Median nach 0,9 Jahren die ersten zusätzlichen Symptome außer Raynaud auftraten und 90 % der Patienten nach zwölf Jahren zusätzliche Symptome außer Raynaudattacken hatten. Die Hälfte aller Organmanifestationen trat in den zwei Jahren nach erstmaliger Raynaudattacke auf, 75 % der Organmanifestationen innerhalb der ersten fünf Jahre. Insgesamt sehen die Autoren Organmanifestationen als simultanes Geschehen und nicht als sequenzielles Voranschreiten. Ein höheres Lebensalter war mit einer häufigeren Entwicklung von schweren Organmanifestationen verknüpft, z.B. mit PH, Herzbeteiligung, gastrointestinalen Symptomen [50].

Ungeachtet der unterschiedlichen Krankheitsausprägungen führt die SSc zu einer deutlich eingeschränkten Lebensqualität und einer verminderten Lebenserwartung. Man geht von einem Lebenszeitverlust von 16 Jahren für Männer und 34,1 Jahre für Frauen aus [52]. Als aggravierender Faktor gilt Nikotinabusus, bei Rauchern mit restriktiver Lungenerkrankungen durch die SSc entstehen häufiger schwere obstruktive Veränderungen und die DLCO ist deutlich niedriger als bei Nichtrauchern [53], das Überleben ist reduziert und die Patienten haben stärkere vaskuläre, gastrointestinale, dermale und pulmonale Beeinträchtigungen [17].

Innerhalb der letzten Jahre haben sich die primär SSc-assoziierten Todesursachen gewandelt, die Sterblichkeit ist insgesamt gesunken. Lange Zeit war der häufigste Grund die Renale Krise, seit Einführung der Angiotensin Converting Enzyme (ACE)-Hemmer zur Behandlung der renale Krise sind ILD

und PH die führenden Ursachen [35, 52]. In einer Metaanalyse von Rubio- Rivas sind 73 % der SSc-bedingten Tode kardiopulmonal bedingt [54].

Elhai et. al. [55] beschrieben 2012 in einer systematischen Review und Metaanalyse von Kohortenstudien ein insgesamt erhöhtes Sterberisiko mit einem gepoolten Standardisiertem Mortalitätsverhältnis (SMR) von 3,53 über alle berücksichtigten Studien der letzten 40 Jahre, aufgeteilt für den Zeitraum vor 1980 von 2,87, von 1980 bis 1990 4,3 und ab 1990 3,02; etwas geringer fällt der SMR in der Metaanalyse von Rubio-Rivas et al. 2012 mit einem SMR von 2,42 nach 1990 aus [54]. Ein beobachteter Trend zur Verringerung der SMR erreichte keine Signifikanz, die Autoren sehen hier aufgrund der Abnahme der Sterblichkeit in der Allgemeinbevölkerung bei konstanter SMR ein Absinken der Sterblichkeit auch in der Studiengruppe [55]. Eine EUSTAR-Auswertung beschreibt ebenfalls insgesamt eine Reduktion der altersstandardisierten Sterberate von 1,03 pro 10<sup>5</sup> Personen in 2000 auf 0,6 pro 10<sup>5</sup> Personen in 2011 [56].

Das Risiko einer malignen Erkrankung scheint innerhalb des ersten Jahres nach SSc-Diagnose erhöht, was auf ein paraneoplastisches Phänomen oder eine Beobachtungsbias aufgrund genauerer Untersuchung vor und nach der erstmaligen SSc-Diagnose hinweisen kann [57]. Von Brustkrebserkrankungen ist bekannt, dass ein Auftreten von sklerodermieformen Hautveränderungen nach der Krebsdiagnose möglich ist [58], vom zeitlichen Ablauf die Aufnahme in SSc-Register häufig nach der Krebsdiagnose erfolgt [59]. Gelegentlich wurde bei einem Rezidiv des Mammakarzinoms eine weitere Hautverdickung bemerkt [60], auch eine Besserung der Hautverdickung unter Therapie anderer Karzinome wurde beschrieben [61]. Insbesondere Patienten mit RNA-Polymerase III-Antikörpern scheinen im Vergleich zu RNA-Polymerase III-negativen Patienten ein erhöhtes Krebsrisiko zu haben, eine Mutation im POLR3A-Gen scheint mit induzierter Immunantwort auch eine Autoimmunreaktion auszulösen [62].

### **1.1.9 Psychische Erkrankungen und Lebensqualität**

Insbesondere bei rasch progredienten Formen besteht eine große Beeinträchtigung der Lebensqualität. Abhängig von Dauer und Ausprägung der Erkrankung können Lebensstil, Funktionalität des Patienten im Alltag und das

emotionale Wohlbefinden des Betroffenen stark eingeschränkt sein. Obwohl dies wichtige Faktoren sind, werden sie bei traditionellen Outcome-Messungen in Studien kaum berücksichtigt und können auch mit klinischen oder Laborparametern nicht erhoben werden [63].

Daher sind verschiedene Assessments entstanden, die die Lebensqualität und Alltagsfunktionalität erheben und so die Nützlichkeit therapeutischer Interventionen auf „weiche“ Kriterien messbar machen. Der Scleroderma Health Assessment Questionnaire (SHAQ) ist beispielsweise ein vom Patienten selbst auszufüllender Fragebogen vornehmlich zur Mobilität und Funktion der oberen Extremität. Er korreliert mit dem Krankheitsbild und Veränderungen; zudem ist er ein Mortalitätsprädiktor und korreliert besser mit der Mortalität als Lungenfunktion, mRSS, BSG, Herz- und Lungenbeteiligung und Scl70-AK [63, 64].

Eine hohe Rate an depressiven Erkrankungen ist bei SSc-Patienten beschrieben worden – ca. 50 % der Patienten haben eine leichte Depression, bis zu 17 % haben moderate bis schwerwiegende Depressionen [63]. Die Depressionen scheinen umso schwerwiegender zu sein, je jünger die Patienten bei Diagnosestellung waren und wenn sie unter digitalen Ulcera litten [63]. In einer Studie zur Sexualfunktion bei Frauen mit SSc und Systemischen Lupus Erythematoses (SLE) zeigten 53 % der Patientinnen mit SSc depressive Symptome. Diese korrelierten zudem mit auffälligen Werten im Female Sexual Function Index (FSFI; Fragen zu Erregung, Befriedigung, Lubrikation, Orgasmus und Schmerzen bei vaginaler Penetration) und Qualisex (Fragen zu Gesundheit, Erkrankung, Medikation, Schmerzen und Partnerschaft), zwei Fragebögen, die die sexuelle Funktion der Patientinnen erfassen und in besagter Studie bei 49 % eine eingeschränkte Sexualfunktion dokumentierten [65].

## **1.2 Therapie**

Die Behandlung von Menschen mit SSc stützt sich derzeit auf Empfehlung der EULAR von 2016 [66]. Bereits in der Einführung der EULAR-Empfehlung betonten die Autoren, dass das Management der SSc nicht nur die pharmakologische Behandlung der Erkrankung beinhaltet, sondern auch „die frühe

Krankheitsdiagnose, die frühe Diagnose von Beteiligung innerer Organe, die Identifizierung von Patienten mit dem Risiko, neue Organkomplikationen und Verschlechterung der Erkrankung zu erleiden genauso wie nicht-pharmakologische Behandlungen“ [66]. Insofern nicht anders angegeben, fasst folgende Darstellung die EULAR-Empfehlungen von 2016 zusammen.

Die Behandlung erfolgt überwiegend an die einzelnen Organdysfunktionen angepasst. So werden orale Calciumantagonisten vom Dihydropyridintyp als Firstline-Therapie und Phosphodiesterase5 (PDE5)-Inhibitoren bei unzureichendem Ansprechen oder schweren Attacken zur Reduktion von Frequenz und Schwere von Raynaudattacken genutzt, bei schweren Attacken und unzureichender Wirkung der oralen Medikation können intravenöse Prostanoiden verabreicht werden. In einer kleineren Studie scheint Fluoxetin die Attackenschwere und -frequenz zu vermindern, zumal die Therapieadhärenz wegen geringerer Nebenwirkungen höher war als bei Nifedipin [67].

Digitale Ulzerationen werden mittels Prostanoiden behandelt, worunter Verbesserung als auch Heilung der Ulzerationen möglich sind, die besten Ergebnisse werden unter intravenösem Iloprost gesehen. Endothelinrezeptorantagonisten (ERA) sind als einzige Wirkstoffklasse zugelassen zur Prophylaxe neuer digitaler Ulzerationen. Auch PDE5-Inhibitoren verbessern die Heilung und scheinen die Entwicklung von weiteren Ulzerationen zu reduzieren. So konnte für Sildenafil 20 mg 3x/d p.o. in einer randomisierten Studie gegenüber Placebo eine signifikant höhere Heilungsrate nachgewiesen werden, insbesondere in Kombination mit Bosentan [68].

Die PH wird mittels PDE-5-Inhibitoren (Sildenafil, Tadalafil), ERA (Bosentan, Ambrisentan, Macitentan) und/oder Riociguat behandelt; dies führt zu erhöhter Belastbarkeit und verlängert die Zeit bis zu einer klinischen Verschlechterung von Patienten mit PH. Prostacyclinanaloga (Iloprost, Trepostinil) werden ebenfalls bei SSc-PH angewendet. Bei schwerer, therapieresistenter SSc-assoziiierter PH (Klasse III und IV) kann die kontinuierliche intravenöse Gabe von Epoprostenol die Belastbarkeit und hämodynamischen Werte verbessern, zudem wurde ein längeres Überleben bei idiopathischer PH beschrieben. Eine Kombination der

verschiedenen Wirkstoffe soll bei schwerer oder progredienter PH erwogen werden.

Als antifibrotische Therapie bei SSc-ILD kommt Nintedanib (Ofev®), ein Multikinaseinhibitor, zum Einsatz. Das ursprünglich für idiopathische Lungenfibrosen zugelassene Medikament zeigte sowohl in vitro als auch in vivo einen antifibrotischen Effekt und konnte in einer weltweiten, randomisierten, placebokontrollierten, doppelblinden Phase III-Studie (SENSCIS) über 52 Wochen ein um 44 %, entsprechend 41 ml, geringeren FVC-Verlust als in der Vergleichsgruppe gezeigt werden; bei Patienten, die MMF erhielten, wurde ein additiver Effekt beobachtet. Auf Haut und andere SSc-spezifische Veränderungen hat Nintedanib keinen Einfluss [69, 70].

Renale Krisen waren insbesondere in der Zeit vor der Anwendung von ACE-Inhibitoren eine wichtige Mortalitätsursache, die Sterblichkeitsrate seit der Einführung ist deutlich reduziert. Diese werden hochdosiert bei Entwicklung einer SSc-bedingten renalen Krise begonnen und als Dauermedikation fortgeführt, solange die Möglichkeit zur Verbesserung der Nierenfunktion besteht. Glukokortikoide werden mit einem höheren Risiko für eine renale Krise bei SSc-Patienten assoziiert [17], sodass unter Glukokortikoiden regelmäßige Kontrollen von Blutdruck und Nierenfunktion notwendig sind.

Zur Behandlung von gastroösophagealem Reflux und der Prävention von ösophagealen Ulzerationen und Strikturen wird trotz fehlender RCT Protonenpumpeninhibitoren (PPI) empfohlen. Prokinetika können bei Motilitätsstörungen wie Dysphagie und Pseudoobstruktion angewendet werden.

Bei symptomatischer bakterieller Fehlbesiedelung des Dünndarms kommen intermittierend Antibiotika zur Anwendung. Bezüglich der Medikation bei gastrointestinalen Symptomen sind derzeit keine RCT vorhanden, lediglich unkontrollierte und nichtrandomisierte Studien zu einzelnen Themenkomplexen.

Bei früher diffuser SSc kann unter Methotrexat eine Verbesserung des mRSS erzielt werden. Eine ILD verbessert sich unter Cyclophosphamid (CYC) mit gering erhöhter Rate an Nebenwirkungen gegenüber Placebo, wie durch die

Scleroderma Lung Study I (SLSI) doppelverblindet, placebokontrolliert und randomisiert 2006 gezeigt werden konnte [71].

CYC ist ein Zytostatikum, das in der Therapie verschiedener rheumatologischer oder onkologischer Erkrankungen eingesetzt wird und myelo- und immunsuppressiv wirkt. Es gehört zur Gruppe der alkylierenden Substanzen und führt über die Interaktion mit der DNA zu Strangbrüchen und cross-linking; hierüber wirkt es zytotoxisch und myelosuppressiv. Insbesondere die Knochenmarkstoxizität ist abhängig von der verabreichten Summendosis. CYC zerstört zwar Lymphozyten und hämatopoetische Progenitorzellen, lässt aber die multipotenten Stammzellen intakt [72]. Unter CYC wurden kleine, jedoch signifikante Verbesserungen von FVC und TLC beobachtet, zudem Verbesserungen von Dyspnoe, HAQ-DI und Funktionsfähigkeit im Alltag [71]. Nach der zwölfmonatigen Therapie mit CYC p.o. verbesserten sich für weitere sechs Monate FVC, TLC und Health Assessment Questionnaire Disability Index (HAQ-DI), jedoch waren nach 24 Monaten die Werte zwischen Placebo- und CYC-Gruppe ohne statistisch signifikante Differenz, wobei Dyspnoe (gemessen via TDI (Transition Dyspnea Index)) gleichbleibend war [73].

In der Scleroderma Lung Study II (SLSII) wurde die orale Applikation von Mycophenolatmofetil (MMF) 1500 mg zweimal täglich über zwei Jahre im Vergleich zu CYC über ein Jahr, beginnend gewichtsabhängig mit 50–150 mg auftitriert bis 1,8–2,3 mg/kg KG und nachfolgend 1 Jahr Placebo verglichen. Die FVC verbesserte sich in ähnlichem Ausmaß in beiden Gruppen mit einem Maximum nach 18–21 Monaten und einer geringen Verschlechterung in den Monaten 21–24. Insgesamt war MMF besser toleriert und führte zu weniger Nebenwirkungen aufgrund der myelosuppressiven Wirkung [74]. Ein Vergleich der Placebogruppe der SLSI mit der MMF-Gruppe der SLSII zeigte eine Verbesserung von FVC, DLCO %, TDI und mRSS [75]; der Vergleich der zwei unterschiedlichen Studien war aufgrund nahezu gleicher Inklusionskriterien möglich.

Eine Fallkontrollstudie der EULAR zeigte, dass Rituximab zu einem signifikanten Rückgang des mRSS sowohl bei dcSSc, schwerer dcSSc als auch lcSSc in den

behandelten Gruppen als auch im Vergleich zu gematchten Patienten aus der EULAR- Datenbank führte.

Rituximab ist ein monoklonaler Antikörper und bindet an das Transmembranantigen CD20, das auf B-Lymphozyten und ihren Vorläufern zu finden ist. Durch die Bindung des Antikörpers wird eine B-Zell-Lyse oder Apoptose ausgelöst – die Zahl der B-Lymphozyten sinkt [76]. Bei Patienten mit reduzierter FVC (< 70 % des vorhergesagten Wertes) oder radiologisch nachgewiesener ILD stabilisierte sich die FVC und war im Vergleich zu gematchten Patienten beim Follow-Up sowohl prozentual als auch absolut signifikant besser; die Besserung der DLCO im Vergleich zur Baseline war signifikant, im Vergleich zu den gematchten Patienten jedoch nicht [77]. Rituximab ist nicht zur Behandlung der SSc zugelassen.

Bei schnell progredienter SSc mit dem Risiko von Organversagen ist eine autologe Stammzelltransplantation (aSCT) einer CYC-Therapie in Bezug auf das ereignisfreie Überleben überlegen, eine Verbesserung von mRSS und Stabilisierung der Lungenfunktion konnte in drei RCT gezeigt werden [78-80]. Aufgrund der potenziellen Nebenwirkungen des Therapieregimes für autologe Transplantationen empfiehlt die EULAR die Durchführung nur in ausgewählten Zentren mit entsprechender Erfahrung.

### **1.3 Autologe Stammzelltransplantation**

#### **1.3.1 Ablauf einer ASCT**

Nach Indikationsstellung zur aSCT und Vorbereitung der Intervention (Voruntersuchungen auf relevante Erkrankungen, z.B. kardiale Beteiligung) erhält der Patient eine Mobilisationstherapie mit myelosuppressiven Therapeutika.

In dieser Untersuchung wird lediglich die Mobilisation mit CYC betrachtet, die Dosis kann variieren. Hierdurch wird iatrogen die frei zirkulierende Menge an Progenitor- und Stammzellen erhöht [81].

Zu einem festgelegten Zeitpunkt nach der ersten CYC-Gabe erhalten die Patienten Granulozytenkolonie-stimulierenden Faktor (GCSF), entweder

Filgrastim oder Lenograstim mit einer Dosierung von 5 bzw. 10 µg/kg KG, um die Mobilisierung von pluripotenten Stammzellen in das periphere Blut zu fördern. Das GCSF kann der Patient zu Hause selbst subkutan applizieren.

Lenograstim (Granocyte®, rHuG-CSF) ist ein humanes GCSF, das rekombinant in Ovarzellen des chinesischen Hamsters produziert wird. Es wird im Rahmen von Stammzell- und Knochenmarktransplantationen, der Behandlung mit zytotoxischen Chemotherapieschemata und zur Mobilisierung von Blutstammzellen ins periphere Blut verwendet; die Dosierung erfolgt abhängig von der Körperoberfläche (KOF in m<sup>2</sup>) oder anhand des Körpergewichtes [82].

Filgrastim (Neupogen®) ist ein rekombinant aus E. coli hergestelltes humanes GCSF, die Anwendung erfolgt bei Patienten im Rahmen einer konventionellen zytotoxischen Chemotherapie, bei myeloablativer Behandlung mit folgender Knochenmarktransplantation, zur Mobilisierung peripherer Blutstammzellen bei gesunden Spendern sowie bei geplanter autologer Stammzelltransplantation und pädiatrischer und erwachsener Patienten mit schwerer chronischer Neutropenie sowie Neutropenie unter HIV-Infektion. Die Dosierung wird anhand von Körpergewicht in kg und Verwendungszweck errechnet [83].

Ab Tag 9 oder 10 erfolgt die Wiederaufnahme. Es erfolgen wiederholte Messungen der Leukozytenzahlen, zusätzlich kann die Zahl der Zielzellen in einer Durchflusszytometrie bestimmt werden. Ist die Zahl der zirkulierenden Stammzellen ausreichend, wird die Leukapherese gestartet.

Der Patient wird an einen Zellseparator angeschlossen, hierfür sind zwei großlumige Zugänge für Entnahme und Rückgabe des Blutes ähnlich wie bei der Dialyse notwendig. Im Zellseparator selbst wird das Vollblut antikoaguliert und mittels Zentrifuge in verschiedene Schichten geteilt, aus der Fraktion der weißen Blutzellen werden die Stammzellen entnommen, der Rest wird dem Patienten wieder zugeführt. Auf diese Art wird während der Behandlung das Blutvolumen des Patienten über einen Zeitraum von drei bis fünf Stunden mehrfach behandelt. Die Prozedur kann an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen wiederholt, die Zellen 72 Stunden bei Kühlschranktemperatur gelagert werden.

### 1.3.2 Risiken der Stammzelltransplantation

Die Mobilisation mittels GCSF kann zu Knochen- und Kopfschmerzen und grippeartigen Symptomen führen [84].

Risiken einer autologen Transplantation sind die myelosuppressive und zytotoxische Wirkung der zur Mobilisation und Transplantation verwendeten Medikamente.

Jeder Patient durchläuft nach Induktion der Transplantation eine aplastische Phase mit dem Risiko von Blutungen und Infektionen. Eine Anämie wird bei 14,8 % der mittels aSCT behandelten MM-Patienten berichtet, eine Neutropenie bei ca. 12,5 % der Patienten [85]. Blutungen treten bei autologen Stammzelltransplantationen bei verschiedenen onkologischen Erkrankungen in ca. 18,5 % der Fälle auf und sind mit reduziertem Überleben verbunden [86]. Blutungsorte können gastrointestinal, diffus pulmonal, intrakraniell oder in der Blase bestehen [86]. Die Gefahr einer Infektion ist am größten, wenn die Anzahl der neutrophilen Leukozyten länger als eine Woche unter 100/µl liegt [87]; die Dauer der Neutropenie und die Inzidenz infektiöser Komplikationen unterliegen einer direkten Korrelation [88]. Febrile Episoden treten häufig auf (ca. 35 %); Sepsis, Hautinfektionen und Pneumonien gehören zu den häufigeren Risiken, während Infektionen mit gram-negativen Bakterien durch den präventiven Einsatz von Fluorchinolonen seltener geworden sind [87]. Virale Infektionen betragen ca. 17 %, häufig RSV, Parainfluenza und Rhinoviren [85]. Invasive Pilzinfektionen liegen bei ca. 2,3–5 % [85, 88].

Eine Schädigung der Gonadenfunktion mit Eintreten einer frühzeitigen Menopause und Azoospermie durch die applizierten Chemotherapeutika ist häufig [87].

Über den kompletten Zeitraum von Induktion bis Posttransplantation berichten Patienten Müdigkeit, Übelkeit, Schlafstörungen Diarrhoen und Appetitverlust [89]. Klinisch relevante Symptome von Angst und Depression treten bei ca. 40 % der Patienten auf [90]. Eine Mukositis mit der Gefahr einer Infektion, Geschmacksverlust und Übelkeit kann auftreten, ebenso Diarrhoen [91, 92].

Sowohl bei autologen als auch allogenen Stammzelltransplantationen können Rückfälle auftreten [93]. Zudem muss mit einer Erhöhung der Kreatininwerte um ca. 10 % des Ausgangswertes gerechnet werden [7].

Durch die angewendeten Chemotherapeutika ist eine Erhöhung der Rate solider Tumore als späte Reaktion zu erwarten [87, 94]; durch alkylierende Substanzen ausgelöste akute myeloische Leukämie (AML) ist in den ersten 5–10 Jahren nach einer autologen Transplantation am häufigsten [87].

Sowohl die Häufigkeit von viralen Infekten als auch Immunrekonstruktion ist nach CD34<sup>+</sup>-Selektion bei Patienten mit Autoimmunerkrankungen im Vergleich zu hämatologischen Patienten verzögert, sodass man von auch Veränderungen im Immunsystem ausgeht [95].

### **1.3.3 Treatment Related Mortality**

Unter Treatment Related Mortality (TRM) versteht man Todesfälle, die im Rahmen der Mobilisation, Transplantation oder Rekonvaleszenzzeit auftreten, und nicht der Krankheitsprogression oder einer anderen Erkrankung oder einem Unfall zugeschrieben werden können. Je nach Studie werden Todesfälle in einem gewissen Zeitrahmen nach der Transplantation (in der Regel 100 Tage ab Stammzellrückgabe) als TRM gewertet.

Die behandlungsbedingte Mortalitätsrate von autologen Transplantationen bei SSc betrug zwischen 0% (ASSIST [78])–3% (SCOT[79])–6,25% (Non-Interventional Study in Scleroderma (NISSC1 [96])–10,1% (ASTIS [97]). Im Vergleich hierzu beträgt die TRM bei autologen Stammzelltransplantationen bei Patienten unterschiedlicher Tumorentitäten 1,2 % [98], bei Patienten mit multiplem Myelom werden Mortalitätsraten von 0,3–2,8 % angegeben, abhängig von der Klassifizierung als High-Risk oder Low-Risk [99, 100].

Als patientenabhängige Risikofaktoren für behandlungsbegründeter Mortalität und Toxizität wurden Alter, Ausmaß des Organbefalls und Komorbiditäten identifiziert [101]; regimeabhängig waren die Dosierung der myelosuppressiven Medikation bei Vorerkrankungen und TBI ohne Lungenabschirmung [102, 103].

