

Aus der Poliklinik für Rheumatologie

der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. med. W. L. Gross

**Effektivität von Rituximab bei der therapierefraktären
Granulomatose mit Polyangiitis (M. Wegener)**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Universität zu Lübeck

-Aus der Sektion Medizin-

vorgelegt von

Christin Dubrau geb. Müller

aus Cottbus

Lübeck 2012

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr.med. Julia Holle

2. Berichterstatter: Prof. Dr.med. Saleh Ibrahim

Tag der mündlichen Prüfung: 25.01.2013

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 25.01.2013

Promotionskommission der Sektion Medizin

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	6
1.1 Therapie der Granulomatose