### 1.3.4 Rationale der Stammzelltransplantation bei SSc

Lange Zeit wurden autologe und allogene Stammzelltransplantationen nur zur Behandlung maligner, hämatologischer Erkrankungen sowie genetischer Bluterkrankungen wie Thalassämien, Sichelzellerkrankheit oder nichtmaligner hämatopoetischer Erkrankungen wie Aplastischen Anämien genutzt. Hierbei beobachtete man, dass auch zusätzlich vorhandene Autoimmunerkrankungen in Langzeitremission gingen [10]. Diese zufälligen Beobachtungen bei allogenen Stammzelltransplantationen umfassten Patienten mit Morbus Crohn, Psoriasis, Rheumatoide Arthritis (RA), Insulinabhängiger Diabetes Mellitus Typ I (IDDM), Systemischer Lupus Erythematoses (SLE), Multiple Sklerose (MS), Psoriasisarthritis, Schilddrüsenerkrankungen, atopisches Ekzem und Myasthenia gravis, aber keinen Patienten mit SSc [104]. Umgekehrt wurde nach allogenen Stammzelltransplantationen bei zuvor nicht an einer Autoimmunerkrankung erkrankten Personen Neuerkrankungen beobachtet, darunter IDDM, Zöliakie, Thyreoiditis, Immunthrombozytopenie (ITTP) und Myasthenia Gravis, jedoch nicht für SLE und RA [105]. Dies geschah zum Teil trotz CD34<sup>+</sup>-Selektion [106]. Auch wurde teilweise eine Autoantikörperbildung (Anti-TSH, Anti-Thyreoglobulin, Anti-C1q) ohne Ausbildung der zu erwartenden Autoimmunerkrankung beobachtet [104, 105].

In der Folge wurden zunächst nur einzelne Fallserien für verschiedene Autoimmunerkrankungen publiziert und es existieren dadurch verschiedenste Protokolle zum Konditionierungsregime, so wurden ATG, Cyclophosphamid, BEAM (BCNU, Etoposid, Cytarabin, Melphalan), Busulfan und andere Medikamente in verschiedenen Kombinationen und zum Teil in Kombination mit Ganzkörperbestrahlung genutzt [7, 104].

1996 wurde die EBMT ADWP Working Group gegründet, die mit den jeweiligen die verschiedenen Autoimmunerkrankungen behandelnden Fachdisziplinen zusammenarbeitet, im Fall der SSc die EULAR/EUSTAR [107]. Im selben Jahr wurde ein Konsensuspapier von EULAR und EBMT verabschiedet. Es definierte Autoimmunerkrankungen als gestörte Immunantwort gegen eigene Antigene; dies sei eine polyklonale Reaktion und beinhalte B- und T-Zellkomponente.

Erstmals wurden Empfehlungen zu Altersgrenze, Krankheiten und Hinweise zu den Behandlungsregimen gegeben sowie eine Planung von Phase I und II-Studien mit standardisierten Protokollen zur Vergleichbarkeit der Ergebnisse empfohlen [108]. Die Indikation zur Stammzelltransplantation bestünde nur bei Autoimmunerkrankungen mit erhöhtem Sterberisiko oder erhöhtem Risiko für eine bleibende Behinderung und dem Nichtansprechen auf konservative Therapien. Die Stammzelltransplantation sollte vor irreversiblen Organschäden durchgeführt werden [109]. Es wurde die Sammlung der Daten aller transplantierten Patienten in einem Register geplant [108].

Die ersten Guidelines für Stammzelltransplantationen bei Autoimmunerkrankungen wurden 1997 entwickelt und seither von der EBMT ADWP regelmäßig überprüft und überarbeitet. Im Jahr 2012 legt die EBMT in den Guidelines das Vorgehen und die möglichen Patientengruppen fest. Patienten mit SSc sollen nun für eine aSCT erwogen werden, wenn sie unter einer dcSSc mit weniger als fünf Jahren Krankheitsdauer, einem mRSS mit mehr als 15 und einer Organbeteiligung mit Manifestation oder Verschlechterung in den letzten sechs Monaten leiden [107]. Die ersten Beobachtungsstudien der EBMT zeigten, dass autologe Stammzelltransplantationen zu andauernden Remissionen abhängig von der Art der Autoimmunerkrankung führen können [109].

Ziel der Stammzelltransplantation ist es, autoaggressive Immunzellen durch nicht-autoaggressive Zellen zu ersetzen und so das Immunsystem zu „reseten“ [10, 93, 101, 110-112]. Verschiedene Theorien schlagen ein vermindertes autoimmunogenes Potenzial durch Regeneration eines nicht autoimmun reagierenden Immunsystems und Wiederherstellung der Selbsttoleranz, einen Graft-versus-Autoimmunity-Effekt oder eine Kombination von beidem als Grund für die Remissionen der Autoimmunerkrankungen vor [10, 48, 93, 104, 105, 113]. Befürworter der aSCT als therapeutische Option bei Autoimmunerkrankungen sehen die Rekonstitution als Schnelldurchlauf der Ontogenese, bei dem nach intensiver Immunoablation die Eigentoleranz über Rückziehung der T-Zellen aus den reinfundierten Stammzellen im Thymus erreicht wird [93], kritischere Stimmen sehen dies nur für einige B-Zell-Unterarten so, während die T-

Zellregeneration oftmals sehr lange dauert und an die Thymusfunktion gebunden ist und in der Zwischenzeit Klone von CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>-Zellen expandieren [111].

Die hämatopoetischen Stammzellen können sich weiterdifferenzieren in B-Lymphozyten, T-Lymphozyten, Makrophagen und dendritische Zellen und so ein neues Immunsystem etablieren [110]. Die hämatologische Rekonstitution erfolgt in der Regel nach zehn (Neutrophile)–zwölf (Thrombozyten) Tagen, die immunologische dauert wesentlich länger [104, 114, 115]. Sowohl bei hämatologischen Patienten als auch Patienten, die ihre Transplantation aufgrund von Autoimmunerkrankungen erhielten, sind die CD4<sup>+</sup>-T-Zellzahlen oftmals sehr lange stark erniedrigt – Alter, vorherige T-Zelldepletion und Bestrahlung scheinen Einflussfaktoren auf die Wiederherstellung der T-Zellen zu sein [94].

In einigen Studien blieben Autoantikörper (Scl70, ANA) nach der Transplantation bei der Mehrzahl der Patienten erhalten, obwohl sie eine signifikante Verbesserung ihres Zustandes erlebten [94, 116].

### **1.3.5 Transplantat-Engineering**

Die mittels Leukapherese gewonnenen Zellen können CD34<sup>+</sup>-selektioniert werden, um die Rückgabe von potenziell autoimmunreagiblen Lymphozyten zu vermeiden [48]. Die CD34<sup>+</sup>-Selektion wird insbesondere bei Leukaphereseprodukten genutzt, da diese 10mal mehr T-Zellen und 19–25mal mehr natürliche Killerzellen (NK-Zellen) enthalten als Knochenmarktransplantate [105]. T-Zelldepletion wird entsprechend bei allogenen Transplantationen genutzt, um Inzidenz und Schwere von Graft-versus-Host-Disease (GvHD) infolge der Transplantation zu verringern. T-Zelldepletion ist aber auch gleichbedeutend mit höherer Transplantatabstoßung, verzögerter immunologischer Rekonstitution und bei Leukämiepatienten einer erhöhten Rückfallwahrscheinlichkeit durch einen geringeren Graft-versus-Leukaemia-Effekt [94, 115]. Es wird empfohlen, die Menge an reinfundierten T-Zellen auf 10<sup>5</sup>/kg zu beschränken, wobei 10<sup>6</sup>/kg im autologen Transplantat realistischer erscheint [48, 108].

Da Autoimmunerkrankungen meist T-Zell vermittelt und B-Zell vermittelte Autoimmunerkrankungen häufig T-Zell abhängig sind und die meisten Patienten

sich zum Zeitpunkt der Transplantation nicht in Remission befinden, sollen so autoreaktive Lymphozyten entfernt werden – sowohl aktivierte Memory-T- und B-Zellen [94]. Dies kann sowohl im Transplantat vor der Rückgabe geschehen, zum Beispiel durch CD34<sup>+</sup>-Selektion oder immunologische T-Zelldepletion, als auch im Empfänger, beispielsweise durch die Gabe von ATG [94]. Durch massive T-Zelldepletion ist ein erhöhtes Risiko von Pilz- und Virusinfektionen sowie lymphoproliferativen Erkrankungen zu erwarten [94].

In den meisten Studien zur aSCT bei Autoimmunerkrankungen erfolgte eine CD34<sup>+</sup>-Selektion. Wissenschaftlich aufgearbeitet wurde die CD34<sup>+</sup>-Selektion bei Transplantationen für SSc-Patienten erstmals 2015 durch die Analyse der European Society for Blood and Marrow Transplantation Autoimmune Disease working party (EBMT ADWP). Hier zeigte sich in der retrospektiven Analyse von 138 Patienten kein statistisch signifikanter Vorteil bezüglich des Gesamtüberlebens, des progressionsfreien Überlebens und der 100-Tage-Mortalität; im Gegenteil wurde ein Trend ohne statistische Signifikanz zu geringeren Rückfallraten und längerem progressionsfreiem Überleben bei Verzicht auf eine CD34<sup>+</sup>-Selektion beobachtet. In dieser retrospektiven Analyse war der Befall des Herzens mit einer Minderung des Gesamtüberlebens, die gastrointestinale Beteiligung mit einem Krankheitsprogress nach aSCT verbunden [117].

Im Gegensatz dazu wurde in einer Post-Hoc-Analyse von 19 japanischen Patienten gezeigt, dass innerhalb von fünf Jahren Follow Up keine Differenzen zwischen der Rekonstitution von CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>-T Zellen und CD19<sup>+</sup>-B-Zellen und der Zellzahl unabhängig von der erfolgten CD34<sup>+</sup>-Selektion bei elf Patienten und den unselektionierten Zellen der anderen acht Patienten bestand [118]. Die Verbesserung des Skin Score war signifikant größer in der CD34<sup>+</sup>-selektionierten Gruppe und die FVC verbesserte sich über fünf Jahre, wohingegen die FVC in der nichtselektionierten Gruppe für sechs Monate verbessert war und nach 36 Monaten auf den Ausgangswert zurückfiel. Virale Infekte waren in beiden Gruppen gleich häufig, die adenovirusbedingte hämorrhagische Zystitis trat jedoch nur in der CD34<sup>+</sup>-Gruppe auf. In der Studie waren Patienten

eingeschlossen, die unter einer progressiven ILD litten, um eine weiterführende Lungenschädigung zu vermeiden, wurde auf TBI und Gabe von ATG verzichtet [118]. Limitiert ist die Aussagekraft der Studie durch die geringe Fallzahl, die monozentrische Datenerhebung sowie der retrospektiven Betrachtung, sodass die Autoren RCTs zur weiteren Evaluation empfehlen.

In der NISSC1-Studie wurde als Beobachtungsstudie die Anwendung der autologen Stammzelltransplantation im klinischen Alltag ausgewertet; hier zeigte sich die CD34<sup>+</sup>-Selektion als überlegen, der prozentuale Anteil an Komplikationen unterschied sich nicht signifikant zwischen erfolgter oder nicht erfolgter CD34<sup>+</sup>- Selektion. Die ADWP vermutet als Ursache der Differenz das homogenere Konditionierungsregime sowie die einheitliche Anwendung von Kaninchen- Antithymozytenglobulin (ATG), während in der vorhergehenden Auswertung sowohl Pferde- als auch Kaninchen-ATG angewendet wurden [96].

### **1.3.5 Autologe Stammzelltransplantation bei SSc**

Nach mehreren Fallberichten und kleineren Fallserien begannen drei größere Studien, zwei Phase II-Studien (ASSIST [78] und SCOT [79]) und eine Phase III-Studie (ASTIS [97]). ASSIST und ASTIS arbeiteten mittels nonmyeloablativer Chemotherapie, SCOT mit einer myeloablativen Ganzkörperbestrahlung (TBI).

Aktuell werden zur Bestimmung des optimalen Zeitpunkts einer autologen Stammzelltransplantation im Krankheitsverlauf Patienten für die UPSIDE (UPfront autologous hematopoietic Stem cell transplantation vs Immunosuppressive medication in early DiffuseE cutaneous systemic sclerosis)-Studie gesucht. Diese Studie untersucht, wie bei früher SSc eine Cyclophosphamidstoßtherapie mit 750g/m<sup>2</sup> über zwölf Monate gefolgt von MMF über zwölf Monate im Vergleich zu aSCT den Krankheitsverlauf beeinflusst [119].

### **1.3.6 ASSIST (American Scleroderma Stem Cell versus Immune Suppression Trial)**

Die randomisiert-kontrollierte open-label Phase II-Studie zwischen Januar 2006 und November 2009 verglich die nicht myeloablativ aSCT mit Cyclophosphamid i.v. 1 g/m<sup>2</sup> einmal monatlich für sechs Monate. Inkludiert wurden Patienten, die

jünger als 60 Jahre waren und unter dcSSc mit einem mRSS > 14 und Beteiligung der inneren Organe litten oder einen mRSS < 14 und Lungenbeteiligung aufwiesen. Unter Mobilisation mit Cyclophosphamid (2 g/m<sup>2</sup>) und Filgrastim 10 µg/kg ab Tag fünf erfolgte eine Apherese und eine Kryokonservation ohne CD34<sup>+</sup>-Selektion; ein Intervall von mindestens zwei Wochen lag zwischen Mobilisation und Konditionierung.

In beiden Studienarmen verstarb kein Patient (TRM 0 %). Nach aSCT verbesserten sich die Befunde von allen Patienten, jedoch trat ein Therapieversagen bei acht von neun Patienten der CYC-Kontrollgruppe auf. Bei den transplantierten Patienten verbesserten sich FVC und TLC, verminderte sich die betroffenen Lungenvolumina und mRSS. Radiologisch zeigten sich Anzeichen, dass krankheitsspezifische Lungenveränderungen zurückgingen. Die Verbesserung der Lungenfunktion zog sich über zwei Jahre nach der Transplantation.

ASSIST wurde aufgrund der deutlichen Gruppenunterschiede und damit fehlender Gleichheit zwischen den Behandlungen vorzeitig gestoppt [78].

### **1.3.7 ASTIS**

Die ASTIS-Studie (Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation International Scleroderma) als Phase III-Studie wurde 2001 unter der Führung der EULAR und der EBMT als internationale, multizentrische Phase III-Studie begonnen, um die Wirksamkeit und Sicherheit von monatlichen Cyclophosphamidstößen im Vergleich zu einer hochdosierten immunoablativen Therapie gefolgt von einer autologen Stammzelltransplantation prospektiv und randomisiert zu überprüfen [7]. Die Studie startete im März 2001, ab diesem Zeitpunkt wurden auch die Transplantationen in Tübingen nach dem Studienprotokoll vorgenommen, vorherige Transplantationen waren individuelle Heilversuche unter verschiedenen Regimes.

Die Patienten wurden in zwei Studienarme randomisiert. Im Interventionsarm wurde nach der Mobilisation mit jeweils 2 g/m<sup>2</sup> Cyclophosphamid an zwei aufeinanderfolgenden Tagen und gewichtsadaptierter GCSF-Injektionen (10

µg/kg KG/Tag) ab Tag fünf nach der letzten Cyclophosphamidgabe für mindestens fünf aufeinanderfolgende Tage. Die Leukapherese erfolgte, sobald die CD34<sup>+</sup>-Zahl im Blut 20x10<sup>3</sup>/ml überschritten, in der Regel an Tag fünf oder sechs.

Falls weniger als 2x10<sup>6</sup> CD34<sup>+</sup>-Zellen nach der Zellselektion vorhanden waren, wurde Filgrastim in derselben Dosierung fortgesetzt und ein bis zwei weitere Leukapheresen an Tag fünf und sechs durchgeführt. War dies erfolglos, erhielt der Patient 20 µg/kg KG Filgrastim. Nach der Konditionierung mit Cyclophosphamid 200 mg/kg erhielten die Patienten das CD34<sup>+</sup>-selektionierte Transplantat unter zurück. Im Kontrollarm erhielten die Patienten monatliche Cyclophosphamid- Stöße mit 750 mg/m<sup>2</sup> für zwölf Monate.

Der primäre Endpunkt war das Zwei-Jahres-Überleben ohne Endorganversagen oder Tod, sekundäre Endpunkte waren TRM, Toxizität, Änderungen des mRSS, der Funktion von Herz, Lunge und Niere, Veränderungen des HAQ-DI, des Körpergewichts, des SF-36- und EQ-5D- Score innerhalb von zwei Jahren nach der Randomisierung [97, 120]. Die TRM betraf acht Patienten in der aSCT-Gruppe (10,1 %) im Vergleich zu null Patienten in der Cyclophosphamidgruppe. Das ereignisfreie Überleben in der aSCT-Gruppe war nach einem Jahr 83,5 %, nach zwei Jahren 82,3 % und nach vier Jahren 81 % (Cyclophosphamidgruppe 89,6 %, 81,8 %, 74 %). Das Gesamtüberleben in der aSCT-Gruppe war nach einem Jahr 86,1 %, nach zwei Jahren 84,8 % und nach vier Jahren 83,1 % (Cyclophosphamidgruppe 90,9 %, 83,1 %, 74 %).

Die ASTIS-Studie zeigte ein verbessertes Langzeit-Überleben, obwohl in den ersten sechs Monaten mehr Patienten behandlungsbedingt verstarben. Sieben der acht Patienten, die behandlungsbedingt verstarben, waren Raucher oder Exraucher [97]. Der mRSS verbesserte sich signifikant, ebenso wie TLC und FVC, während sich die Kreatininclearance in der aSCT-Gruppe signifikant verschlechterte [97].

### **1.3.8 SCOT-Trial (Scleroderma: Cyclophosphamide or Transplantation)**

Während in Europa überwiegend mit chemotherapiebasierten, nicht-myeloablativen Regimen gearbeitet wird, wurde in den USA der SCOT (Scleroderma: Cyclophosphamide or Transplantation)-Trial durchgeführt. Hier erhielten die Patienten in einer randomisierten offenen Phase II-Studie entweder eine Cyclophosphamid-Stoßtherapie oder eine Konditionierung mit CYC/ATG und Myeloablation mittels Ganzkörperbestrahlung (Total Body Irradiation, TBI) und nachfolgender autologer, CD34<sup>+</sup>-selektionierter Transplantation. In der Transplantationsgruppe wurde eine Leukapherese nach Gabe von GCSF durchgeführt und das Leukapheresat nach CD34<sup>+</sup>-Selektion kryokonserviert. Nachfolgend erhielten die Patienten eine fraktionierte TBI mit 8000 cGY unter Nieren- und Lungenschutz (Organdosis 200 cGy), Cyclophosphamid 120 mg/kg KG und ATG (90 mg/kg KG). Der primäre Endpunkt war der Global Rank Composite Score (GRCS) bei 54 Monaten. Dieses statistische Instrument vergleicht alle Patienten über verschiedene Punkte (Tod, Eventfreies Überleben, FVC, HAQ-DI, mRSS) miteinander und vergibt Punkte für denjenigen, der das bessere Outcome hat; sind alle Punkte miteinander verglichen, werden die Punkte für den GRCS zusammengezählt. Auswahlkriterien waren erwachsene Patienten (18–69 Jahre) mit SSc seit  $\leq$  fünf Jahren mit renaler oder pulmonaler Beteiligung; Ausschlusskriterien waren GAVE, DLCO < 40 %, FVC < 50 %, Kreatinin < 40 ml/min, PAH oder vorhergehende Therapie mit Cyclophosphamid > sechs Monate.

Insgesamt zeigte die Transplantation ein besseres Outcome gegenüber der Cyclophosphamidtherapie. Neun Prozent der transplantierten Patienten benötigten eine erneute Immunsuppression nach 24 Monaten (im Vergleich zu 22 % der Patienten im ASTIS). Die TRM betrug 3 % nach 54 Monaten, das eventfreie Überleben betrug 79% in der Transplantationskohorte und 50% in der Cyclophosphamidgruppe. Nach 72 Monaten hatten 86 % der Transplantierten überlebt im Vergleich zu 51 % mit Cyclophosphamidstoßtherapie. Das eventfreie Überleben war 74 % im Vergleich zu 47 % in der Cyclophosphamidgruppe nach 72 Monaten. Schwere Nebenwirkungen traten etwas häufiger in der Transplantationsgruppe auf (51 % im Vergleich zu 74 %,  $p=0,08$ ), am häufigsten

in den ersten 26 Monaten. Die Infektionsraten waren nahezu gleich, lediglich Varizella-Zoster-Virus (VZV)-Infektionen traten deutlich häufiger in der Transplantationsgruppe auf. Der Benefit für die Patienten, die niemals geraucht hatten, war am größten [79]. Insgesamt werteten die Autoren die Stammzelltransplantation trotz der Möglichkeit schwerwiegender Nebenwirkungen als sinnvolle Option, betonen aber auch, dass insbesondere die Entwicklung einer Krebserkrankung durch die TBI möglich ist. Die niedrigeren Sterberaten im Vergleich zu ASTIS sahen die Autoren am ehesten aufgrund der fehlenden kardialen Beteiligung der Patienten im SCOT-Trial und dem Verzicht auf hohe Dosen Cyclophosphamid.

#### **1.4 Poor Mobilizer/Schlechte Mobilisierer (SM)**

Für eine hämatologische und immunologische Rekonstitution gelten  $2 \times 10^6$  CD34<sup>+</sup> Zellen/kg Körpergewicht als notwendig, um eine zügige Rekonstitution von Thrombozyten und Neutrophilen zu gewährleisten; höhere Transplantationsmengen von  $>5 \times 10^6$  CD34<sup>+</sup>-Zellen/kg Körpergewicht versprechen eine kürzere Aplasiezeit [121, 122]. Bender et al. schlugen 1992 500 Neutrophile/ $\mu$ l und 50.000 Thrombozyten/ $\mu$ l an drei konsekutiven Tagen als Definition für eine hämatologische Rekonstitution vor [121]. T-Zelldepletion ist definiert als Werte  $< 1 \times 10^5$ /kg Körpergewicht CD3-Lymphozyten [105, 108, 115].

Als Poor Mobilizer bezeichnet man entsprechend Patienten, die weniger als  $2 \times 10^6$  CD34<sup>+</sup>-Zellen/kg mobilisieren konnten.

Kurnaz und Kaynar [123] teilten 2015 die Gründe für eine schlechte Mobilisation bei hämatologisch erkrankten Patienten in drei Bereiche ein:

1. Therapiebedingtes Scheitern der Mobilisation, beispielsweise nach intensiver Radio- oder Chemotherapie und generell nach bestimmten Chemotherapeutika wie Purinanaloga und Alkylanzien;
2. Patientenbedingtes Scheitern der Mobilisation: abhängig von höherem Lebensalter, zeitgleich bestehendem Diabetes, Infektion zum Zeitpunkt der Mobilisation und bestimmte zu Grunde liegende hämatologische Erkrankung und genetische Voraussetzungen;

3. Knochenmarkbedingtes Scheitern der Mobilisation: Thrombozytopenie und Betroffenheit des Knochenmarks durch die Grunderkrankung sowie niedrige Zellularität des Knochenmarks [[81](#), [123-126](#)].

#### **1.4.1 Maßnahmen bei Poor Mobilizern**

Mobilisiert ein Patient die Stammzellen schlecht, können mehrere Verfahren zum Einsatz kommen.

Einerseits kann die GCSF-Dosis erhöht, andererseits der Einsatz von Plerixafor diskutiert werden [[81](#)]. Plerixafor ist ein CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4 (CXCR4)-Antagonist, der die Bindung und Chemotaxis zum Knochenmarkstroma reduziert und so die Ausschwemmung der Stammzellen in das periphere Blut fördert [[81](#)]. Durch Plerixafor konnte bei hämatoonkologischen Patienten eine deutliche Verbesserung der Zellmenge erreicht werden; bei Patienten mit NHL und Myelomen reichte eine einmalige s.c. Applikation für eine sechsfache Erhöhung der zirkulierenden CD34<sup>+</sup>-Zellen [[127](#)].

Eine Apherese nutzt normalerweise den Durchlauf des zwei- bis dreifachen Blutvolumens des Patienten pro Sitzung (Blutvolumen: Körpergewicht (kg) x 70 ml), bei schlechten Mobilisierern ist eine Steigerung auf das drei- bis sechsfache möglich, was zu einer Zunahme der Stammzellzahl im Leukapheresat führt. Eine Ausweitung auf mehr als vier Tage Stammzellapherese führt jedoch unabhängig von dem Apheresevolumen nicht zu einer erfolgreicherer Stammzellapherese [[128](#)].

Als letzte Möglichkeit steht die operative Entnahme von Knochenmark, was neben dem invasiven Eingriff auch ein langsames Engraftment und eine längere Zeitdauer bis zur Normalisierung des Blutbildes zur Folge hat [[81](#)].

#### **1.5 Ziel und Fragestellung der vorgelegten Arbeit**

Für autologe Stammzelltransplantationen bei Patienten mit SSc wurde bisher keine Untersuchung durchgeführt, die die Patientengruppe auf Eigenschaften prüft, die für ein schlechtes Mobilisationsergebnis prädisponieren. Sehr wohl ist aber bekannt, dass SSc-Patienten im Vergleich mit anderen autoimmun erkrankten Patienten weniger CD34<sup>+</sup>-Zellen in den vor der Leukapherese

gewonnenen Blutproben aufweisen [129], sodass die Identifikation solcher Faktoren vor schlechten Mobilisationsergebnissen warnen und frustrane Leukaphereseversuche vermeiden könnten. Für Patienten mit verschiedenen hämatoonkologischen Erkrankungen existieren entsprechende Analysen. Daher werteten wir die Daten der SSc-Patienten aus, die im Zeitraum von 1997 bis Mai 2012 in Tübingen eine Mobilisationstherapie und Leukapherese vor einer autologen Stammzelltransplantation erhielten.

Analog zu den vorbekannten Gründen untersucht diese Arbeit mögliche Ursachen einer schlechteren Stammzellmobilisierung. Ein spezieller Blick erfolgte auf Geschlecht, Gewicht und BMI zum Zeitpunkt der Mobilisation, Diagnose, Alter bei Erstdiagnose, Krankheitsdauer, Alter bei Mobilisation, bestimmte SSc-typische Antikörper, sowie der mRSS als mögliche negative Einflussflussgrößen. Zudem wurden Gründe für therapiebedingtes Scheitern betrachtet und hier besonders auf Vortherapien mit Cyclophosphamid (falls ja, Summendosis und Zyklenzahl), Rituximab oder anderen Antikörper, Therapie mit Immunsuppressiva, Steroide oder Vaskulopathietherapie geachtet.

In einem zweiten Schritt wird die Mobilisation selbst betrachtet. Zum einen wird untersucht, ob es einen Unterschied im Mobilisierungsverhalten durch das verwendete GCSF gibt, da auch hier in entsprechenden Studien in der Hämatoonkologie Unterschiede zwischen Lenograstim und Filgrastim berichtet werden. Zudem wurden unterschiedliche Dosierungen von Cyclophosphamid verwendet. Treten unter den niedrigeren Dosierungen von 1 g/m<sup>2</sup> und 1,5 g/m<sup>2</sup> häufiger schlechte Mobilisationsergebnisse als unter 2 g/m<sup>2</sup>? Kann dies bejaht werden, erfolgt die Subgruppenbetrachtung auf die obigen Eigenschaften.

Ziel der Arbeit ist die Erkennung von Eigenschaften, die eine schlechte Mobilisation vorhersagen können.

## **2 Material und Methodik**

### **2.1 Ziel der vorliegenden Arbeit**

Primäres Ziel der Arbeit ist die Untersuchung der Daten auf Hinweise, welche Patienten mit SSc ein Risiko für eine schlechte Mobilisation haben, angelehnt an die bereits bekannten Eigenschaften von schlecht mobilisierenden Patienten aus dem hämatoonkologischen Bereich. Sekundäres Ziel ist die Bewertung der verschiedenen Mobilisationsregime unter verschiedenen Cyclophosphamiddosen und GCSF- und Applikationsarten im Hinblick auf die Mobilisierungsergebnisse.

### **2.2 Design der vorliegenden Arbeit**

Für die vorliegende Arbeit wurden Daten von 32 Mobilisationstherapien bei Systemischer Sklerose (SSc) von 1997 bis Mai 2012 retrospektiv ausgewertet. Die Daten stammen aus den Protokollen der Eingangsuntersuchungen für die autologe Stammzelltransplantation, den Leukaphereseprotokollen und den Arztbriefen der rheumatologischen Ambulanz und der Stationen.

#### **2.2.1 Demographie und Patienteneigenschaften**

Die Patienten stammten aus dem gesamten Bundesgebiet und waren von verschiedenen Rheumatologen vorbehandelt worden.

Erhoben wurden Alter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose, Erstmanifestation und Mobilisation; Geschlecht, Gewicht, Größe, Auto-Antikörperstatus (ANA, Scl70, ACA), Befall von einzelnen Organsystemen (Haut, Lunge, Herz, Niere) und Alter zum Zeitpunkt der Mobilisation. Zudem wurden die Daten zu FVC und DLCO aus Lungenfunktionstests übernommen.

Als Kriterien für den Befall der Lungen galten radiologische Zeichen einer ILD oder Alveolitis kombiniert mit reduzierter DLCO und/oder FVC.

Das Herz galt als betroffen bei anhaltend erhöhtem Troponin, höhergradigen Herzrhythmusstörungen, funktionellen Einschränkungen der links- oder rechtsventrikulären Funktion (in MRT, Herzkatheter oder Echokardiographie)

unter Ausschluss anderer Ursachen oder dem histologischen Nachweis von SSC-typischen Veränderungen in Myokardbiopsien.

Die Nieren galten als betroffen, wenn eine dauerhafte Einschränkung der Nierenfunktion mit erhöhten Kreatininwerten vorlag.

### **2.2.2 Mobilisationsprotokoll und Ausnahmen vom Protokoll**

Das Transplantationsprotokoll sah zur Mobilisation der Stammzellen von 1999-2010 an zwei Tagen Cyclophosphamid von jeweils 2 g/m<sup>2</sup> vor (Tag eins und zwei). Ab Tag sieben wurde Filgrastim 5 µg/kg KG bis 2008 bzw. 2x5 µg/kg KG/Tag ab 2009 bis zum Abschluss der Leukapherese appliziert. Die Stammzellapherese begann an Tag zehn.

Ab 2010 wurde das Mobilisationsregime auf 1 g/m<sup>2</sup> Cyclophosphamid reduziert. Patienten mit florider Alveolitis erhielten 1,5 g/m<sup>2</sup> Cyclophosphamid. Zudem wurde ab 2010 Lenograstim 5 µg/kg KG ab Tag vier zur Mobilisation verwendet (N=8).

### **2.2.3 CD34<sup>+</sup>-Selektion**

Die CD34<sup>+</sup>-Selektion erfolgte mittels CliniMACS®-System der Firma Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG entsprechend dem Protokoll des gemeinsamen Stammzelllabors der Kinderklinik und Medizinischen Klinik II des Universitätsklinikums Tübingen. Die Ergebnisse wurden in einem standardisierten Datenblatt des Stammzelllabors eingetragen (siehe unter Datenerhebung).

### **2.3 Definition schlechte Mobilisierer (SM)**

Für eine hämatologische und immunologische Rekonstitution gelten  $\geq 2 \times 10^6$  CD34<sup>+</sup>-Zellen/kg Körpergewicht als notwendig, T-Zelldepletion ist definiert als Werte  $< 1 \times 10^5$ /kg Körpergewicht CD3-Lymphozyten [[105](#), [108](#), [115](#)].

Entsprechend gilt für diese Arbeit als schlechter Mobilisierer (SM), wer weniger als  $2 \times 10^6$  CD34<sup>+</sup>-Zellen/kg Körpergewicht mobilisiert und/oder mehr als zwei Leukapheresetage zur Mobilisation von  $> 2 \times 10^6$  CD34<sup>+</sup>-Zellen/kg Körpergewicht benötigt. Als normaler Mobilisierer (NM) gilt, wer mehr als  $2 \times 10^6$  CD34<sup>+</sup>-Zellen/kg Körpergewicht an höchstens zwei Leukapheresetagen mobilisieren konnte.

Ausgewertet wurden zudem Vortherapie und patientenbedingte Variablen, außerdem Änderungen der Mobilisationstherapie.

### **2.3.1 Therapiebedingte Variablen**

- a. Vortherapie mit Rituximab
- b. Cyclophosphamid-Summendosis unter Berechnung aus der angegebenen Anzahl an Cyclophosphamidstößen und der verwendeten Dosis
- c. Vortherapie mit verschiedenen Medikamentengruppen
  - i. Steroide
  - ii. Nicht immunsuppressive Antirheumatika (D-Penicillamin, Hydroxychloroquin/Chloroquin)
  - iii. Immunsuppressiva (Methotrexat, Azathioprin, Mycophenolatmofetil, Leflunomid)
  - iv. Zytostatika (5-Fluoruracil)
- d. Vortherapie mit anderen monoklonalen Antikörpern (Basiliximab)
- e. Verwendeter GCS-Faktor (Filgrastim vs. Lenograstim)
- f. Verwendung von Plerixafor

### **2.3.2 Patientenbedingte Variablen**

- a. Geschlecht
- b. Alter zum Beginn der Symptome
- c. Alter zum Zeitpunkt der Mobilisation
- d. Gewicht/BMI zum Zeitpunkt der Mobilisation
- e. Krankheitsform (limitiert kutane oder diffus kutane Verlaufsform)
- f. Ausprägung der Hautmanifestationen anhand des modifizierten Rodnan Skin-Score (mRSS) vor der Mobilisation
- g. Vorliegen von Antikörpern (ACA, Scl70, ANA)
- h. Befall von Herz, Lunge und Niere

### **2.3.3 Unterschiede in der Mobilisationstherapie**

Aufgrund der Änderung der Mobilisationsschemata erhielt ein Teil der Patienten  $2 \times 2 \text{ g/m}^2$  KOF Cyclophosphamid, der andere Teil  $2 \times 1,5 \text{ g/m}^2$  oder  $2 \times 1 \text{ g/m}^2$ . Auch

hier wurden die Ergebnisse der Mobilisation verglichen und auf Korrelation von schlechten Mobilisierungsergebnissen und Cyclophosphamidosis verglichen.

Von den Ergebnissen der Mobilisation wurden Anzahl der Leukapheresetage, die Gesamtzellzahl vor Selektion, die Gesamtzahl der CD34<sup>+</sup>-Zellen nach Selektion, Reinheit des Transplantats sowie Recovery (in %) erhoben.

Recovery ist ein prozentualer Wert, der beschreibt, wie viele Zielzellen aus dem ursprünglichen Leukapheresat im Präparat nach der erfolgten Durchflussszytometrie enthalten sind.

Reinheit gibt den Anteil der gewünschten Zellen im Präparat nach erfolgter Zytometrie in Prozent an (hier: CD34<sup>+</sup>-Zellen).

#### **2.4 Nebenwirkungen unter der Mobilisationstherapie**

Die Nebenwirkungen unter den verschiedenen Mobilisationsregimes wurden ausgewertet und verglichen.

#### **2.5 Datenerhebung, Vollständigkeit der Daten und Datenauswertung**

Die Datenerhebung erfolgte retrospektiv durch Sichtung der Arztbriefe und Labordaten im EDV-System der Universitätsklinik Tübingen, der Mobilisations- und Aufbewahrungsprotokolle der Stammzellpräparate.

Die Leukaphereseprotokolle der Universitätsklinik Tübingen sind standardisiert und enthalten neben den Stammdaten der Patienten sowie der transplantationsbedingenden Diagnose die einzelnen Leukapheresetage mit Ergebnissen (tabellarisch nach Tagen aufgeschlüsselt mit Volumen, zweimaliger Bestimmung der Thrombozyten ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ), zweimaliger Bestimmung der Leukozytenzahl ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ ), mittlere Leukozytenzahl ( $\times 10^7$  /ml), Leukozytenausbeute  $\times 10^9$ , gewichtsadaptierte Leukozyten  $\times 10^8$  und zweimaliger Bestimmung der CD34<sup>+</sup>- Zellen in Prozent sowie einer Negativkontrolle auf CD34<sup>+</sup>-Zellen). Eine weitere Tabelle enthält die Daten der CD34<sup>+</sup>-angereicherten Präparate aufgeschlüsselt nach den vorhandenen Stammzellbeuteln (Volumen in ml, Zellzahl/ml  $\times 10^6$ , Gesamtzellzahl  $\times 10^6$ , zweimalige Bestimmung der CD34<sup>+</sup>-Zellen in Prozent sowie die Negativkontrolle auf CD34<sup>+</sup>-Zellen. Zusätzlich werden

Daten zur CD34<sup>+</sup>-depletierten Fraktion mit Säulendaten zu Reinheit und Recovery und CD3-Fraktion angegeben, zudem Prozedurnummer und Chargenbezeichnung der verwendeten Materialien.

Aus den Leukaphereseprotokollen wurden Zahl der Leukapheresetage, Gesamtzellzahl vor Selektion, Gesamtzellzahl CD34<sup>+</sup> nach Selektion, Reinheit des Transplantats und Recovery übernommen.

### **Statistik**

Die Daten wurden in einer Datenbank (Microsoft Excel) gesammelt und dann mit Hilfe von JMP® (Version 14.2.0, SAS Institute Inc., 2018) nach statistischer Beratung durch das Institut für Biometrie Tübingen ausgewertet

Die Darstellung der Daten erfolgt überwiegend deskriptiv. Um mögliche Korrelationen zu erkennen, wurden Kreuztabellen mit Berechnung des Fisher's Exact Test sowie Box Plots zur optischen Identifizierung von Trennlinien zwischen verschiedenen Gruppen verwendet. Die Angaben erfolgen, soweit nicht anders angegeben, in Median und Range. Aufgrund der geringen Fallzahl wurde auf Multivarianzanalysen verzichtet und nur univariate Betrachtungen durchgeführt.

### **Ethik**

Die Zustimmung der Ethik-Kommission der Universitätsklinik Tübingen für die Durchführung der Auswertung mit der Projektnummer 348/2016BO2 liegt mit Anschreiben vom 23.06.2016 vor.

## **3 Ergebnisse**

### **3.1 Patienteneigenschaften**

#### **3.1.1 Demographie**

Insgesamt wurden die Daten von 32 Patienten erhoben. Hiervon waren 20 (62 %) Patienten weiblich und zwölf Patienten männlich (38 %). Die erstmalige Diagnosestellung erfolgte im Median mit 37,5 Jahren (Range 15–56 Jahre). Die Krankheitsdauer bis zur Mobilisation betrug im Median drei Jahre (Range 0–11 Jahre). Die Mobilisation erfolgte im Alter von 41,5 Jahren (Range 19–57 Jahre). Der BMI betrug im Median 21,7 kg/m<sup>2</sup> (14,7–33,3 kg/m<sup>2</sup>).

#### **3.1.2 Klassifikation der SSc und betroffene Organsysteme**

Von den Patienten waren 87,5 % (28 Patienten) an einer dcSSc erkrankt und 12,5 % (vier Patienten) an einer lcSSc.

Alle Patienten hatten einen Hautbefall, der mRSS betrug im Median 21 (Range 2–38).

Bei 94 % (N= 30) der Patienten war die Lunge betroffen. Die Vitalkapazität betrug im Median 70,5 % des erwarteten Wertes (31,2–105,9 %, N=25). Die DLCO SB betrug im Median 4,95 mmol/min/kPa (3,19–8,09 mmol/min/kPa, N=24), dies entspricht im Median 51,8 % (32,4–82,3 %, N=24). Die FEV1 betrug im Median 73,9 % (Range 31,7–106 %, N=25).

Bei 31 % (zehn Patienten) fand sich eine Herzbeteiligung. Von allen Patienten wurden 31,3 % mit einem Defibrillator (zehn Patienten) und ein Patient war mit einer LifeVest (3,1 %) ausgestattet.

Sechs Prozent (N=2) hatten einen Befall der Nieren.

#### **3.1.3 Antikörper**

Insgesamt 93,8 % (N=30) der Patienten waren positiv für Antikörper gegen Zellkernbestandteile (ANAs), 69 % (N= 22) der Patienten positiv für Scl70-Antikörper. Anti-Centromer Antikörper hatte kein Patient.

### **3.1.4 Begleiterkrankungen**

Drei Patienten (9 %) hatten eine Erkrankung der Niere (ein Patient mit kongenitaler Nierenagenesie, ein Patient mit chronischem Nierenversagen, ein Patient mit Zustand nach Nierensteinentfernung).

Drei Patienten (9 %) hatten in ihrer Vorgeschichte Lungenerkrankungen, die nicht aufgrund der SSc entstanden waren (zwei Patienten mit Asthma bronchiale, ein Patient hatte chronische Bronchitis, jeweils 3,1 %).

Vier Patienten (12,5 %) hatten vorbestehende Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Gefäßerkrankungen (zwei Patienten mit arterieller Hypertonie, ein Patient mit rezidivierenden Ulzera an Innen- und Außenknöchel, ein Patient mit Varikosis).

Acht Patienten (25 %) hatten eine Allergie (häufig Heuschnupfen, seltener Unverträglichkeitsreaktionen auf Medikamente).

### **3.1.5 Begleitende Haut- und Autoimmunerkrankungen**

Sechs Patienten (19 %) hatten weitere Autoimmunerkrankungen. Drei Patienten (9,3 %) hatten eine Autoimmunthyreoiditis. Ein Patient hatte sicher eine Sarkoidose, bei einem Patienten (3,1 %) bestand die Verdachtsdiagnose Sarkoidose. Zwei Patienten (6 %) hatten zusätzlich zu den SSc-bedingten Veränderungen weitere Hauterkrankungen (ein Patient mit Vitiligo, ein Patient mit Psoriasis vulgaris).

## **3.2 Vortherapien der gesamten Studienpopulation**

### **3.2.1 Immunsuppression**

30 Patienten hatten in der Medikationsvorgeschichte immunsuppressiv wirkende Medikamente (93,8 %). Sieben Patienten (22 %) hatten Methotrexat, 22 Patienten (69 %) Cyclophosphamid in ihrer Medikamentengeschichte erhalten. Durchschnittlich erhielten diese Patienten 4,5 Zyklen (Range 2–13) mit einer Summendosis von Median 5,9 g (Range 1,6–23 g).

Steroide erhielten 16 Patienten (50 %). 9,3 % (N= 3) der Patienten hatten Rituximab in der Vorgeschichte erhalten, ein Patient (3,1 %) hatte Basiliximab. Ein Patient hatte eine mesenchymale Stammzelltransplantation erhalten. Ein

weiterer Patient (3,1 %) hatte 5-Fluoruracil in der Vorgeschichte. Sieben Patienten (21,9 %) hatten MMF erhalten, vier Patienten Azathioprin (12,5 %). Vier Patienten hatten Ciclosporin A in der Vortherapie (12,5 %), ein Patient Sulfasalazin (3,1 %) und ein Patient  $\gamma$ -Interferon (3,1 %). Ein Patient (3,1 %) hatte Leflunomid erhalten, vier Patienten (12,5 %) Hydroxychloroquin.

### **3.2.2 Therapie der Vaskulopathie**

Sechzehn Patienten (50 %) erhielten Medikamente, die den Therapieempfehlungen der Vaskulopathie entsprechen. Endothelinrezeptorantagonisten erhielten 4 Patienten (13 %). PDE5-Hemmer erhielten zwei Patienten (6 %). Prostacyclinanaloga erhielten zwölf Patienten (38 %). Zwei Patienten (6,3 %) haben Pentoxifyllin erhalten.

### **3.3 Mobilisationsschemata**

Es wurden unterschiedliche Mobilisationsschemata verwendet.

#### **3.3.1 Cyclophosphamid**

Einundzwanzig Patienten (65,7 % der Patienten) erhielten  $2 \times 2 \text{ g/m}^2$  Cyclophosphamid. Sieben Patienten (21,9 %) erhielten  $2 \times 1 \text{ g/m}^2$  Cyclophosphamid, vier Patienten  $2 \times 1,5 \text{ g/m}^2$  Cyclophosphamid (12,5 %). Ein Patient (3 %) erhielt zunächst  $2 \times 1 \text{ g/m}^2$  Cyclophosphamid, hierunter war die Leukapherese frustan; eine erneute Mobilisation wurde mit Cyclophosphamid  $2 \times 1,5 \text{ g/m}^2$  und Plerixaphor erfolgreich durchgeführt. Der Patient wird in der Auswertung als SM in der Gruppe mit  $2 \times 1 \text{ g/m}^2$  betrachtet.

#### **3.3.2 GCSF- Dosierung**

Dreiundzwanzig der Patienten (79,1 %) erhielten Filgrastim, neun Patienten (28,1 %) erhielten Lenograstim.

Die Dosierung des GCSF erfolgte gewichtsadaptiert. Von der Filgrastimgruppe erhielten 17 Patienten  $5 \mu\text{g/kg KG}$  (74 %) und sechs Patienten  $10 \mu\text{g/kg}$  als Applikation von  $5 \mu\text{g/kg KG}$  zweimal täglich (26 %). In der Lenograstimgruppe erhielten alle Patienten  $5 \mu\text{g/kg KG}$ .

Bei einem Patienten der Filgrastimgruppe wurde aufgrund unzureichenden Anstiegs der Leukozyten die GCSF-Dosierung während der Mobilisation auf 10 µg/kg KG erhöht (3 %). Der Patient wird als SM betrachtet.

Eine Patientin der Lenograstimgruppe zeigte unter der Mobilisationstherapie mit 2x1 g/m<sup>2</sup> Cyclophosphamid und 5 µg/kg KG keinen adäquaten Abfall der Leukozyten, sodass die Mobilisation mit 2x1,5 g/m<sup>2</sup>, Plerixafor und erhöhter Dosierung von Lenograstim wiederholt wurde.

### **3.3.3 Ausnahmen vom Mobilisationsprotokoll**

Ein Patient erhielt aufgrund eines akuten Nierenversagens eine reduzierte Dosis mit 1x1,5 g/m<sup>2</sup> Cyclophosphamid statt der zu diesem Zeitpunkt regelhaft verwendeten 2x2 g/m<sup>2</sup> Cyclophosphamid.

### **3.4 Mobilisationsergebnisse**

Im Median mobilisierten die Patienten 8,36 x 10<sup>6</sup> Zellen während der Leukapherese (Range 3,04–16,56x10<sup>6</sup> Zellen). Die Leukapheresedauer betrug im Median zwei Tage (Range 1–4 Tage).

Nach Aufbereitung mittels der CliniMACS-Säule betrug die Reinheit des Leukapheresats im Median 94,39 % (Range 40,99–99,76 %). Die Recoveryrate betrug im Median 72,17 % (40,49–100 %).

### **3.5 Schlechte Mobilisierer (SM)**

Acht Patienten erfüllten die Kriterien eines SM (25 %). Bei sechs Patienten waren mehr als zwei Leukapheresetage nötig. Bei einem Patienten wurde die GCSF-Dosis während der Mobilisation erhöht, da kein ausreichender Anstieg der Leukozyten beobachtet wurde. Ein Patient erhielt nach frustraner Leukapherese eine erneute Mobilisation mit erhöhter Cyclophosphamiddosis und Plerixafor und mobilisierte hierunter ausreichend.

### **3.5.1 Eigenschaften der SM im Vergleich zu NM**

Vier Patienten (50 %) waren weiblich und vier Patienten männlich (NM: männlich 33,3 %, weiblich 66,7 %). Dies entspricht 33 % der männlichen Patienten und 20 % der weiblichen Patienten, die in dieser Auswertung betrachtet werden.

Der Altersmedian der SM zum Zeitpunkt der Erstmanifestation betrug 38 Jahre (21–41 Jahre, N=7; NM 36 Jahre, Range 15–57 Jahre), das Alter bei Erstdiagnose 37,5 Jahre (21–41 Jahre, N=8; NM 37 Jahre, Range 15–56 Jahre). Zum Zeitpunkt der Mobilisation lag der Altersmedian bei 40,5 Jahre (Range 26–42 Jahre). Die Krankheitsdauer zum Zeitpunkt der Mobilisation betrug zwei Jahre (Range 1–9 Jahre; NM: 3 (0–11 Jahre)).

Alle SM hatten eine dcSSc (NM: 4 Patienten lcSSc (16,7 %), 20 Patienten dcSSc (83,3 %)). Der mRSS betrug bei den SM im Median 22,5 (Range 9–34; NM: 21, Range 2–38). Ein Befall der Lungen war bei allen SM nachgewiesen (NM: 30 Patienten, 93,75 %), eine kardiale Beteiligung bei fünf Patienten (62,5 %; NM: 5 Patienten, 20,8 %). Die Nieren waren bei keinem SM betroffen (NM: 2 Patienten, 6,25 %).

Die SM wogen im Median 57 kg (Range 44–88 kg) im Vergleich zu 65,5 kg (50–102kg) bei den NM. Dies entsprach einem BMI von 18,65 kg/m<sup>2</sup> (14,7–22,9 kg/m<sup>2</sup>) bei den SM vs. 23,75 kg/m<sup>2</sup> bei den NM (Range 17,3–33,3 kg/m<sup>2</sup>).

Bezüglich der Antikörper waren fünf der SM positiv für Scl70-Antikörper (22,7 % der Scl70-positiven Patienten, 62,5 % der SM im Vergleich zu 70,8 % der NM). Sechs Patienten waren positiv für ANAs (75 % im Vergleich 100 % der NM). Damit waren prozentual deutlich mehr SM negativ für ANA als in der NM- Gruppe.

### **3.5.2 Vormedikation der schlechten Mobilisierer**

Von den SM hatte lediglich eine Person kein Cyclophosphamid erhalten. Die Cyclophosphamidsummendosis der SM betrug im Median 5,35 g (1,6–11,8 g), die Summendosis der Normal Mobilisierenden (NM) betrug im Median 7,2 g (3,2–23 g). Die Zyklenanzahl war für die SM im Median 3,5 (2–13), bei den NM 5,5 (2–12). Ein Patient der SM hatte Rituximab erhalten (NM: 2 Patienten, 8,3 %), ein Patient Basiliximab (jeweils 3 %, kein NM). 50 % der SM hatten Steroide erhalten

(4 Patienten), 37,5 % hatten MMF erhalten (3 Patienten). 12,5 % hatten Azathioprin in der Vormedikation (1 Patient; 3 Patienten der NM, 12,5 %), ebenso Leflunomid (1 Patient, kein Patient der NM). Methotrexat hatten 25 % der Patienten (2 Patienten) erhalten (5 Patienten der NM, 20,8%) sowie 7 Patienten Cyclophosphamid (87,5 %, NM: 15 Patienten, 62,5 %). Kein SM hatte Sulfasalazin erhalten (1 Patient der NM, 4,2 %).

Keiner der SM hatte ERA erhalten (NM: 4 Patienten, 16,7 %), 50 % der Patienten Prostaglandinanaloga (NM: 8, 33,3 %). Pentoxifyllin hatte ebenfalls kein Patient der SM erhalten (NM: 2 Patienten, 8,3 %). PDE5- Hemmer hatten 12,5 % der SM erhalten (1 Patient; NM: 1 Patient, 4,2 %).

### 3.5.3 Mobilisationstherapie der SM

50 % der Patienten erhielten 1 g/m<sup>2</sup>, 50 % der Patienten erhielten 2 g/m<sup>2</sup> (jeweils 4 Patienten) Cyclophosphamid (NM: 1 g/m<sup>2</sup>: 3 Patienten (12,5 %), 1,5 g/m<sup>2</sup>: 4 Patienten (16,7 %), 2 g/m<sup>2</sup>: 17 Patienten (70,8 %)). 50 % der Patienten hatten Filgrastim erhalten (4 Patienten; NM: 19 Patienten, 79,2 %), 50 % der Patienten Lenograstim (4 Patienten; NM: 5 Patienten, 20,8 %). Ein Patient der Lenograstimgruppe erhielt nach erfolgloser Mobilisation eine Therapie mit Lenograstim und Plerixafor.

	<b>Alle (% von Gesamt)</b>	<b>NM (% der NM)</b>	<b>SM (% der SM)</b>
Anzahl Patienten	32	24 (75 %)	8 (25 %)
Männlich	12 (38 %)	8 (33,3 %)	4 (50 %)
Weiblich	20 (62 %)	16 (66,7 %)	4 (50 %)
lcSSc	4 (12,5 %)	4 (16,7 %)	0 (0 %)
dcSSc	28 (87,5 %)	20 (83,3 %)	8 (100 %)
Gewicht	63 (44–102 kg)	65,5 kg (50–102 kg)	57 (44–88 kg)
BMI	21,7 (14,7–33,3 kg/m <sup>2</sup> )	23,75 kg/m <sup>2</sup> (17,3–33,3 kg/m <sup>2</sup> )	18,65 (14,7–22,9 kg/m <sup>2</sup> )

Alter Erstdiagnose	37,5 (15–56)	37 (15–56 Jahre)	37,5 (21–41 Jahre)
Alter Erstmanifestation	36 (15–57)	36 (15–57 Jahre)	38 (21–41 Jahre)
Alter Mobilisation	42 (22–57 Jahre)	42,5 (22–57 Jahre)	40,5 (26–42 Jahre)
Krankheitsdauer	3 (0–11)	3 (0–11 Jahre)	2 (1–9 Jahre)
mRSS	21 (2–38)	21 (2–38)	22,5 (9–34)
ANA +	30 (93,75 %)	24 (100 %)	6 (75 %)
ScI70	23 (71,88 %)	18 (75 %)	5 (62,5 %)
<b>Befallene Organsysteme</b>			
Haut	32	24 (100 %)	8 (100 %)
Lunge	30 (93,75 %)	22 (91,7 %)	8 (100 %)
Niere	2 (6,25 %)	2 (8,3 %)	0 (0 %)
Herz	10 (31,25 %)	5 (20,8 %)	5 (62,5 %)
<b>Vortherapien</b>			
ERA	4 (12,5 %)	4 (16,7 %)	0 (0 %)
PDE5-Hemmer	2 (6,25 %)	1 (4,2 %)	1 (12,5 %)
Prostaglandinanaloga	12 (37,5 %)	8 (33,3 %)	4 (50 %)
Pentoxifyllin	2 (6,25 %)	2 (8,3 %)	0
<b>Immunsuppressiva</b>			
Steroide	16 (50 %)	12 (50 %)	4 (50 %)
D-Penicillamin	2 (6,25 %)	2 (8,3 %)	0 (0 %)
Azathioprin	4 (12,5 %)	3 (12,5 %)	1 (12,5 %)
Methotrexat	7 (21,875 %)	5 (20,8 %)	2 (25 %)
γ-Interferon	1 (3,125 %)	1 (4,2 %)	0
MMF	7 (21,875 %)	4 (16,7 %)	3 (37,5 %)
Ciclosporin A	4 (12,5 %)	3 (12,5 %)	1 (12,5 %)
Rituximab	3 (9,375 %)	2 (8,3 %)	1 (12,5 %)
Basiliximab	1 (3,13 %)	0	1 (12,5 %)

Sulfasalazin	1 (3,125 %)	1 (4,2 %)	0
Leflunomid	1 (3,125 %)	0	1 (12,5 %)
Cyclophosphamid	22 (68,75 %)	15 (62,5 %)	7 (87,5 %)
CYC Summendosis	5,9 g (1,6–23 g)	7,2 g (3,2–23 g)	5,35 g (1,6–11,8 g)
CYC Zyklenanzahl	4,5 (2–13)	5,5 (2–12)	3,5 (2–13)
<b>Mobilisation</b>			
Filgrastim	23 (71,875 %)	19 (79,2 %)	4 (50 %)
Lenograstim	9 (28,125 %)	5 (20,8 %)	4 (50 %)
Dosis: 5 µg/kg	24 (75 %)	17 (70,8 %)	7 (87,5 %)
Dosis: 2x5 µg/kg	8 (25 %)	7 (29,2 %)	1 (12,5 %)
CYC 2x1g/m <sup>2</sup>	7 (21,9 %)	3 (12,5 %)	4 (50 %)
CYC 2x1,5g/m <sup>2</sup>	4 (12,5 %)	4 (16,7 %)	0
CYC 2x2g/m <sup>2</sup>	21 (65,6 %)	17 (70,8 %)	4 (50 %)
<b>Leukapherese</b>			
Tage	2 (1–4)	2 (1–2)	3 (1–4)
Gesamtzellzahl	8,485 (3,04–16,56x10 <sup>9</sup> Zellen)	9,735 (5,46–16,56x10 <sup>9</sup> Zellen)	5,425 (3,04–8,92x10 <sup>9</sup> Zellen)
CD34+- Anteil	1,805 % (0,48–6,13 %)	2,49 (0,48–6,13 %)	1,195 % (0,51–1,59%)
Reinheit	94,39 % (40,99–99,76 %)	94,77% (40,99–99,76 %)	87,375 % (46,03–97,29 %)
Recovery	72,17 (40,49–102,09 %)	70,39 (40,49–97,01 %)	75,71 (46,62–102,09 %)

*Tabelle 1 Vergleich NM und SM zur gesamten Studienpopulation*

### 3.6 Korrelationen

#### 3.6.1 Demographie

Der Anteil der Männer an der Gruppe der SM ist höher als der Anteil der Männer an der gesamten Studiengruppe (50 % vs. 37,5 %, Fisher's Exact Test 0.3321 für Wahrscheinlichkeit SM größer für Männer).

Der Median der Erstmanifestation liegt zwei Jahre höher bei den Patienten der SM-Gruppe, wobei die Streuung unter den NM größer scheint. Mutmaßlich ist das höhere Alter der Erstmanifestation auf das Fehlen einer Altersangabe in der SM-Gruppe zurückzuführen. Der Altersmedian der Erstdiagnose liegt nur ca. 0,5 Jahre auseinander zwischen SM und NM. Das Durchschnittsalter der SM zum Zeitpunkt der Mobilisation war im Median zwei Jahre geringer. Die Krankheitsdauer war geringer in der Gruppe der SM (Median 2 Jahre, Range 1–9 Jahre vs. 3 Jahre, Range 0–11 Jahre). Zusammengefasst scheint eine schnelle Verschlechterung mit Eintreten der Indikation zur Transplantation häufiger bei SM zu sein.

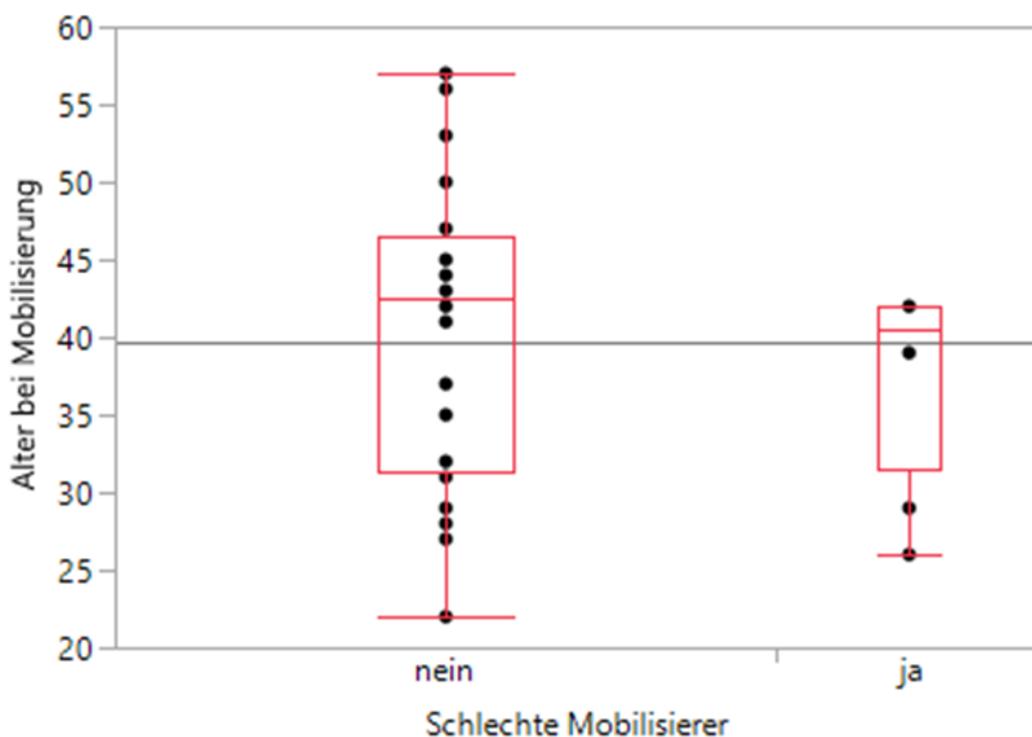


Abbildung 1 Alter bei Mobilisation und Mobilisierungsverhalten. Die SM waren im Vergleich etwas jünger; das Alter der NM war weiter gespreizt

Das Gewicht betrug im Median 57 kg (Range 44-88 kg) bei den SM, bei den anderen Patienten 65,5 kg (Range 50-102 kg). Alle weiblichen Patienten unter 50 kg mobilisierten schlecht. Allerdings mobilisierten fünf weibliche Patientinnen unter 60 kg ausreichend. Das Gewicht der männlichen SM differierte weiter, sodass bei Männern das Gewicht eher weniger Einfluss zu haben schien als bei Frauen.

Der BMI der SM ist im Median geringer als bei den Patienten, die normal mobilisierten. Unter einem BMI von 18 kg/m<sup>2</sup> scheint das Risiko für schlechte Mobilisationsergebnisse erhöht zu sein (4 SM vs. 1 NM).

Unter den SM hatte lediglich ein Patient kein Cyclophosphamid in der Vorgeschichte erhalten, die anderen sieben Patienten hatten Cyclophosphamid als Vortherapie. Dieser Patient ohne Cyclophosphamid in der Vorgeschichte wog zum Zeitpunkt der Mobilisation 44 kg. Bei den SM mit Cyclophosphamid waren ebenfalls eher ein geringes Gewicht auffällig (Median 58 kg, Range 44–88 kg im Vergleich zu 69 kg im Median bei den NM mit Cyclophosphamid in der Vorgeschichte, Range 50–102 kg). Der entsprechende BMI betrug in der SM-Gruppe im Median 19,8 kg/m<sup>2</sup> (Range 14,7–22,9 kg/m<sup>2</sup>) bei den Patienten mit Cyclophosphamid in der Vorgeschichte und 16,4 kg/m<sup>2</sup> bei dem Patienten ohne Cyclophosphamidtherapie. Der BMI der NM war bei Patienten mit Cyclophosphamid in der Vorgeschichte im Median 24,3 kg/m<sup>2</sup> (Range 17,3–33,3 kg/m<sup>2</sup>).

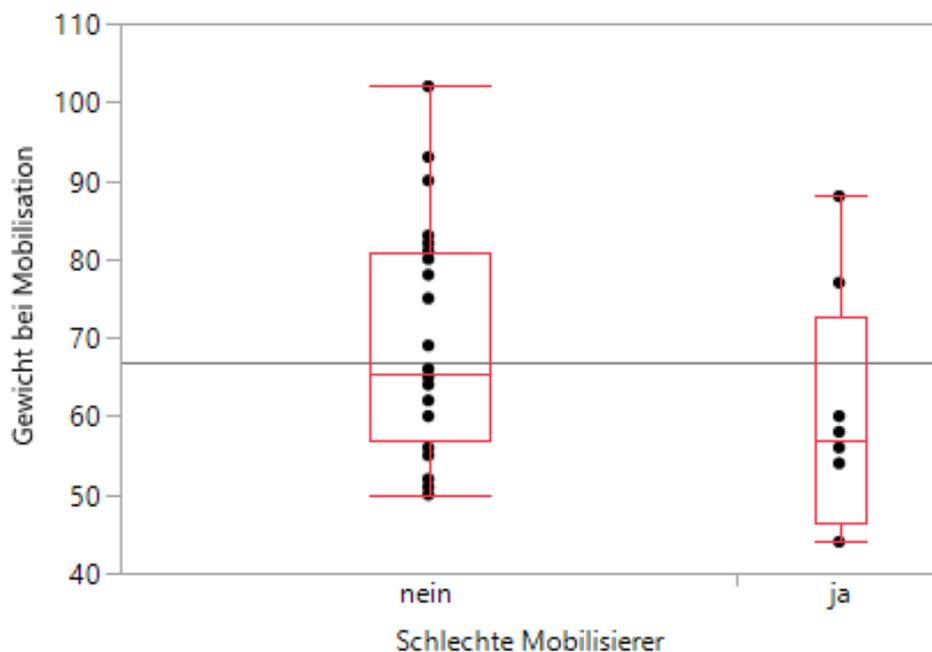


Abbildung 2: Mobilisationsverhalten und Gewicht bei Mobilisation. Das Gewicht der SM war im Median deutlich geringer.

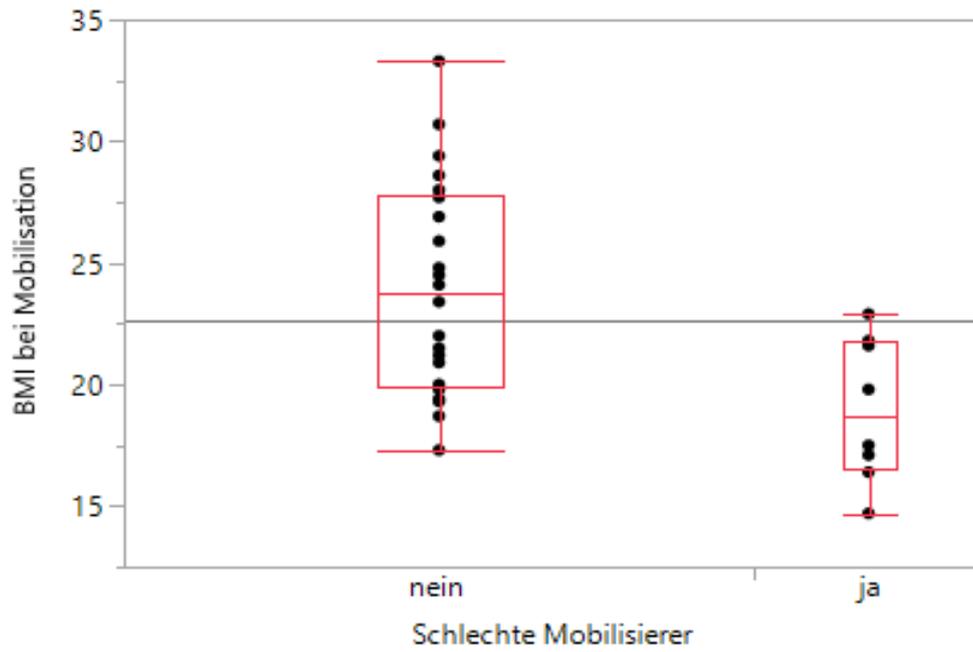


Abbildung 3: Mobilisierungsverhalten und BMI bei Mobilisation. Der BMI war bei den SM deutlich geringer

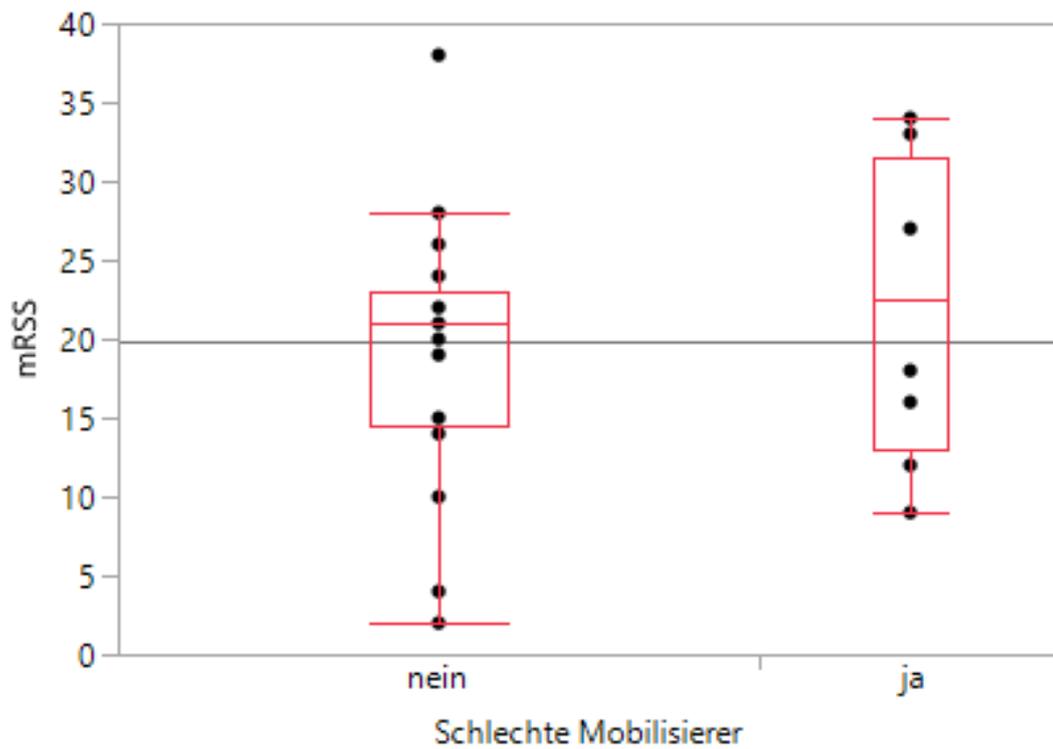


Abbildung 4: Mobilisationsverhalten und mRSS. SM haben im Median einen etwas höheren mRSS

Alle SM hatten eine dcSSc (100 % im Vergleich zu 83,3 % der NM, Fisher's Exact Test 0.2955 für SM größer für dcSSc). Der mRSS der SM war im Median 22,5 (Range 9–34), der mRSS der NM 21 (Range 2–38). Der maximal erreichte Wert des mRSS war in der NM-Gruppe höher als in der SM-Gruppe.

Bezüglich der Antikörper waren bei Scl70-Antikörpern keine deutlichen Unterschiede zwischen den Gruppen zu beobachten, bei ANA waren jedoch 25 % der SM negativ auf Antikörper im Vergleich zu 0 % der NM.

Einen Befall der Lungen hatten alle SM. Im Vergleich dazu hatten zwei NM-Patienten keinen dokumentierten Befall der Lungen (91,7 % der NM mit Lungenbeteiligung). Einen Befall des Herzens hatten 62,5 % der SM, aber nur 20,8 % der NM (jeweils N=5) (Fisher's Exact Test 0.0418 für Herz = befallen größer für SM). Eine nephrogene Beteiligung bestand bei zwei Patienten, diese gehörten jedoch zur NM- Gruppe.

### **3.6.2 Vortherapie**

#### **3.6.2.1 Vaskulopathietherapie**

ERA hatte kein SM erhalten, jedoch vier Patienten der NM (16,7 %). PDE5-Inhibitoren hatten je ein Patient der NM (4,17 %) und der SM (12,5 %) erhalten. Prostaglandinanaloga hatten acht NM (33 %) und vier SM (50 %). Keiner der SM hatte Pentoxifyllin erhalten, hingegen zwei der NM (8,3 %). Für alle Substanzen zeigte der Fisher's Exact Test keine signifikanten Werte in beide Richtungen.

Somit scheint eine vasoaktive Therapie keinen Einfluss auf das Mobilisationsvermögen zu haben.

#### **3.6.2.2 Immunsuppression und -modulation**

Jeweils 50 % der SM und der NM hatten Steroide erhalten. Für Hydroxychloroquin traf dies auf jeweils 12,5 % der Gruppen zu. Keiner der SM hatte D-Penicillamin erhalten, jedoch zwei NM. Ein Patient der SM hatte Leflunomid erhalten (12,5 %, Zusammenhang ohne Signifikanz, Fisher's Exact Test 0.25).

Zwei der SM hatten Methotrexat in der Vorgeschichte (25 %), im Vergleich zu fünf Patienten (20,8 %) der NM (Fisher's Exact Test 0,5773 MTX in der Vorgeschichte ist wahrscheinlicher für SM).

Je zwei Patienten der SM (25 %) und der NM (8,33 %) hatten Rituximab erhalten. Der Fisher's Exact Test zeigt hier bei schlechten Mobilisationsergebnissen eine Abhängigkeit von Rituximab in der Vorgeschichte, jedoch ohne Signifikanz zu erreichen (0.2542). Ein Patient hatte Basiliximab erhalten, dieser Patient war ebenfalls ein SM; unter den NM hatte kein Patient Basiliximab erhalten, sodass hier keine Vergleichsmöglichkeit besteht (Fisher's Exact Test 0.25 für Wahrscheinlichkeit SM größer für Basiliximab in der Vorgeschichte).

MMF hatten sieben Patienten (21,9 %) erhalten, hiervon waren drei Patienten SM (37,5 %) und vier Patienten NM (16,7 %). Der Fisher's Exact Test ebenfalls bei schlechten Mobilisationsergebnissen eine Abhängigkeit von der MMF-Einnahme ohne Signifikanz (0.2237).

Ciclosporin A erhielten jeweils 12,5 % der NM (3 Patienten) und SM (1 Patient), ebenso Azathioprin. Sulfasalazin erhielt 1 Patient der NM-Gruppe (3,1 %), ebenso ein Patient 5-Fluoruracil (3,1 %), die Hypothese einer Abhängigkeit des Status SM kann für alle vier Substanzen nach Fisher's Exact Test verworfen werden.

Zusammengefasst ließ sich für Rituximab und MMF als Vortherapie ein negativer Trend zeigen, jeweils ohne Signifikanzniveau zu erreichen.

### **3.6.2.3 Vortherapie mit Cyclophosphamid**

Sieben Patienten mit Cyclophosphamid waren SM (87,5 %) im Vergleich zu 15 Patienten, die normal mobilisierten (62,5 %). Der Fisher's Exact Test zeigt hier eine nicht signifikante Abhängigkeit (0.1925). Bei jeweils einem SM und einem NM war bekannt, das Cyclophosphamid verabreicht wurde, die Summendosis jedoch nicht.

In absoluten Zahlen mobilisierten Menschen, die nie Cyclophosphamid erhalten hatten, seltener schlecht als Menschen, die Cyclophosphamid erhalten hatten (9 vs. 1 Patient).

Die Summendosis der SM war im Schnitt etwas niedriger (5,35 g, Range 1,6–11,8 g im Vergleich zu 7,2 g, Range 3,2–23 g). Die Zyklenzahl war für die SM im Median 3,5 (2–13), bei den NM 5,5 (2–12) und somit bei ähnlicher Range etwas geringer bei den schlechten Mobilisierern.

Männer mit Cyclophosphamid in der Vorgeschichte scheinen schlechter zu mobilisieren als Frauen mit Cyclophosphamid in der Vorgeschichte (4 von 10 Männern im Vergleich zu 3 von 12 Frauen).

### **3.6.3 Mobilisation unter 2x2 g/m<sup>2</sup> und reduzierter Dosierung**

Insgesamt erhielten 21 Patienten 2x2 g/m<sup>2</sup> (65,6 %) und elf Patienten eine reduzierte Dosierung (34,4 %). Jeweils vier Patienten aus beiden Gruppen waren SM (19,1 % der Patienten, die 2x2 g/m<sup>2</sup> erhielten und 36,4 % der Patienten mit reduzierter Dosis, Abhängigkeit ohne Signifikanz, Fisher's Exact Test 0.2561 für Wahrscheinlichkeit größer reduzierte Dosis = SM).

In der 2x2 g/m<sup>2</sup>-Gruppe benötigten die SM bei drei Patienten (14,3 % der 2x2 g/m<sup>2</sup>-Gruppe) mehr als zwei Leukapheresetage, einem Patienten wurde die GCSF-Dosierung während der Mobilisation erhöht (4,8 %). Bei reduzierter Dosierung benötigten drei Patienten mehr als zwei Leukapheresetage (27,3 % der Gruppe mit reduzierter Dosierung) und ein Patient erhielt eine Kombinationstherapie mit Plerixafor (9,1 %), unter der er dann ausreichend mobilisierte.

Die Leukapheresate aller Patienten wurden CD34<sup>+</sup>-selektioniert. Im Median mobilisierten die Patienten in der 2x2 g/m<sup>2</sup>-Gruppe 8,03x10<sup>9</sup> Zellen (3,04–16,56x10<sup>9</sup> Zellen), in der Gruppe mit reduzierter Cyclophosphamiddosierung 10,68x10<sup>9</sup> Zellen (3,08-14,82x10<sup>9</sup> Zellen). Nach CD34<sup>+</sup>-Selektion mittels Säule betrug die Reinheit bei 2x2 g/m<sup>2</sup> im Median 94,5 % (40,99–99,14%), bei den reduzierten Dosierungen 91,72 % (83,44–99,76 %). Die Recoveryrate war im

Median 71,27 % bei 2x2 g/m<sup>2</sup> (49,01–97,01 %) und 77,09 % (40,49–100 %) unter reduzierter Dosierung.

<b>Eigenschaften</b>	<b>2x2 g/m<sup>2</sup></b>	<b>Reduzierte Dosierung</b>
Anzahl	21	11
SM	4 (19,1 %)	4 (36,4 %)
Männer	4 (33,3 %)	8 (66,7 %)
Frauen	17 (85 %)	3 (15 %)
lcSSc	2 (50 %)	2 (50 %)
dcSSc	19 (67,9 %)	9 (32,1 %)
Gewicht	60 kg (44–102 kg)	75 kg (44–83 kg)
BMI	21,5 kg/m <sup>2</sup> (16,4–33,5 kg/m <sup>2</sup> )	24,1 kg/m <sup>2</sup> (14,7–29,4 kg/m <sup>2</sup> )
Alter Erstdiagnose	34 Jahre (15–56 Jahre)	41 Jahre (21–55 Jahre)
Alter Erstmanifestation	25,5 Jahre (15–57 Jahre)	38 (21–51 Jahre)
Alter Mobilisation	37 (26–57 Jahre)	42 (22–56 Jahre)
Krankheitsdauer	4 Jahre (0–11 Jahre)	2 Jahre (0–8 Jahre)
mRSS	21 (2–38)	19 (4–34)
ANA	20 (95,2 %)	9 (81,8 %)
Sci70	16 (76,2 %)	6 (54,6 %)
Nucleoli	6 (28,6 %)	5 (45,5 %)
<b><i>Befallene Organsysteme</i></b>		
Haut	21 (100 %)	11 (100 %)
Lunge	19 (90,5 %)	11 (100 %)
Niere	1 (4,8 %)	1 (9,1 %)
Herz	2 (9,6 %)	8 (72,7 %)
<b>Vortherapien</b>		
ERA	2 (9,6 %)	2 (18,2 %)
PDE5-Hemmer	1 (4,8 %)	1 (9,1 %)
Prostaglandinanaloga	7 (33,3 %)	5 (45,5 %)

<b>Immunsuppressiva</b>		
Steroide	9 (42,9 %)	7 (63,6 %)
D-Penicillamin	2 (9,6 %)	0
Azathioprin	2 (9,6 %)	2 (18,2 %)
Methotrexat	5 (23,8 %)	2 (18,2 %)
y-Interferon	1 (4,8 %)	0
MMF	4 (19,1 %)	3 (27,3 %)
Ciclosporin A	2 (9,6 %)	2 (18,2 %)
Rituximab	1 (4,8 %)	2 (18,2 %)
Cyclophosphamid	13 (61,9 %)	9 (81,8 %)
CYC Summendosis	5,5 (3,2-23 g)	6,4 (1,6–12g)
CYC Zyklenanzahl	5 (2-13)	4,5 (2–11)
<b>Mobilisation</b>		
Filgrastim	21	0
Lenograstim	2 (9,6 %)	9 (81,8 %)
Dosis: 5 µg/kg	15 (71,4 %)	11 (100 %)
Dosis: 2x5 µg/kg	6 (28,6 %)	0
<b>Leukapherese</b>		
Tage	2 (1–3)	2 (1–4)
Gesamtzellzahl	8,03 (3,04–16,56x10 <sup>6</sup> Zellen)	10,68 (3,08–14,82x 10 <sup>6</sup> Zellen)
CD34 <sup>+</sup> - Anteil	1,73 (0,48–5,6 %)	2,42 (0,54–6,13 %)
Reinheit	94,5 (41–99,4 %)	91,7 (83,4–99,8 %)
Recovery	71,3 (49–97 %)	77,1 % (40,5–102,1 %)

*Tabelle 2 Vergleich 2x2g/m<sup>2</sup> und reduzierte Dosierung*

### **3.6.2.4 Korrelation zwischen SM und Cyclophosphamiddosierung in der Mobilisationstherapie**

In der Gruppe mit der reduzierten Dosierung waren 72,7 % Männer, bei der Dosierung von 2x2 g/m<sup>2</sup> 81 % Frauen. Der Männeranteil ist somit signifikant höher in der Gruppe mit reduzierter Dosierung (Fisher's Exact Test 0.0047 für Wahrscheinlichkeit weibliches Geschlecht größer für 2x2 g/m<sup>2</sup>).

Alle SM hatten eine dcSSc. Der mRSS war unter der reduzierten Dosierung bei den SM tendenziell höher, bei der Dosierung mit 2x2 g/m<sup>2</sup> bei SM und NM ähnlich verteilt. Das Herz war in der Gruppe mit reduzierter Dosierung häufiger beteiligt, alle SM hatten eine kardiale Beteiligung (aber auch 57,1 %/4 Patienten mit kardialem Befall mobilisierten unter der reduzierten Dosierung ausreichend). Alle Patienten mit Nierenbeteiligung mobilisierte unabhängig von der Cyclophosphamiddosierung ausreichend.

Das Alter bei Mobilisation war im Median in der Gruppe mit reduzierter Dosierung etwas höher, hier die SM (41, 39–42 Jahre) im Vergleich zu den NM (44, 41–56, ein Patient mit 22 Jahren als Ausreißer nicht mitgezählt) etwas jünger. Das Alter bei Mobilisation war bei der Gruppe mit 2x2 g/m<sup>2</sup> 37 Jahre (27–57 Jahre) bei den NM und 36 Jahre bei den SM (26–42 Jahre).

Das Gewicht war in der reduzierten Dosierung im Median höher als bei 2x2 g/m<sup>2</sup>, die SM in beiden Gruppen hatten ein ähnliches Gewicht. Bezüglich des BMI ergibt sich ein ähnliches Bild, hier hatten unter der reduzierten Dosierung alle Patienten mit einem BMI > 21,5 kg/m<sup>2</sup> gut mobilisiert, darunter schlecht. Bei der Dosierung mit 2x2 g/m<sup>2</sup> überlappten sich die Werte der SM und NM mehr, eine eindeutige Trennlinie war nicht zu erkennen.

Demographie	2x2 g/m <sup>2</sup>		Reduzierte Dosierung	
	NM	SM	NM	SM
Männlich	3 (17,6 %)	1 (25 %)	5 (71,4 %)	3 (75 %)
Weiblich	14 (82,4 %)	3 (75 %)	2 (28,6 %)	1 (25 %)
lcSSc	2 (11,8 %)	0	2 (28,6 %)	0
dcSSc	15 (88,2 %)	4 (100 %)	5 (71,4 %)	4 (100%)
Gewicht	60 (50–102 kg)	55 (44–88 kg)	78 (65–83 kg)	59 (44–77 kg)

BMI	21,5 kg/m <sup>2</sup> (17,3–33,3 kg/m <sup>2</sup> )	20,7 kg/m <sup>2</sup> (16,4–22,9 kg/m <sup>2</sup> )	24,8 kg/m <sup>2</sup> (21,2–29,4 kg/m <sup>2</sup> )	17,3 kg/m <sup>2</sup> (14,7–21,8 kg/m <sup>2</sup> )
Alter Erstmanifestation	26 (15–57 Jahre)	23 (21–41)	39 (21–51)	38 (35–41)
Alter Erstdiagnose	34 (15–56)	31 (21–41)	43 (21–55)	38 (37–41)
Alter Mobilisation	37 (27–57)	35,5 (26– 42)	44 (22–56)	40,5 (39– 42)
Zeitdauer Erkrankung	4 (0–11)	4,5 (1–9)	2 (0–8)	1,5 (1–7)
mRSS	21 (2–38)	21,5 (12– 27)	19 (4–26)	25,5 (9– 34)
Haut	17 (100%)	4 (100 %)	7 (100 %)	4 (100 %)
Herz	1 (5,9 %)	1 (25 %)	4 (57,1 %)	4 (100%)
Lunge	15 (88,2 %)	4 (100 %)	7 (100 %)	4 (100 %)
Niere	1 (5,9 %)	0	1 (14,3 %)	0

Tabelle 3 SM im Vergleich zu NM unter den verschiedenen Dosierungen, Demographie und Krankheitslast

ERA hatten in beiden Gruppen keiner der SM erhalten. PDE5-Inhibitoren hatten 25 % der SM unter der reduzierten Dosis erhalten, kein SM der Dosis mit 2x2 g/m<sup>2</sup> sowie 5,9 % der NM unter 2x2 g/m<sup>2</sup>. Prostaglandinanaloga hatte 75 % der SM (NM: 28,6 %) unter reduzierter Dosierung erhalten und 25 % der SM unter 2x2 g/m<sup>2</sup> (NM: 35,3 %). Unter der reduzierten Dosis zeigen Prostaglandinanaloga in der Vorgeschichte eine Abhängigkeit ohne Signifikanz zum Status SM im Fisher's Exact Test, ebenso für ERA, wobei hier die Fallzahlen sehr gering sind. Unter der reduzierten Dosierung scheinen ERA und Prostaglandinanaloga in der Vorgeschichte zur schlechten Mobilisation beizutragen. Unter 2x2 g/m<sup>2</sup> zeigte sich keine Abhängigkeit zur schlechten Mobilisation nach ERA, PDE5-Inhibitoren, Prostaglandinanaloga und Pentoxifyllin.

Steroide hatten sowohl 50 % der SM unter reduzierter Dosierung als auch 50 % der SM unter 2x2 g/m<sup>2</sup> erhalten. Bei den NM waren es 71,4 % (5 Patienten) unter der reduzierten Dosierung und 41,2 % der Patienten unter 2x2 g/m<sup>2</sup> (7 Patienten).

D-Penicillamin hatte kein SM erhalten. Azathioprin hatten 25 % der SM (1 Patient) sowie 5,9 % der NM (1 Patient) unter 2x2 g/m<sup>2</sup> erhalten, jedoch 28,6 % der NM unter reduzierter Dosierung (2 Patienten) und kein SM. Methotrexat hatten 50 % der SM unter 2x2 g/m<sup>2</sup> sowie 17,6 % der NM (3 Patienten) erhalten, kein SM und 28,6 % der NM (2 Patienten) unter reduzierter Dosierung. MMF hatten 50 % der SM (2 Patienten) und 11,8 % der NM (2 Patienten) unter 2x2 g/m<sup>2</sup> sowie 25 % der SM und 28,6 % der NM (2 Patienten) unter reduzierter Dosierung. Ciclosporin A hatten 25 % der SM und 5,9 % der NM (1 Patient) unter 2x2 g/m<sup>2</sup>, kein SM und 28,6 % der NM (2 Patienten) unter reduzierter Dosierung. Rituximab hatten 25 % der SM unter reduzierter Dosierung sowie 14,3 % der NM bei reduzierter Dosierung und 5,9 % der Patienten unter 2x2 g/m<sup>2</sup>. Basiliximab hatte 1 SM (25 %) unter 2x2 g/m<sup>2</sup> erhalten. Leflunomid hatte 1 SM unter 2x2 g/m<sup>2</sup>. Hydroxychloroquin hatte 1 SM und 11,8 % der NM unter 2x2 g/m<sup>2</sup> sowie 14,3 % der NM unter reduzierter Dosierung. Sulfasalazin hatte 1 NM unter 2x2 g/m<sup>2</sup> erhalten.

Gesamt lässt sich in der reduzierten Dosierung keine erhöhte Wahrscheinlichkeit für SM für Azathioprin, MTX, MMF, Ciclosporin A, Hydroxychloroquin. Eine Abhängigkeit ohne Signifikanz findet sich für Cyclophosphamid (Fisher's Exact Test 0.3818 Wahrscheinlichkeit für Cyc in der Vorgeschichte größer für SM).

In der Gruppe mit 2x2 g/m<sup>2</sup> war keine erhöhte Wahrscheinlichkeit für SM bei einer Vortherapie mit Steroiden, D-Penicillamin, Pentoxyfillin und Sulfasalazin nachweisbar.

Eine Abhängigkeit ohne Signifikanz bestand unter 2x2 g/m<sup>2</sup> für Azathioprin (0.3524 für Wahrscheinlichkeit für Azathioprin in der Vorgeschichte für SM) und MTX (0.2281 Wahrscheinlichkeit für MTX in der Vorgeschichte größer für SM), Cyc (0.5018 Wahrscheinlichkeit für Cyc in der Vorgeschichte größer für SM), MMF (0.1479 Wahrscheinlichkeit für MMF in der Vorgeschichte größer für SM), Ciclosporin A (0.3542 Wahrscheinlichkeit für Ciclosporin A), RTX (Pearson 0.995) und Basiliximab (0.1905 Wahrscheinlichkeit für Basiliximab in der Vorgeschichte größer für SM, Pearson 0.0346), Leflunomid (0.1905 Wahrscheinlichkeit für Leflunomid in der Vorgeschichte größer für SM, Pearson

0.0346) und Hydroxychloroquin (0.48870 Wahrscheinlichkeit für Hydroxychloroquin in der Vorgeschichte größer für SM)

	2x2g/m <sup>2</sup>		Reduzierte Dosierung	
	NM	SM	NM	SM
<b>Vaskulopathietherapie</b>				
ERA	2 (11,8 %)	0	2 (28,6 %)	0
PDE5- Inhibitoren	1 (5,9 %)	0	0	1 (25 %)
Prostaglandinanaloga	6 (35,3 %)	1 (25 %)	2 (28,6 %)	3 (75 %)
Pentoxifyllin	2 (11,8 %)	0	0	0
<b>Immunsuppressiva</b>				
Steroide	7 (41,2 %)	2 (50 %)	5 (71,4 %)	2 (50 %)
D-Penicillamin	2 (11,8 %)	0	0	0
Azathioprin	1 (5,9 %)	1 (25 %)	2 (28,6 %)	0
Methotrexat	3 (17,6 %)	2 (50 %)	2 (28,6 %)	0
γ-Interferon	1 (5,9 %)	0	0	0
MMF	2 (11,8 %)	2(50 %)	2 (28,6 %)	1 (25 %)
Ciclosporin A	1 (5,9 %)	1 (25 %)	2 (28,6 %)	
Rituximab	1 (5,9 %)	0	1(14,3 %)	1 (25 %)
Cyclophosphamid	10(58,8 %)	3 (75 %)	5 (71,4 %)	4 (100 %)
CYC Summendosis	5 g (3,2–23 g)	6 g (4,9–11,8 g)	7,4g (5,2–12 g)	3,6 g (1,6–5,8 g)
CYC Zyklusanzahl	4 (2–12)	6 (3–13)	6 (4–11)	3 (2–4)

Tabelle 4 Vortherapien, aufgeschlüsselt nach Mobilisationsregime und SM vs. NM

Cyclophosphamid hatten alle SM und 71,4 % der NM unter reduzierter Dosierung erhalten, sowie 75 % der SM und 58,8 % der NM (10 Patienten) unter 2x2 g/m<sup>2</sup>. Die Summendosis der NM unter 2x2 g/m<sup>2</sup> waren 5 g (3,2–23 g) im Vergleich zu 6 g (4,9–11,8 g) bei den SM unter 2x2 g/m<sup>2</sup>. Unter der reduzierten Dosierung waren 7,4 g bei den NM aufgezeichnet worden, sowie 3,6 g bei den SM (1,6–5,8 g). Von einem SM unter reduzierter Dosierung fehlte die Summendosis sowie die Zyklusanzahl, sowie von einem NM unter 2x2 g/m<sup>2</sup>, so das hier im Median eine

höhere Summendosis und Zyklenzahl erwartbar ist. Die Gruppen haben somit vermutlich eine vergleichbare Summendosis und Zyklenzahl.

Das Autoantikörperprofil der Gruppen zeigte lediglich bei ANA einen relevanten Unterschied unter reduzierter Dosis. Unter der reduzierten Dosis besteht eine Abhängigkeit zwischen dem Vorhandensein von ANA und einer ausreichenden Mobilisation (Pearson 0.0146, Wahrscheinlichkeit 0.0565 ANA positiv für nicht SM), unter 2x2 g/m<sup>2</sup> lässt sich der Effekt nicht nachweisen, da hier alle Patienten ANA hatten.

Autoantikörper	Reduzierte Dosierung		2x2 g/m <sup>2</sup>	
	NM	SM	NM	SM
ANA	7 (100 %)	2 (50 %)	17 (100 %)	4 (100 %)
ScI70	4 (57,1 %)	2 (50 %)	16 (76,2 %)	3 (75 %)
ACA	0	0	0	0

Tabelle 5 Autoantikörper unter den Mobilisationsregimes, Vergleich von SM und NM

### 3.7 Nebenwirkungen unter den verschiedenen Mobilisationsregimes

In beiden Gruppen traten Nebenwirkungen auf. Unter der reduzierten Dosierung waren mehr Patienten nebenwirkungsfrei (63,6 % im Vergleich zu 23,8 %). Blutbildveränderungen, Müdigkeit und Schwäche sowie Dyspnoe traten in beiden Gruppen bei gleich vielen Personen auf, aufgrund der geringeren Personenzahl in der Gruppe der reduzierten Dosis sind hier die prozentualen Werte höher. In der Gruppe mit der reduzierten Dosis traten keine Todesfälle auf, in der Gruppe mit 2x2 g/m<sup>2</sup> starb ein Patient durch Rechtsherzversagen (4,8 %). In der Gruppe mit 2x2 g/m<sup>2</sup> traten bei 2 Patienten Durchfälle auf (9,6 %, 0 Patienten der reduzierten Dosierung) und bei einem Patienten eine hämorrhagische Zystitis (4,8 %, 0 Patienten der reduzierten Dosierung).

	2x2 g/m <sup>2</sup>	Reduzierte Dosierung
Keine	5 (23,8 %)	7 (63,6 %)
Fieber in Aplasie	3 (14,3 %)	1 (9,1 %)
Juckreiz	1 (4,8 %)	0

Blutbildveränderungen /Neutropenie	1 (4,8 %)	1 (9,1 %)
Müdigkeit, Schwäche, Muskelschmerzen	1 (4,8 %)	1 (9,1 %)
Hämorrhagische Zystitis	1 (4,8 %)	0
Dyspnoe	1 (4,8 %)	1 (9,1 %)
Durchfälle	2 (9,6 %)	0
Tod durch Rechtsherzversagen	1 (4,8 %)	0
Keine Daten vorhanden	5 (23,8 %)	0

Tabelle 6 Nebenwirkungen unter 2x2 g/m<sup>2</sup> und reduzierter Dosierung

### 3.8 GCSF

Im Vergleich mobilisieren die Menschen in der Lenograstimgruppe häufiger schlecht als in der Filgrastimgruppe (4 von 8 vs. 4 von 19 Patienten, 17,4 % der Filgrastimgruppe und 44,4 % der Lenograstimgruppe). Im Fisher's Exact Test zeigt sich eine Abhängigkeit, die allerdings kein Signifikanzniveau erreicht (0.1294 für Wahrscheinlichkeit SM größer für Lenograstim, zweiseitig 0.1760). Hierbei muss berücksichtigt werden, dass mit verschiedenen Dosierungen und unterschiedlichen Applikationsabständen gearbeitet wurde.

Alle Patienten (N= 9) mit Lenograstim erhielten 5 µg/kg KG und eine Applikation einmal täglich. Hiervon waren vier Patienten (44 %) SM. Berechnet man die Dosis entsprechend des BMI wird ersichtlich, dass die Patienten eher eine geringere Dosierung als 5 µg/kg KG erhielten (Median 1,4 µg/kg KG, Range 1,27–5,98 µg/kg KG). Bei zweimaliger Applikation von Filgrastim betrug der Median 10,75 µg/kg KG (8,0–11,71 µg/kg KG), bei einmaliger Applikation 5,36 µg/kg KG (4,55–6,82 µg/kg KG).

In der Filgrastimgruppe (N=23) erhielten 16 Patienten 5 µg/kg KG einmal täglich (69,6 %) und 7 Patienten 5 µg/kg KG (30,4 %) zweimal täglich. SM waren 12,5 % (N=1) Patienten mit zweimaliger Applikation und 20 % (N=3) der Patienten bei einmaliger Applikation; der Unterschied ist nicht signifikant.

Patienten mit 1x5 µg/kg KG Filgrastim mobilisierten im Median  $9,02 \times 10^9$  Zellen ( $3,04$ – $16,56 \times 10^9$  Zellen). Im Median waren prozentual 2,34 % CD34+-Zellen enthalten ( $0,51$ – $6,13$  %). Nach CD34+-Selektion waren  $6,92 \times 10^6$  Zellen ( $2,28$ – $12,73 \times 10^6$  Zellen) enthalten. Die Recoveryrate war 71,28 % ( $51,56$ – $97,01$  %), die Reinheit 94,28 % ( $46,03$ – $99,49$  %). Die Leukozytenzahlen waren  $36690/\mu\text{l}^3$  ( $18420$  -  $79980/\mu\text{l}^3$ ).

Unter 2x5 µg/kg KG Filgrastim mobilisierten die Patienten im Median  $7,5 \times 10^9$  Zellen ( $5,71$ – $13,15 \times 10^9$  Zellen). Es waren 1,66 % CD34+-Zellen ( $0,48$ – $4,24$  %). Nach CD34+-Selektion waren im Median  $5,24 \times 10^6$  ( $3,21$ – $11,8 \times 10^6$  Zellen) enthalten. Die Reinheit betrug 94,77 % ( $40,99$ – $98,24$  %), die Recovery 70,81 % ( $49,03$ – $93,03$  %). Die Leukozyten betrug  $39375/\mu\text{l}^3$  ( $15380$  -  $43920/\mu\text{l}^3$ ).

Unter Lenograstim 5 µg/kg KG wurden im Median  $8,28 \times 10^9$  Zellen ( $3,04$ – $14,82 \times 10^9$  Zellen). Es waren 1,43 % CD34+- Zellen enthalten ( $0,54$ – $4,71$  %). Nach CD34+-Selektion waren  $4,44 \times 10^6$  Zellen enthalten ( $1,6$ – $11,68 \times 10^6$  Zellen). Die Reinheit betrug 91,27 % ( $83,44$ – $99,76$  %), die Recovery 78,81 % ( $40,49$ – $102,09$  %). Die Leukozytenzahl betrug  $19500/\mu\text{g}^3$  ( $11560$  -  $53390/\mu\text{l}^3$ ).

#### **4 Diskussion**

SSc ist eine Autoimmunerkrankung, die durch eine abnorme Aktivierung des Immunsystems Veränderungen der Fibroblastenfunktion und Schädigung der kleinen Blutgefäße neben der pathognomonischen Hautverdickung nahezu alle inneren Organe betreffen kann und einer erhöhten Sterblichkeitsrate im Vergleich zu nicht Erkrankten einhergeht standardisiertes Mortalitätsverhältnis (SMR) 3,51 über verschiedene Studien der letzten 40 Jahre [55]). Die derzeitige Behandlung stützt sich auf Immunsuppression und Behandlung der auftretenden Symptome; eine Heilung ist nicht möglich. Die autologe Stammzelltransplantation gilt als Chance, das autoimmun reagierende Immunsystem neu zu starten, Veränderungen aufzuhalten und zum Teil zurückzusetzen; dies lässt die zu erwartende Treatment Related Mortality von bis zu 10,1% [97] im Vergleich zur krankheitsassoziierten Mortalität insbesondere bei rapid progressiver SSc gerechtfertigt erscheinen.

Die Mobilisation mit der Gewinnung der eigenen Stammzellen ist hierbei ein wichtiger Schritt; es existieren mehrere Regimes mit verschiedenen Dosierungen Cyclophosphamid sowie unterschiedlichen Arten und Dosierungen von GCSF.

In dieser Arbeit werteten wir erstmalig die Daten der in Tübingen zwischen 1997 und Mai 2012 mit einer autologen Stammzelltransplantation behandelten SSc-Patienten im Hinblick auf Eigenschaften, die für schlechte Mobilisationsergebnisse prädestinieren können, sowie auf Nebenwirkungen unter den verschiedenen Mobilisationstherapien aus. Ziel der Arbeit war es Eigenschaften zu beschreiben, die vor der Mobilisation bereits auf schlechte Mobilisationsergebnisse hinweisen; zudem sollte untersucht werden, ob unter den reduzierten Dosierungen gehäuft schlechte Mobilisationsergebnisse auftreten bzw. ob unter der Mobilisation unter  $2 \times 2 \text{ g/m}^2$  vermehrt Nebenwirkungen auftreten.

Der prozentuale Anteil der **Männer** an der SM-Gruppe (50 %) war höher als der Anteil der Männer an der Gesamtgruppe (37,5 %). Dies könnte als Hinweis gewertet werden, dass Männer häufiger schlechter mobilisieren, allerdings hatten signifikant mehr Frauen der Studiengruppe  $2 \times 2 \text{ g/m}^2$  Cyclophosphamid zur Mobilisation erhalten (Fisher's Exact Test 0.0047 für Wahrscheinlichkeit weibliches Geschlecht größer für  $2 \times 2 \text{ g/m}^2$ ). Unter den Erfahrungen bei hämatonkologischen Patienten (hier mobilisieren Männer in der Regel besser als Frauen) als auch gesunden Spendern für allogene Stammzelltransplantationen [130-132] scheint dies eher unwahrscheinlich. Männliche Patienten haben jedoch ein höheres Risiko für einen aggressiveren Verlauf der SSc sowie eine höhere Sterblichkeit [49, 54, 133] und unter dieser Kenntnis wäre eine aggressivere, knochenmarksdepressivere (Vor-)Therapie als Ursache für die schlechteren Mobilisationsergebnisse denkbar. In der beobachteten Gruppe ist jedoch die Cyclophosphamidsummendosis unter den Frauen sogar tendenziell höher (Frauen: Median 8 g (1,6–23 g), Männer: 4,9 g (3,2–12 g) und Anzahl der verabreichten Zyklen ähnlich (Frauen: Median 6 (2–13) Zyklen, Männer: Median 4 (3–11) Zyklen), sodass dieser Ansatz eher unwahrscheinlich ist. Allerdings ist der Anteil der Männer an der Gruppe der

Patienten, die mit  $2 \times 1 \text{ g/m}^2$  mobilisiert wurden, deutlich höher als der Anteil der Frauen (41,7 % der gesamten Männer vs. 10 % der gesamten Frauen) und gering höher als der Männeranteil an den anderen Dosierungsgruppen ( $2 \text{ g/m}^2$ : 33,3 % und  $1,5 \text{ g/m}^2$ : 25 %). Somit könnte die Therapieentscheidung zugunsten einer niedrigeren Cyclophosphamiddosis insbesondere bei Männern zu den schlechteren Mobilisationsergebnissen beigetragen zu haben.

Das **Gewicht** war bei den SM geringer, alle Frauen unter 50 kg mobilisierten schlecht. Ein ähnliches Bild zeigt sich beim BMI, unter einem BMI von  $18 \text{ kg/m}^2$  mobilisierten vier von fünf Patienten schlecht. Ein vorbekannter Einflussfaktor für das Mobilisationsergebnis im hämatonkologischen Bereich ist das Körpergewicht und der BMI. So ist bereits bekannt, dass gesunde übergewichtige und adipöse Spender bei allogenen Transplantationen signifikant mehr Stammzellen mobilisieren können [134]; die Ursache ist jedoch noch nicht abschließend geklärt - einerseits könnte eine erhöhte Dosis an GCSF die Ursache sein, insofern nicht mit dem idealen Körpergewicht gerechnet wird, andererseits könnte das Fettgewebe selbst als Quelle von Stammzellen fungieren [135, 136]. Bei gesunden Spendern für allogene Knochenmarkspenden mit einem Gewicht von über 78 kg im Median konnten signifikant mehr CD34+-Zellen gewonnen werden als bei einem Körpergewicht unter 78 kg [130]. Übereinstimmend konnten Khouri et al. ausschließen, dass Übergewicht bei hämatonkologischen Patienten zu schlechteren Mobilisationsergebnissen führt [137]. Nur wenige Studien mit hämatologisch erkrankten Patienten beschreiben eine minimale, aber signifikante Erhöhung der Wahrscheinlichkeit einer schlechten Mobilisation bei erhöhtem Gewicht [138] bzw. eine bessere Mobilisation bei geringerem BMI [139].

In der Studiengruppe mobilisierten Frauen unter 50 kg immer schlecht. Patienten beider biologischer Geschlechter unter einem BMI von  $18 \text{ kg/m}^2$  hatten ein Risiko schlecht zu mobilisieren. Bei einem BMI über  $23 \text{ kg/m}^2$  traten in der in dieser Auswertung betrachteten Gruppe keine schlechten Mobilisationsergebnisse auf, sodass hier ein schützender Effekt bestehen könnte, analog zu den Daten der hämatonkologischen Patienten. In der betrachteten Patientengruppe waren bei

den Patienten unter 78 kg im Median  $8,28 \times 10^9$  Zellen mobilisiert worden ( $3,04$ – $16,56 \times 10^9$  Zellen), bei den Patienten über 78 kg im Median  $8,97 \times 10^9$  Zellen ( $3,36$ – $14,82 \times 10^9$  Zellen). Nach der Anreicherung waren im Median  $6,03 \times 10^6$  Zellen ( $2,79$ – $12,73 \times 10^6$  Zellen) enthalten, bei den Patienten unter 78 kg  $4,32 \times 10^6$  Zellen ( $2,28$ – $10,68 \times 10^6$  Zellen), sodass hier analog der gesunden Spender für allogene Stammzelltransplantationen CD34+-Zellen auch bei SSc-Patienten über 78 kg im Median besser gewonnen werden [130]. Zusammenfassend scheint bei Patienten mit SSc ein Risiko für eine schlechte Mobilisation für Patientinnen unter 50 kg bzw. für Patienten mit einem BMI unter  $18 \text{ kg/m}^2$  zu bestehen. Männliche Probanden wogen alle über 50 kg, sodass hier keine Aussage möglich ist, ob das Risiko unterhalb von 50 kg auch bei Männern gilt.

Die **Autoantikörper** sind leicht unterschiedlich verteilt. Unter den SM waren insgesamt mehr Patienten ANA-negativ (2 SM vs. 0 NM; Fisher's Exact Test linksseitig 0.0565 für Wahrscheinlichkeit SM größer für ANA negativ). ANA-negative Patienten sind vergleichsweise selten, über 90% der SSc-Patienten sind ANA-positiv [21], dies spiegelt sich in der Studiengruppe wider.

Sc170-Antikörper, die für dcSSc [21] und einen schlechteren Verlauf prädisponieren [140], sind in der  $2 \times 2 \text{ g/m}^2$ -Gruppe ähnlich zu der  $2 \times 1,5 \text{ g/m}^2$ -Gruppe vertreten ( $76,2 \%$  vs.  $75 \%$  vs.  $42,9 \%$  der  $2 \times 1 \text{ g/m}^2$ -Gruppe). Unter  $2 \times 1 \text{ g/m}^2$  sind Patienten mit Sc170-Antikörper und Patienten ohne Sc170-Antikörper bei den SM in ähnlichem Ausmaß vertreten ( $18,85 \%$  vs.  $20 \%$ ), in  $1 \times 1 \text{ g/m}^2$  waren Sc170-negative Patienten ( $50 \%$ ) etwas seltener SM als Sc170-positive Patienten ( $66,7 \%$ ). In der Gruppe mit  $1,5 \text{ g/m}^2$  waren alle Patienten Sc170-negativ, hier gab es auch keine SM. Somit scheint der Sc170-Status keinen Einfluss auf die Mobilisation zu haben.

Alle SM hatten eine dcSSc, jedoch hatten nur vier Patienten aller beachteten Probanden eine lcSSc. Die Patienten mit lcSSc waren jeweils zu  $50 \%$  in der  $2 \times 2 \text{ g/m}^2$ -Gruppe und der reduzierten Dosierung. Alle hatten Cyclophosphamid in der Vortherapie erhalten. Das Gewicht war tendenziell höher als unter den Patienten mit dcSSc ( $60$ – $102 \text{ kg}$  vs.  $44$ – $93 \text{ kg}$ ), ebenso der BMI ( $21,5$ – $33,3 \text{ kg/m}^2$  vs.  $14,7$ – $30,7 \text{ kg/m}^2$ ), somit könnte alleine das höhere Gewicht ausreichend sein, das die

IcSSc- Patienten keine SM aufwiesen. Um zu bestimmen, ob die Krankheitsart einen Effekt hat, müssten mehr Patienten auch mit IcSSc und einem gleichartigen Mobilisationsregime ausgewertet werden.

Ein weiterer Risikofaktor aus dem Bereich der Hämatonkologie ist ein **höheres Lebensalter** der Patienten [138, 141]. Verschiedene Studien legen hier die Grenzen unterschiedlich- bereits ab 55 Jahren [142], in einer spanischen Registerstudie sogar bereits ab 38 Jahren waren die mediane Zellmenge signifikant reduziert [130, 141]. Das Alter der SM bei Mobilisation ist in dieser Kohorte jedoch zwei Jahre jünger als unter den NM. Bei Erstmanifestation und Erstdiagnose sind die NM im Median noch minimal älter. Hier wäre eine mögliche Begründung, dass die SM eine aggressiveren Krankheitsverlauf oder eine stärkere Immunsuppression erhalten. Passend hierzu ist der mRSS bei den SM leicht erhöht, ein höherer mRSS wird in manchen Studien bei dcSSc als Marker für einen schwereren Krankheitsverlauf gewertet, insbesondere, wenn zusätzlich ein Befall der inneren Organe besteht [36, 43, 143, 144]. Der Maximalwert des mRSS ist jedoch in der NM-Gruppe höher, sodass der mRSS als alleiniger Faktor wohl nicht ausschlaggebend und belastbar ist. Das Lebensalter scheint bei Patienten mit SSc keinen Einfluss auf schlechte Mobilisationsergebnisse zu haben.

Die SM hatten häufiger eine **Beteiligung des Herzens** (62,5 % im Vergleich zu 20,8 % der NM); keiner der SM hatte eine Nierenbeteiligung, jedoch zwei NM. Eine Lungenbeteiligung hatten 100 % der SM, jedoch nur 91,7 % der NM, der Unterschied ist jedoch nur gering. Die These, dass SM stärker von der Erkrankung betroffen sind, trifft hier nur auf die Herzbeteiligung zu. Hier könnte jedoch eine Verzerrung aufgrund des sehr langen Studienzeitraumes vorliegen- die diagnostischen Prozeduren wurden nach kardialen Zwischenfällen in den Anfängen der autologen Stammzelltransplantation verschärft [145, 146], sodass hier die Rate der kardialen Beteiligung bei früher transplantierten Patienten unterschätzt werden könnte. Zum anderen erhielten Menschen mit kardialen Befall überwiegend 1 g/m<sup>2</sup> (6 Patienten vs. 2 NM mit 2x1,5 g/m<sup>2</sup> vs. je 1 NM und 1 SM mit 2 g/m<sup>2</sup>). Zwei der herzbetroffenen Patienten mit 1g/m<sup>2</sup> mobilisierten gut,

vier mobilisierten schlecht. Hier sind es erneut die Männer, die mit drei Patienten bei kardialen Befall schlecht mobilisieren, nur einer mobilisierte gut.

Insgesamt scheint die Kombination aus kardialen Befall, männlichem Geschlecht und  $2 \times 1 \text{ g/m}^2$  zu eher schlechten Mobilisationsergebnissen zu führen.

Im Bereich der hämatologischen Grunderkrankungen gelten alkylierende Substanzen (insbesondere Melphalan, das toxisch für Stammzellen ist, Fludarabin) als Risikofaktor für SM [126, 147]. Umgekehrt können Patienten ohne vorherige Chemotherapie bei Applikation eines Wachstumsfaktors und krankheitsspezifischer Mobilisationstherapie signifikant mehr CD34+-Zellen mobilisieren [148]. Aus den Erkenntnissen der Hämatonkologie ist ebenfalls bekannt, dass Rituximab keinen Einfluss auf die Mobilisation hatte [147]. Entsprechend könnte ein weiterer Grund für das jüngere Alter bei Mobilisation eine stärkere Immunsuppression mit Knochenmarkssuppression sein. Azathioprin, 5-Fluoruracil und Ciclosporin A haben jedoch keinen Einfluss auf die Mobilisation, MMF, Leflunomid und Rituximab haben Einfluss ohne Signifikanz.

Die Gabe von Cyclophosphamid zeigt ebenfalls eine nicht signifikante Abhängigkeit zum Mobilisationsstatus. Dies entspricht Ergebnissen aus der Hämatonkologie, wo die Gabe von Alkylanzien in einigen Studien signifikant schlechtere Mobilisationsergebnisse erbrachte [149], wohingegen in andere Studien die Anzahl der Chemotherapiezyklen die Mobilisationsergebnisse nicht signifikant beeinflussten [150]. Auch in der betrachteten Gruppe ist die Cyclophosphamidsummendosis sogar etwas geringer bei den SM (5,35 g, Range 1,6–11,8 g im Vergleich zu 7,2 g, Range 3,2–23 g), einige Summendosen der NM sind auch deutlich höher als der Median. Die Zyklanzahl bewegte sich in einer ähnlichen Range bei etwas geringerem Median bei den SM, sodass auch eine wiederholte Exposition bei SSc-Patienten nicht zu schlechteren Mobilisationsergebnissen zu führen scheint. Jedoch besteht eine Einschränkung der Aussagekraft: die Patienten, die nach einer Cyclophosphamidtherapie normal mobilisierten, hatten einen deutlich höheren BMI und wogen mehr.

Zusammenfassend ist also eine Kontribution von Cyclophosphamid, Rituximab, Leflunomid und MMF denkbar, jedoch keine Signifikanz nachweisbar.

Aus der Hämatookologie ist bekannt, dass Patienten mit Lenograstim eher besser mobilisieren als Patienten mit Filgrastim [130]. Insbesondere gesunde männliche Spender bei allogener Transplantation mobilisieren unter Lenograstim CD34+-Zellen signifikant besser in das periphere Blut als unter Filgrastim; bei Frauen wurde der Effekt nicht beobachtet [130, 151]. Entsprechend kann bei gleicher Dosierung von Lenograstim und Filgrastim bei hämatologisch Erkrankten signifikant mehr Zellen unter Lenograstim gewonnen werden [152]. In Vitro ist eine um 27 % höhere Aktivität von Lenograstim bekannt. Ataergin et al. konnten dies auch in der klinischen Anwendung nachweisen: unter einer reduzierten Dosierung von 7,5 µg/kg/Tag Lenograstim konnte in der randomisiert kontrollierten Studien eine ähnliche Menge CD34+-Zellen mobilisiert werden wie unter 10 µg/kg/Tag Filgrastim [153]. In einigen wenigen Studien konnte jedoch kein Unterschied nachgewiesen werden: Unter Patienten mit unterschiedlichen hämatologischen Erkrankungen konnte bei einer Dosis von 5 µg/kg KG kein signifikanter Unterschied in der mobilisierten Stammzellmenge dokumentiert werden, wobei die mediane Dosierung von Filgrastim minimal größer war und damit fast die 27 % höhere Aktivität von Lenograstim unbeabsichtigt erreicht (5,4 µg/kg KG vs. 4,7 µg/kg KG Lenograstim) [154]. In der Studiengruppe zeigen sich Unterschiede, allerdings konträr zu den Ergebnissen der Hämatookologie. Patienten, die Lenograstim erhielten, mobilisierten eher schlechter als Patienten mit Filgrastim; wenn sie ausreichend mobilisierten, war der Median der Gesamtzellzahl höher als unter Filgrastim. Allerdings erhielten alle Patienten, die mit 2x1 g/m<sup>2</sup> Cyclophosphamid mobilisiert wurden, Lenograstim (7 Patienten), sowie zwei Patienten mit 2x1,5 g/m<sup>2</sup>. Zwei Patienten mit 1,5 g/m<sup>2</sup> erhielten Filgrastim, alle Patienten der 2x2 g/m<sup>2</sup>-Gruppe erhielten Filgrastim.

Letztlich ist also fraglich, ob hier der Wechsel des GCSF ursächlich ist, oder die Reduktion der Cyclophosphamiddosis. Zudem wird bei genauer Berechnung der Dosierung klar, dass die gewichtsadaptierten Dosierungen von Lenograstim weit geringer sind als die Dosierung von Filgrastim- und zwar in einem Ausmaß, das

nicht durch die erhöhte Lenograstimaktivität ausgeglichen werden kann. Somit könnte die Ursache für die schlechteren Mobilisationsergebnisse möglicherweise auch an einer relativen Unterdosierung liegen. Dies wiederum ist beabsichtigt, da bei Autoimmunerkrankung ein vorsichtiger Einsatz von GCSF gerechtfertigt ist, da teilweise Exazerbationen der Grunderkrankung unter dem proinflammatorischen GCSF beobachtet wurden.

Die Patienten, die 5 µg/kg KG Filgrastim erhielten, mobilisierten eher höhere Zellzahlen als Patienten mit 5µg/kg KG Filgrastim in zweimaliger Applikation, sodass hier eher keine Dosisabhängigkeit bei Filgrastim zu beobachten war. Allerdings waren die Patienten mit einmaliger Applikation etwas häufiger SM (20 % vs. 12,5 % bei zweimaliger Applikation). Retrospektive Auswertungen von Patienten mit hämatologischen Erkrankungen mit einer Dosierung im Median von 3,6 µg/kg KG und 6 µg/kg KG zeigten keinen signifikanten Unterschied in der Mobilisation und Stammzellapherese, unabhängig von der Mobilisationstherapie und GCSF-Dosis [155]. Werden jedoch höhere Dosen verglichen, mobilisieren die Patienten mit höheren Dosierungen (2 x 12 µg/kg KG) besser, insbesondere ist unter einer Dosierung von 10 µg/kg KG einmal täglich eine Abhängigkeit vom Geschlecht zu beobachten – Frauen mobilisieren dann schlechter [156]. Auch bei verschiedenen Autoimmunerkrankungen sind signifikant höhere CD34+-Werte/µl in den Blutproben vor der Leukapherese beobachtet worden, wenn die GCSF-Dosierung 10 µg/kg KG statt 5 µg/kg KG beträgt [129]. Weitere Ergebnisse zeigen, dass die Applikation in geteilter, gewichtsadaptierter Dosis zu verbesserter Stammzellapherese führten [141]. Somit decken sich die Daten unserer Auswertung nur teilweise mit der Literatur - die Zellzahlen unter der geringeren Dosierung waren höher, dies widerspricht den Daten aus dem hämatoonkologischen Bereich. Allerdings war das Risiko einer schlechten Mobilisation unter der geringeren Dosierung etwas höher ohne signifikant zu sein, was wiederum mit der hämatoonkologischen Forschung übereinstimmt.

Unter der reduzierten Cyclophosphamiddosierung traten in der beobachteten Gruppe etwas häufiger schlechte Mobilisationsergebnisse auf (19,1 % der Patienten, die 2x2 g/m<sup>2</sup> erhielten und 36,4 % der Patienten mit reduzierter Dosis,

Abhängigkeit ohne Signifikanz, Fisher's Exact Test 0.2561 für Wahrscheinlichkeit größer reduzierte Dosis = SM). Die Gesamtzellzahl war unter der reduzierten Dosierung im Median etwas höher, die Reinheit geringer und die Recoveryrate etwas höher als bei 2x2 g/m<sup>2</sup> Cyclophosphamid; der CD34<sup>+</sup>-Anteil am Leukapheresat ist unter der reduzierten Dosierung höher als unter 2x2 g/m<sup>2</sup>. In vielen hämatologischen Studien wird mit deutlich höheren Dosierungen gearbeitet, die niedrigere Dosierung in diesen Studien entsprechen hier oftmals 2x2 g/m<sup>2</sup> [157, 158]. In neueren Studienreihen konnte für 2x1 g/m<sup>2</sup> im Vergleich zu 2x2 g/m<sup>2</sup> für Patienten mit multiplen Myelom nachgewiesen werden, dass unter der 2x1 g/m<sup>2</sup> eine suffiziente Stammzellmobilisation bei gleichzeitig geringerer Nebenwirkungsfrequenz möglich ist [159]. Eine andere Studie vergleicht 1,5 g/m<sup>2</sup> mit 2 g/m<sup>2</sup> und zeigt, dass in der geringeren Dosierung die Apherese tendenziell weniger Apheresesitzungen erforderlich sind, im Median ähnliche Zellzahlen mobilisiert werden können und der Beginn der Apherese zuverlässig an Tag sieben oder acht möglich war, während bei 2 g/m<sup>2</sup> der Beginn von Tag 8–15 schwankte [160]. Konträr hierzu berichten andere Autoren, dass unter 1,5 g/m<sup>2</sup> signifikant häufiger Mobilisationsversagen und geringere CD34<sup>+</sup>-Zellzahlen im peripheren Blut beobachtet werden konnte [161].

Somit vereinen unsere Daten beide Erkenntnisse - eine ausreichende Mobilisation mit im Median höheren Zellzahlen unter der reduzierten Dosierung ist möglich, jedoch mit einem gering höheren Risiko eines schlechten Mobilisationsergebnisses. Ein Versagen der Mobilisation trat bei keinem Patienten auf.

Sowohl unter der Mobilisation mit 2x2 g/m<sup>2</sup> als auch unter den reduzierten Dosierungen traten **Nebenwirkungen** auf, allerdings unter den reduzierten Dosierungen keine Todesfälle, keine hämorrhagische Zystitis, seltener Fieber in Aplasie und weniger Durchfälle. Hämorrhagische Zystitis und Durchfälle gelten als typische Nebenwirkungen von Cyclophosphamid. Die Ergebnisse stehen im Einklang mit den Ergebnissen aus onkologischen Studien: so konnte zum Beispiel Jantunen et al. bei Patienten mit multiplen Myelom zeigen, dass 1,2–2 g/m<sup>2</sup> ebenso effektiv wie 4 g/m<sup>2</sup> Cyclophosphamid Stammzellen mobilisieren,

jedoch signifikant weniger Fieber hatten, kürzere Krankenhausaufenthalte und weniger Plättchentransfusionen benötigten [157]. Ähnliches konnte auch in einer italienischen Registerstudie nachgewiesen werden - unter  $2 \times 2 \text{ g/m}^2$  kann eine ähnliche Menge an Stammzellen gesammelt werden wie unter höheren Dosierungen, lediglich unter GCSF alleine war eine signifikant verminderte Zahl gesammelt worden; Plerixafor konnte bei Bedarf gegeben werden und war mit deutlichem Abstand unter GCSF alleine am häufigsten verwendet worden [158]. Somit scheint auch für SSc-Patienten eine geringere Frequenz an Nebenwirkungen unter den reduzierten Dosierungen aufzutreten.

Diese Auswertung unterliegt mehreren Einschränkungen: sie beruht auf alten Daten, die zudem über einen langen Zeitraum generiert und retrospektiv erhoben wurden. Die Patientenzahl ist gering und auf die verschiedenen Therapieregime ungleich verteilt.

Wir konnten trotzdem in dieser Auswertung zeigen, dass bei Reduktion der Cyclophosphamidosis als auch die Reduktion der GCSF-Dosis eine ausreichende Mobilisation mit verminderter Nebenwirkungsrate möglich ist, ohne eine starke Zunahme von schlechten Mobilisierern in Kauf nehmen zu müssen. In der Studiengruppe waren mehrere Maßnahmen zur Erhöhung der Stammzellausbeute erfolgreich, zum einen die Erhöhung der Apheresetage, die Erhöhung der GCSF-Dosis vor Beginn der Apherese und die Anwendung von Plerixafor. Nach unserem Kenntnisstand handelt es sich um die erste Arbeit, die Daten zur Mobilisationstherapie und schlechten Mobilisationsergebnissen bei der seltenen Erkrankung SSc auswertet.

## **5 Zusammenfassung**

SSc ist eine seltene Autoimmunerkrankung, die vaskulopathische Veränderungen und eine exzessive Ansammlung von Kollagen und anderen Matrixproteinen in der Haut und nahezu allen Organen verursachen kann. Therapiemöglichkeiten umfassen Immunsuppression und symptomatische Behandlung, bei schnell progressiver SSc gilt eine autologe Stammzelltransplantation als Möglichkeit, das autoimmun reagierende

Immunsystem zu reseten und so die krankheitsbedingten Veränderungen zu stoppen. Im Rahmen der Mobilisationstherapie kommen verschiedene Regimes zum Einsatz, in aller Regel Cyclophosphamid und GCSF in unterschiedlichen Dosierungen. Daten zu Mobilisationsergebnissen, SM und Nebenwirkungen unter den verschiedenen Cyclophosphamid- und GCSF-Dosierungen in der Mobilisationstherapie bei der seltenen Erkrankung SSc wurden bisher nach unserem Kenntnisstand nicht publiziert.

Wir untersuchten daher 32 SSc-Patienten, die im Zeitraum von 1997 bis Mai 2012 in Tübingen eine autologe Stammzelltransplantation erhielten, auf Eigenschaften, die auf ein schlechtes Mobilisationsergebnis hinweisen können, sowie auf Unterschiede im Mobilisationsergebnis bei verschiedenen Cyclophosphamid- und GCSF-Dosierungen. Die Datenerhebung erfolgte retrospektiv, die Auswertung aufgrund der geringen Fallzahlen überwiegend deskriptiv.

Für eine immunologische Rekonstitution gilt eine Mindestzellzahl von  $2 \times 10^6$  CD34<sup>+</sup>-Zellen/kg Körpergewicht als notwendig. Als schlechte SM werteten wir entsprechend Patienten, die weniger als  $2 \times 10^6$  CD34<sup>+</sup>-Zellen/kg Körpergewicht mobilisierten und/oder mehr als zwei Leukapheresetage benötigten. Wir werteten aus, ob patientenbedingte Eigenschaften wie Gewicht, BMI, Alter bei Mobilisation, mRSS, Befall der verschiedenen Organsysteme und Antikörperprofil oder therapiebedingte Eigenschaften wie zum Beispiel eine Vortherapie mit Cyclophosphamid, Rituximab, immunsuppressiv oder immunmodulierend wirkender Medikation vorab Hinweise auf ein schlechtes Mobilisationsergebnis gaben. Zusätzlich betrachteten wir die verschiedenen verwendeten Mobilisationstherapien mit den Cyclophosphamiddosierungen von 2x2 g, 2x1,5 g und 2x1 g, die Verwendung von Filgrastim und Lenograstim in Dosierungen von 10 µg/Tag und 5 µg/Tag.

Männer waren etwas häufiger SM als Frauen (Fisher's Exact Test 0.3321 für Wahrscheinlichkeit SM größer für Männer). Signifikant mehr Frauen hatten eine Dosierung von 2x2 g/m<sup>2</sup> erhalten (Fisher's Exact Test 0.0047 für Wahrscheinlichkeit weibliches Geschlecht größer für 2x2 g/m<sup>2</sup>), sodass hier eine

Verzerrung bezüglich der Geschlechtsabhängigkeit des Status SM zu Ungunsten von männlichen Patienten bestehen könnte. In der betrachteten Studiengruppe bestand ein Zusammenhang der Mobilisationsverhaltens zu Gewicht und BMI - Frauen mit einem Gewicht unter 50 kg waren immer SM, Patienten beider biologischer Geschlechter mit einem BMI unter 18 kg/m<sup>2</sup> mobilisierten schlechter; über 23 kg/m<sup>2</sup> mobilisierten alle Patienten gut. ANA-negative Patienten waren ebenfalls deutlich häufiger SM. Alle SM hatten eine dcSSc (100 % im Vergleich zu 83,3 % der NM, Fisher's Exact Test 0.2955 für SM größer für dcSSc), der mRSS war jedoch ähnlich. Lediglich für den Befall des Herzens ließ sich ein Zusammenhang zu schlechten Mobilisationsergebnissen nachweisen (Fisher's Exact Test 0.0418), wobei aufgrund des geänderten Screenings auf eine Herzbeteiligung bei den später behandelten Patienten und die Reduktion des Mobilisationsregimes ebenfalls im späteren Verlauf hier eine Verzerrung bestehen könnte.

Bezüglich der Vortherapie schien eine Vaskulopathietherapie keinen Einfluss auf die Mobilisationsfähigkeit zu haben. Leflunomid (Fisher's Exact Test 0.25), Rituximab (0.2542), MMF (0.2237) und Cyclophosphamid (0.1925) in der Vortherapie zeigten jeweils eine Abhängigkeit ohne Signifikanz zum Status SM. Bei Cyclophosphamid hatten Summendosis oder Zyklenzahl keine Auswirkung auf die Eigenschaft SM.

Die Gesamtzellzahl betrug im Median in der 2x2 g/m<sup>2</sup>-Gruppe 8,03x10<sup>9</sup> Zellen (3,04–16,56x10<sup>9</sup> Zellen), in der Gruppe mit reduzierter Cyclophosphamiddosierung (d.h. 2x1 g/m<sup>2</sup> und 2x1,5 g/m<sup>2</sup>) 10,68x10<sup>9</sup> Zellen (3,08-14,82x10<sup>9</sup> Zellen); die CD34<sup>+</sup>-Anteil betrug unter 2x2 g/m<sup>2</sup> 1,73 % (0,48–5,6 %) und unter der reduzierten Dosierung 2,42 % (0,54–6,13 %) – somit war der prozentuale Anteil der erwünschten Zellen in der reduzierten Dosierung sogar höher.

Die Patienten erhielten Lenograstim oder Filgrastim, wobei unter Lenograstim häufiger schlechte Mobilisationsergebnisse auftraten (0.1294 für Wahrscheinlichkeit SM größer für Lenograstim); hierbei muss allerdings beachtet werden, dass unterschiedliche Dosierungen Anwendung fanden, und

insbesondere Lenograstim bezogen auf das reale Körpergewicht in der betrachteten Studiengruppe eher niedrig dosiert war [(Median 1,4 µg/kg KG, (1,27–5,98 µg/kg KG); bei zweimaliger Applikation von Filgrastim Median 10,75 µg/kg KG (8,0–11,71 µg/kg KG), bei einmaliger Applikation von Filgrastim 5,36 µg/kg KG (4,55–6,82 µg/kg KG)]. Unter 1x5 µg/kg KG Filgrastim mobilisierten die Patienten im Median die meisten Zellen mit dem höchsten prozentualen CD34<sup>+</sup>-Anteil. Somit konnten wir zeigen, dass in der betrachteten Studiengruppe unter der niedrigen GCSF-Dosierung tendenziell mehr Zellen mobilisiert werden konnten.

Unter der reduzierten Dosis im Mobilisationsregime traten weniger Nebenwirkungen auf, 63,6 % der Patienten waren nebenwirkungsfrei im Vergleich zu 23,8 % der Patienten unter 2x2 g. In der 2x2 g-Gruppe starb ein Patient an Rechtsherzversagen (4,8 %), in der Gruppe unter der reduzierten Dosierung starb kein Patient. Unter der reduzierten Dosis bestand jedoch auch eine gering erhöhte Frequenz von SM (19,1 % der Patienten, die 2x2 g/m<sup>2</sup> erhielten und 36,4 % der Patienten mit reduzierter Dosis, Abhängigkeit ohne Signifikanz, Fisher's Exact Test 0.2561 für Wahrscheinlichkeit größer reduzierte Dosis = SM). Erfolgreiche Strategien bei SM waren die Anwendung von Plerixafor, die Erhöhung der GCSF-Dosis und eine erhöhte Zahl der Apheresesitzungen. Bei allen Patienten war die Mobilisation letztlich erfolgreich. Dennoch können wir anhand dieser Arbeit feststellen, dass eine sichere und ausreichende Mobilisation für SSc-Patienten auch unter reduzierten Dosierungen von Cyclophosphamid möglich ist.

Einschränkungen der Auswertung sind der lange Zeitraum der Datenerhebung, die geringe Patientenzahl und die unterschiedlichen Mobilisationsregimes, die für kleine und unausgewogenen Patientengruppen sorgen. Es handelt sich jedoch um die erste Arbeit, die das Thema Mobilisation bei der seltenen Erkrankung SSc behandelt und sowohl die Tatsache einer nebenwirkungsärmeren und dennoch sicheren Mobilisation unter reduzierter Dosierung nachweist als auch Hinweise auf die Eigenschaften von SM bietet.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Yazawa, N., M. Fujimoto, and K. Tamaki, *Recent advances on pathogenesis and therapies in systemic sclerosis*. Clin Rev Allergy Immunol, 2007. **33**(1-2): p. 107-12.
2. Varga, J., *Systemic sclerosis: an update*. Bull NYU Hosp Jt Dis, 2008. **66**(3): p. 198-202.
3. van den Hoogen, F., et al., *2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American College of Rheumatology/European League against Rheumatism collaborative initiative*. Arthritis Rheum, 2013. **65**(11): p. 2737-47.
4. Genth, E. and T. Krieg, *[Systemic sclerosis - diagnosis and classification]*. Z Rheumatol, 2006. **65**(4): p. 268-74.
5. Hunzelmann, N., et al., *High frequency of corticosteroid and immunosuppressive therapy in patients with systemic sclerosis despite limited evidence for efficacy*. Arthritis Res Ther, 2009. **11**(2): p. R30.
6. Strehlow, D. and J.H. Korn, *Biology of the scleroderma fibroblast*. Curr Opin Rheumatol, 1998. **10**(6): p. 572-8.
7. Binks, M., et al., *Phase I/II trial of autologous stem cell transplantation in systemic sclerosis: procedure related mortality and impact on skin disease*. Ann Rheum Dis, 2001. **60**(6): p. 577-84.
8. Abraham, D.J., et al., *Overview of pathogenesis of systemic sclerosis*. Rheumatology (Oxford), 2009. **48 Suppl 3**: p. iii3-7.
9. Vadasz, Z. and D. Rimar, *New potential biomarkers for disease activity and fibrosis in systemic sclerosis*. Isr Med Assoc J, 2014. **16**(10): p. 629-30.
10. Van Laar, J.M. and A. Tyndall, *Intense immunosuppression and stem-cell transplantation for patients with severe rheumatic autoimmune disease: a review*. Cancer Control, 2003. **10**(1): p. 57-65.
11. Elhai, M., et al., *Systemic sclerosis: Recent insights*. Joint Bone Spine, 2015. **82**(3): p. 148-153.
12. Johnson, S.R., *New ACR EULAR guidelines for systemic sclerosis classification*. Curr Rheumatol Rep, 2015. **17**(5): p. 32.
13. Moinzadeh, P., et al., *Disease progression in systemic sclerosis-overlap syndrome is significantly different from limited and diffuse cutaneous systemic sclerosis*. Ann Rheum Dis, 2015. **74**(4): p. 730-7.
14. Denton, C.P. and D. Khanna, *Systemic sclerosis*. Lancet, 2017. **390**(10103): p. 1685-1699.
15. Hachulla, E. and D. Launay, *Diagnosis and classification of systemic sclerosis*. Clin Rev Allergy Immunol, 2011. **40**(2): p. 78-83.
16. Frerix, M., F.M. Meier, and U. Muller-Ladner, *[The road to early diagnosis of systemic sclerosis : the evolution of diagnostic and classification criteria in the past decades]*. Z Rheumatol, 2013. **72**(10): p. 954-9.
17. Ingegnoli, F., N. Ughi, and C. Mihai, *Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of systemic sclerosis*. Best Practice & Research Clinical Rheumatology, 2018. **32**(2): p. 223-240.
18. Steen, V.D., D.L. Powell, and T.A. Medsger, Jr., *Clinical correlations and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis*. Arthritis Rheum, 1988. **31**(2): p. 196-203.
19. Catoggio, L.J., et al., *Autoantibodies in Argentine patients with systemic sclerosis (scleroderma)*. Arthritis Rheum, 1985. **28**(6): p. 715-7.
20. Bryan, C., et al., *Survival following the onset of scleroderma: results from a retrospective inception cohort study of the UK patient population*. Br J Rheumatol, 1996. **35**(11): p. 1122-6.
21. Walker, U.A., et al., *Clinical risk assessment of organ manifestations in systemic sclerosis: a report from the EULAR Scleroderma Trials And Research group database*. Ann Rheum Dis, 2007. **66**(6): p. 754-63.
22. Mayes, M.D., et al., *Prevalence, incidence, survival, and disease characteristics of systemic sclerosis in a large US population*. Arthritis Rheum, 2003. **48**(8): p. 2246-55.
23. Ranque, B. and L. Mouthon, *Geoepidemiology of systemic sclerosis*. Autoimmun Rev, 2010. **9**(5): p. A311-8.

24. Chiffлот, H., et al., *Incidence and prevalence of systemic sclerosis: a systematic literature review*. Semin Arthritis Rheum, 2008. **37**(4): p. 223-35.
25. Nelson, J.L., *Microchimerism and the pathogenesis of systemic sclerosis*. Curr Opin Rheumatol, 1998. **10**(6): p. 564-71.
26. von Mühlen, C.A. and E.M. Tan, *Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases*. Semin Arthritis Rheum, 1995. **24**(5): p. 323-58.
27. Hietarinta, M. and O. Lassila, *Clinical significance of antinuclear antibodies in systemic rheumatic diseases*. Ann Med, 1996. **28**(4): p. 283-91.
28. Steen, V.D., et al., *Clinical and laboratory associations of anticentromere antibody in patients with progressive systemic sclerosis*. Arthritis Rheum, 1984. **27**(2): p. 125-31.
29. Kirby, D.F. and S. Chatterjee, *Evaluation and management of gastrointestinal manifestations in scleroderma*. Curr Opin Rheumatol, 2014. **26**(6): p. 621-9.
30. Hanke, K., et al., *Antibodies against PM/Scl-75 and PM/Scl-100 are independent markers for different subsets of systemic sclerosis patients*. Arthritis Res Ther, 2009. **11**(1): p. R22.
31. Sticherling, M., *Systemische Sklerodermie – die dermatologische Sicht*. JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, 2019. **17**(7): p. 716-729.
32. Maeda, M., et al., *Pitting scars in progressive systemic sclerosis*. Dermatology, 1993. **187**(2): p. 104-8.
33. Khanna, D., et al., *Standardization of the modified Rodnan skin score for use in clinical trials of systemic sclerosis*. Journal of scleroderma and related disorders, 2017. **2**(1): p. 11-18.
34. Clements, P.J., et al., *Skin thickness score as a predictor and correlate of outcome in systemic sclerosis: High-dose versus low-dose penicillamine trial*. Arthritis & Rheumatism, 2000. **43**(11): p. 2445-2454.
35. Tyndall, A.J., et al., *Causes and risk factors for death in systemic sclerosis: a study from the EULAR Scleroderma Trials and Research (EUSTAR) database*. Ann Rheum Dis, 2010. **69**(10): p. 1809-15.
36. Nagy, Z. and L. Czirjak, *Predictors of survival in 171 patients with systemic sclerosis (scleroderma)*. Clin Rheumatol, 1997. **16**(5): p. 454-60.
37. Schinke, S. and G. Riemekasten, *[Systemic sclerosis]*. Internist (Berl), 2019. **60**(12): p. 1251-1269.
38. Caron, M., et al., *Pulmonary function tests as outcomes for systemic sclerosis interstitial lung disease*. Eur Respir Rev, 2018. **27**(148).
39. Cottin, V. and K.K. Brown, *Interstitial lung disease associated with systemic sclerosis (SSc-ILD)*. Respir Res, 2019. **20**(1): p. 13.
40. Lefevre, G., et al., *Survival and prognostic factors in systemic sclerosis-associated pulmonary hypertension: a systematic review and meta-analysis*. Arthritis Rheum, 2013. **65**(9): p. 2412-23.
41. Hoeper, M.M., et al., *Definitions and Diagnosis of Pulmonary Hypertension*. Journal of the American College of Cardiology, 2013. **62**(25\_Supplement): p. D42-D50.
42. Le Pavec, J., et al., *Systemic sclerosis-related pulmonary hypertension associated with interstitial lung disease: impact of pulmonary arterial hypertension therapies*. Arthritis Rheum, 2011. **63**(8): p. 2456-64.
43. Steen, V.D. and T.A. Medsger, Jr., *Severe organ involvement in systemic sclerosis with diffuse scleroderma*. Arthritis Rheum, 2000. **43**(11): p. 2437-44.
44. Altman, R.D., et al., *Predictors of survival in systemic sclerosis (scleroderma)*. Arthritis Rheum, 1991. **34**(4): p. 403-13.
45. Hashimoto, A., et al., *Predictors of survival and causes of death in Japanese patients with systemic sclerosis*. J Rheumatol, 2011. **38**(9): p. 1931-9.
46. Kumar, S., et al., *Review article: pathogenesis and clinical manifestations of gastrointestinal involvement in systemic sclerosis*. Aliment Pharmacol Ther, 2017. **45**(7): p. 883-898.
47. Bütikofer, L., et al., *ACE inhibitors in SSc patients display a risk factor for scleroderma renal crisis-a EUSTAR analysis*. Arthritis Res Ther, 2020. **22**(1): p. 59.
48. van Bekkum, D.W., *Stem cell transplantation in experimental models of autoimmune disease*. J Clin Immunol, 2000. **20**(1): p. 10-6.

49. Medsger, T.A., Jr., et al., *Survival with systemic sclerosis (scleroderma). A life-table analysis of clinical and demographic factors in 309 patients.* Ann Intern Med, 1971. **75**(3): p. 369-76.
50. Jaeger, V.K., et al., *Incidences and Risk Factors of Organ Manifestations in the Early Course of Systemic Sclerosis: A Longitudinal EUSTAR Study.* PLoS One, 2016. **11**(10): p. e0163894.
51. *Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee.* Arthritis Rheum, 1980. **23**(5): p. 581-90.
52. Nikpour, M. and M. Baron, *Mortality in systemic sclerosis: lessons learned from population-based and observational cohort studies.* Curr Opin Rheumatol, 2014. **26**(2): p. 131-7.
53. Steen, V.D., et al., *Pulmonary involvement in systemic sclerosis (scleroderma).* Arthritis Rheum, 1985. **28**(7): p. 759-67.
54. Rubio-Rivas, M., et al., *Mortality and survival in systemic sclerosis: Systematic review and meta-analysis.* Seminars in Arthritis and Rheumatism, 2014. **44**(2): p. 208-219.
55. Elhai, M., et al., *Trends in mortality in patients with systemic sclerosis over 40 years: a systematic review and meta-analysis of cohort studies.* Rheumatology (Oxford), 2012. **51**(6): p. 1017-26.
56. Elhai, M., et al., *Mapping and predicting mortality from systemic sclerosis.* Ann Rheum Dis, 2017. **76**(11): p. 1897-1905.
57. Onishi, A., et al., *Cancer incidence in systemic sclerosis: meta-analysis of population-based cohort studies.* Arthritis Rheum, 2013. **65**(7): p. 1913-21.
58. Forbes, A.M., et al., *CARCINOMA OF BREAST AND SCLERODERMA: FOUR FURTHER CASES AND A LITERATURE REVIEW.* Rheumatology, 1989. **28**(1): p. 65-69.
59. Hill, C.L., et al., *Risk of cancer in patients with scleroderma: a population based cohort study.* Ann Rheum Dis, 2003. **62**(8): p. 728-31.
60. Abu-Shakra, M., F. Guillemin, and P. Lee, *Cancer in systemic sclerosis.* Arthritis Rheum, 1993. **36**(4): p. 460-4.
61. Bruni, C., et al., *Resolution of paraneoplastic PM/Scl-positive systemic sclerosis after curative resection of a pancreatic tumour.* Rheumatology (Oxford), 2017. **56**(2): p. 317-318.
62. Shah, A.A. and L. Casciola-Rosen, *Mechanistic and clinical insights at the scleroderma-cancer interface.* Journal of scleroderma and related disorders, 2017. **2**(3): p. 153-159.
63. Merkel, P.A., *Measurement of functional status, self-assessment, and psychological well-being in scleroderma.* Curr Opin Rheumatol, 1998. **10**(6): p. 589-94.
64. Pope, J., *Measures of systemic sclerosis (scleroderma): Health Assessment Questionnaire (HAQ) and Scleroderma HAQ (SHAQ), Physician- and Patient-Rated Global Assessments, Symptom Burden Index (SBI), University of California, Los Angeles, Scleroderma Clinical Trials Consortium Gastrointestinal Scale (UCLA SCTC GIT) 2.0, Baseline Dyspnea Index (BDI) and Transition Dyspnea Index (TDI) (Mahler's Index), Cambridge Pulmonary Hypertension Outcome Review (CAMPHOR), and Raynaud's Condition Score (RCS).* Arthritis Care & Research, 2011. **63**(S11): p. S98-S111.
65. Schmalzing, M., et al., *Sexual function in German women with systemic sclerosis compared to women with systemic lupus erythematosus and evaluation of a screening test.* Clin Exp Rheumatol, 2020. **38 Suppl 125**(3): p. 59-64.
66. Kowal-Bielecka, O., et al., *Update of EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis.* Ann Rheum Dis, 2017. **76**(8): p. 1327-1339.
67. Coleiro, B., et al., *Treatment of Raynaud's phenomenon with the selective serotonin reuptake inhibitor fluoxetine.* Rheumatology, 2001. **40**(9): p. 1038-1043.
68. Hachulla, E., et al., *Efficacy of sildenafil on ischaemic digital ulcer healing in systemic sclerosis: the placebo-controlled SEDUCE study.* Annals of the Rheumatic Diseases, 2016. **75**(6): p. 1009-1015.
69. Kuwana, M. and A. Azuma, *Nintedanib: New indication for systemic sclerosis-associated interstitial lung disease.* Modern Rheumatology, 2020. **30**(2): p. 225-231.

70. Distler, O., et al., *Nintedanib for Systemic Sclerosis-Associated Interstitial Lung Disease*. *N Engl J Med*, 2019. **380**(26): p. 2518-2528.
71. Tashkin, D.P., et al., *Cyclophosphamide versus Placebo in Scleroderma Lung Disease*. *New England Journal of Medicine*, 2006. **354**(25): p. 2655-2666.
72. Tehlirian, C.V., et al., *High-dose cyclophosphamide without stem cell rescue in scleroderma*. *Ann Rheum Dis*, 2008. **67**(6): p. 775-81.
73. Tashkin, D.P., et al., *Effects of 1-Year Treatment with Cyclophosphamide on Outcomes at 2 Years in Scleroderma Lung Disease*. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2007. **176**(10): p. 1026-1034.
74. Tashkin, D.P., et al., *Mycophenolate mofetil versus oral cyclophosphamide in scleroderma-related interstitial lung disease (SLS II): a randomised controlled, double-blind, parallel group trial*. *Lancet Respir Med*, 2016. **4**(9): p. 708-719.
75. Volkmann, E.R., et al., *Mycophenolate Mofetil Versus Placebo for Systemic Sclerosis-Related Interstitial Lung Disease: An Analysis of Scleroderma Lung Studies I and II*. *Arthritis Rheumatol*, 2017. **69**(7): p. 1451-1460.
76. GmbH, R.R., *Fachinformation Rituximab*. 03/2020.
77. Jordan, S., et al., *Effects and safety of rituximab in systemic sclerosis: an analysis from the European Scleroderma Trial and Research (EUSTAR) group*. *Ann Rheum Dis*, 2015. **74**(6): p. 1188-94.
78. Burt, R.K., et al., *Autologous non-myeloablative haemopoietic stem-cell transplantation compared with pulse cyclophosphamide once per month for systemic sclerosis (ASSIST): an open-label, randomised phase 2 trial*. *The Lancet*. **378**(9790): p. 498-506.
79. Sullivan, K.M., et al., *Myeloablative Autologous Stem-Cell Transplantation for Severe Scleroderma*. *N Engl J Med*, 2018. **378**(1): p. 35-47.
80. Farge, D., R. Nash, and J.M. Laar, *Autologous stem cell transplantation for systemic sclerosis*. *Autoimmunity*, 2008. **41**(8): p. 616-24.
81. To, L.B., J.P. Levesque, and K.E. Herbert, *How I treat patients who mobilize hematopoietic stem cells poorly*. *Blood*, 2011. **118**(17): p. 4530-40.
82. Ltd., C.P.M., *Fachinformation Granozyte*. 2011.
83. GmbH, A., *Fachinformation Neupogen*. 2011.
84. Arslan, Ö. and R. Moog, *Mobilization of peripheral blood stem cells*. *Transfusion and Apheresis Science*, 2007. **37**(2): p. 179-185.
85. Pérez, R., et al., *Clinical features and survival of 338 multiple myeloma patients treated with hematopoietic stem cell transplantation or conventional chemotherapy*. *Eur J Haematol*, 2016. **96**(4): p. 417-24.
86. Nevo, S., et al., *Acute Bleeding After Bone Marrow Transplantation (BMT)– Incidence and Effect on Survival. A Quantitative Analysis in 1,402 Patients*. *Blood*, 1998. **91**(4): p. 1469-1477.
87. Saba, N., R. Abraham, and A. Keating, *Overview of autologous stem cell transplantation*. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2000. **36**(1): p. 27-48.
88. Mossad, S.B., et al., *Early infectious complications in autologous bone marrow transplantation: a review of 219 patients*. *Bone Marrow Transplant*, 1996. **18**(2): p. 265-71.
89. Stamm, S.L., et al., *Symptom prevalence and health-related quality of life in patients undergoing autologous stem cell transplantation - A longitudinal observational study*. *Eur J Oncol Nurs*, 2021. **53**: p. 101997.
90. Sherman, A.C., et al., *Changes in Quality-of-Life and Psychosocial Adjustment among Multiple Myeloma Patients Treated with High-Dose Melphalan and Autologous Stem Cell Transplantation*. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 2009. **15**(1): p. 12-20.
91. Naegele, M., et al., *Symptom experience of multiple myeloma (syMMex) patients treated with autologous stem cell transplantation following high-dose melphalan: a descriptive longitudinal study*. *Support Care Cancer*, 2018. **26**(3): p. 833-841.
92. Anderson, K.O., et al., *Symptom burden in patients undergoing autologous stem-cell transplantation*. *Bone Marrow Transplant*, 2007. **39**(12): p. 759-66.
93. Gratwohl, A., et al., *Stem cell transplantation for autoimmune diseases*. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 2001. **14**(4): p. 755-776.

94. Marmont, A.M., *New horizons in the treatment of autoimmune diseases: immunoablation and stem cell transplantation*. *Annu Rev Med*, 2000. **51**: p. 115-34.
95. Kotter, I., et al., [*Current value of stem-cell transplantation in autoimmune diseases*]. *Z Rheumatol*, 2008. **67**(8): p. 716-22.
96. Henes, J., et al., *Autologous stem cell transplantation for progressive systemic sclerosis: a prospective non-interventional study from the European Society for Blood and Marrow Transplantation Autoimmune Disease Working Party*. *Haematologica*, 2020.
97. van Laar, J.M., et al., *Autologous hematopoietic stem cell transplantation vs intravenous pulse cyclophosphamide in diffuse cutaneous systemic sclerosis: a randomized clinical trial*. *Jama*, 2014. **311**(24): p. 2490-8.
98. Karagiannis, P., et al., *Intensive Care Outcomes of Patients after High Dose Chemotherapy and Subsequent Autologous Stem Cell Transplantation: A Retrospective, Single Centre Analysis*. *Cancers*, 2020. **12**(6): p. 1678.
99. Bergin, K., et al., *Real-world utilisation of ASCT in multiple myeloma (MM): a report from the Australian and New Zealand myeloma and related diseases registry (MRDR)*. *Bone Marrow Transplant*, 2021.
100. Gertz, M.A., et al., *Autologous Stem Cell Transplant in 716 Patients With Multiple Myeloma: Low Treatment-Related Mortality, Feasibility of Outpatient Transplant, and Effect of a Multidisciplinary Quality Initiative- Abstract*. *Mayo Clinic Proceedings*, 2008. **83**(10): p. 1131-1135.
101. Hugle, T. and J.M. van Laar, *Stem cell transplantation for rheumatic autoimmune diseases*. *Arthritis Res Ther*, 2008. **10**(5): p. 217.
102. Host, L., et al., *Autologous stem cell transplantation in systemic sclerosis: a systematic review*. *Clin Exp Rheumatol*, 2017. **35 Suppl 106**(4): p. 198-207.
103. Nash, R.A., et al., *High-dose immunosuppressive therapy and autologous hematopoietic cell transplantation for severe systemic sclerosis: long-term follow-up of the US multicenter pilot study*. *Blood*, 2007. **110**(4): p. 1388-96.
104. Tyndall, A. and M. Matucci-Cerinic, *Haematopoietic stem cell transplantation for the treatment of systemic sclerosis and other autoimmune disorders*. *Expert Opin Biol Ther*, 2003. **3**(7): p. 1041-9.
105. Marmont, A.M., *Stem cell transplantation for severe autoimmune diseases: progress and problems*. *Haematologica*, 1998. **83**(8): p. 733-43.
106. Karthaus, M., et al., *Immune thyroiditis after transplantation of allogeneic CD34+ selected peripheral blood cells*. *Bone Marrow Transplant*, 1997. **20**(8): p. 697-9.
107. Snowden, J.A., et al., *Haematopoietic SCT in severe autoimmune diseases: updated guidelines of the European Group for Blood and Marrow Transplantation*. *Bone Marrow Transplant*, 2012. **47**(6): p. 770-90.
108. Tyndall, A. and A. Gratwohl, *Blood and marrow stem cell transplants in autoimmune disease. A consensus report written on behalf of the European League Against Rheumatism (EULAR) and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT)*. *Br J Rheumatol*, 1997. **36**(3): p. 390-2.
109. Farge, D., et al., *Autologous hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases: an observational study on 12 years' experience from the European Group for Blood and Marrow Transplantation Working Party on Autoimmune Diseases*. *Haematologica*, 2010. **95**(2): p. 284-92.
110. Milanetti, F., et al., *Autologous hematopoietic stem cell transplantation for systemic sclerosis*. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2011. **6**(1): p. 16-28.
111. Tyndall, A., J. Passweg, and A. Gratwohl, *Haemopoietic stem cell transplantation in the treatment of severe autoimmune diseases 2000*. *Ann Rheum Dis*, 2001. **60**(7): p. 702-7.
112. Ng, S.A. and K.M. Sullivan, *Application of stem cell transplantation in autoimmune diseases*. *Curr Opin Hematol*, 2019. **26**(6): p. 392-398.
113. Craciunescu, O.I., et al., *Renal shielding and dosimetry for patients with severe systemic sclerosis receiving immunoablation with total body irradiation in the scleroderma: cyclophosphamide or transplantation trial*. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2011. **79**(4): p. 1248-55.

114. Farge, D., et al., *Autologous bone marrow transplantation in the treatment of refractory systemic sclerosis: early results from a French multicentre phase I-II study*. Br J Haematol, 2002. **119**(3): p. 726-39.
115. Mendonca, L.L. and A. Tyndall, *Bone marrow transplantation in the treatment of autoimmune diseases: evolving concepts and early experience*. Lupus, 1997. **6**(7): p. 561-3.
116. McSweeney, P.A., et al., *High-dose immunosuppressive therapy for severe systemic sclerosis: initial outcomes*. Blood, 2002. **100**(5): p. 1602-10.
117. Oliveira, M.C., et al., *Does ex vivo CD34+ positive selection influence outcome after autologous hematopoietic stem cell transplantation in systemic sclerosis patients?* Bone Marrow Transplant, 2015.
118. Ayano, M., et al., *CD34-selected versus unmanipulated autologous haematopoietic stem cell transplantation in the treatment of severe systemic sclerosis: a post hoc analysis of a phase I/II clinical trial conducted in Japan*. Arthritis Res Ther, 2019. **21**(1): p. 30.
119. Spierings, J., et al., *A randomised, open-label trial to assess the optimal treatment strategy in early diffuse cutaneous systemic sclerosis: the UPSIDE study protocol*. BMJ Open, 2021. **11**(3): p. e044483.
120. EBMT/EULAR, *ASTIS Trial Protocol*, EBMT/EULAR, Editor. 06/2008.
121. Bender, J.G., et al., *Defining a Therapeutic Dose of Peripheral Blood Stem Cells*. Journal of Hematotherapy, 1992. **1**(4): p. 329-341.
122. Herbert, K.E., et al., *How we mobilize haemopoietic stem cells*. Intern Med J, 2011. **41**(8): p. 588-94.
123. Kurnaz, F. and L. Kaynar, *Peripheral blood stem cell mobilization failure*. Transfusion and Apheresis Science, 2015. **53**(1): p. 3-7.
124. Bozdog, S.C. and O. Ilhan, *Peripheral blood stem cell mobilization and collection from elderly patients and elderly healthy donor*. Transfus Apher Sci, 2015. **53**(1): p. 8-12.
125. Costa, L.J., et al., *Prediction of Poor Mobilization of Autologous CD34+ Cells with Growth Factor in Multiple Myeloma Patients: Implications for Risk-Stratification*. Biology of Blood and Marrow Transplantation, 2014. **20**(2): p. 222-228.
126. Fruehauf, S. and R. Seggewiss, *It's moving day: factors affecting peripheral blood stem cell mobilization and strategies for improvement [corrected]*. Br J Haematol, 2003. **122**(3): p. 360-75.
127. Hopman, R.K. and J.F. DiPersio, *Advances in stem cell mobilization*. Blood Rev, 2014. **28**(1): p. 31-40.
128. Giralt, S., et al., *Optimizing autologous stem cell mobilization strategies to improve patient outcomes: consensus guidelines and recommendations*. Biol Blood Marrow Transplant, 2014. **20**(3): p. 295-308.
129. Statkute, L., et al., *Mobilization, harvesting and selection of peripheral blood stem cells in patients with autoimmune diseases undergoing autologous hematopoietic stem cell transplantation*. Bone Marrow Transplantation, 2007. **39**(6): p. 317-329.
130. Ings, S.J., et al., *Peripheral blood stem cell yield in 400 normal donors mobilised with granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF): impact of age, sex, donor weight and type of G-CSF used*. Br J Haematol, 2006. **134**(5): p. 517-25.
131. Fadilah, S.A.W., et al., *Predictors of the yield of mobilized peripheral blood CD34+ cells in HLA-matched sibling donor*. Transfusion and Apheresis Science, 2013. **49**(3): p. 583-589.
132. Wang, T.F., et al., *Factors associated with peripheral blood stem cell yield in volunteer donors mobilized with granulocyte colony-stimulating factors: the impact of donor characteristics and procedural settings*. Biol Blood Marrow Transplant, 2008. **14**(11): p. 1305-11.
133. Fransen, J., et al., *Clinical prediction of 5-year survival in systemic sclerosis: validation of a simple prognostic model in EUSTAR centres*. Annals of the Rheumatic Diseases, 2011. **70**(10): p. 1788.
134. Farhadfar, N., et al., *Weighty choices: selecting optimal G-CSF doses for stem cell mobilization to optimize yield*. Blood Advances, 2020. **4**(4): p. 706-716.

135. Vasu, S., et al., *Donor demographic and laboratory predictors of allogeneic peripheral blood stem cell mobilization in an ethnically diverse population*. *Blood*, 2008. **112**(5): p. 2092-2100.
136. Chen, J., et al., *Donor body mass index is an important factor that affects peripheral blood progenitor cell yield in healthy donors after mobilization with granulocyte-colony-stimulating factor*. *Transfusion*, 2014. **54**(1): p. 203-210.
137. Khouri, J., et al., *Body mass index does not impact hematopoietic progenitor cell mobilization for autologous hematopoietic cell transplantation*. *J Clin Apher*, 2019. **34**(6): p. 638-645.
138. Donmez, A., et al., *Risk factors for a poor hematopoietic stem cell mobilization*. *Transfus Apher Sci*, 2013. **49**(3): p. 485-8.
139. Suzuya, H., et al., *Factors associated with granulocyte colony-stimulating factor-induced peripheral blood stem cell yield in healthy donors*. *Vox Sanguinis*, 2005. **89**(4): p. 229-235.
140. Strickland, G., et al., *Mortality in systemic sclerosis-a single centre study from the UK*. *Clin Rheumatol*, 2013. **32**(10): p. 1533-9.
141. De La Rubia, J., et al., *Analysis of factors associated with low peripheral blood progenitor cell collection in normal donors*. *Transfusion*, 2002. **42**(1): p. 4-9.
142. Anderlini, P., et al., *Factors affecting mobilization of CD34+ cells in normal donors treated with filgrastim*. *Transfusion*, 1997. **37**(5): p. 507-512.
143. Clements, P.J., et al., *Skin score. A semiquantitative measure of cutaneous involvement that improves prediction of prognosis in systemic sclerosis*. *Arthritis Rheum*, 1990. **33**(8): p. 1256-63.
144. Domsic, R.T., et al., *Skin thickness progression rate: a predictor of mortality and early internal organ involvement in diffuse scleroderma*. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2011. **70**(1): p. 104.
145. Farge, D., et al., *Cardiopulmonary assessment of patients with systemic sclerosis for hematopoietic stem cell transplantation: recommendations from the European Society for Blood and Marrow Transplantation Autoimmune Diseases Working Party and collaborating partners*. *Bone Marrow Transplant*, 2017. **52**(11): p. 1495-1503.
146. Saccardi, R., et al., *Consensus statement concerning cardiotoxicity occurring during haematopoietic stem cell transplantation in the treatment of autoimmune diseases, with special reference to systemic sclerosis and multiple sclerosis*. *Bone Marrow Transplantation*, 2004. **34**(10): p. 877-881.
147. Gertz, M.A., *review: Current status of stem cell mobilization*. *British Journal of Haematology*, 2010. **150**(6): p. 647-662.
148. Kopf, B., et al., *A randomized study comparing filgrastim versus lenograstim versus molgramostim plus chemotherapy for peripheral blood progenitor cell mobilization*. *Bone Marrow Transplant*, 2006. **38**(6): p. 407-12.
149. Morton, J., et al., *Predictors for optimal mobilization and subsequent engraftment of peripheral blood progenitor cells following intermediate dose cyclophosphamide and G-CSF*. *Leuk Res*, 1997. **21**(1): p. 21-7.
150. Kotasek, D., et al., *Factors affecting blood stem cell collections following high-dose cyclophosphamide mobilization in lymphoma, myeloma and solid tumors*. *Bone Marrow Transplant*, 1992. **9**(1): p. 11-7.
151. Fischer, J.C., et al., *Superior mobilisation of haematopoietic progenitor cells with glycosylated G-CSF in male but not female unrelated stem cell donors*. *Br J Haematol*, 2005. **130**(5): p. 740-6.
152. Ria, R., et al., *Comparison between filgrastim and lenograstim plus chemotherapy for mobilization of PBPCs*. *Bone Marrow Transplant*, 2010. **45**(2): p. 277-81.
153. Ataergin, S., et al., *Reduced dose of lenograstim is as efficacious as standard dose of filgrastim for peripheral blood stem cell mobilization and transplantation: a randomized study in patients undergoing autologous peripheral stem cell transplantation*. *Am J Hematol*, 2008. **83**(8): p. 644-8.
154. Lefrère, F., et al., *Comparison of Lenograstim vs Filgrastim Administration following Chemotherapy for Peripheral Blood Stem Cell (PBSC) Collection: A Retrospective Study of 126 Patients*. *Leukemia & Lymphoma*, 1999. **35**(5-6): p. 501-505.

155. Lefrère, F., et al., *The dose of granulocyte–colony-stimulating factor after chemoprimeing treatment does not influence apheresis yield of progenitor cells: a retrospective study of 91 cases*. Transfusion, 1999. **39**(11-12): p. 1207-1211.
156. Engelhardt, M., et al., *High- Versus Standard-Dose Filgrastim (rhG-CSF) for Mobilization of Peripheral-Blood Progenitor Cells From Allogeneic Donors and CD34+ Immunoselection*. Journal of Clinical Oncology, 1999. **17**(7): p. 2160-2160.
157. Jantunen, E., et al., *Low-dose or intermediate-dose cyclophosphamide plus granulocyte colony-stimulating factor for progenitor cell mobilisation in patients with multiple myeloma*. Bone Marrow Transplant, 2003. **31**(5): p. 347-51.
158. Zannetti, B.A., et al., *Low-Dose Cyclophosphamide versus Intermediate-High-Dose Cyclophosphamide versus Granulocyte Colony-Stimulating Factor Alone for Stem Cell Mobilization in Multiple Myeloma in the Era of Novel Agents: A Multicenter Retrospective Study*. Transplant Cell Ther, 2021. **27**(3): p. 244.e1-244.e8.
159. Keklik, M., et al., *Low-dose cyclophosphamide and granulocyte colony-stimulating factor are sufficient for peripheral blood stem cell mobilization in patients with multiple myeloma*. Transfus Apher Sci, 2020. **59**(5): p. 102844.
160. Shimura, Y., et al., *Hematopoietic progenitor cell mobilization using low-dose cyclophosphamide and granulocyte colony-stimulating factor for multiple myeloma*. Journal of Clinical Apheresis, 2013. **28**(5): p. 368-373.
161. Hamadani, M., et al., *Intermediate-Dose versus Low-Dose Cyclophosphamide and Granulocyte Colony-Stimulating Factor for Peripheral Blood Stem Cell Mobilization in Patients with Multiple Myeloma Treated with Novel Induction Therapies*. Biology of Blood and Marrow Transplantation, 2012. **18**(7): p. 1128-1135.

## 7 Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Medizinischen Klinik II- Klinik für Hämatologie, Onkologie, klinische Immunologie und Rheumatologie unter Betreuung von Prof. Dr. Jörg Henes durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Prof. Dr. Jörg Henes. Die retrospektive Datenerhebung wurde durch Prof. Dr. Jörg Henes und mich durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung durch das Institut für Biometrie durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbständig nach Anleitung durch Prof. Dr. Jörg Henes verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den 22.11.2021

Angelehnt an: Vorschlag Erklärung zum Eigenanteil der medizinischen Fakultät  
Tübingen, Juli 2015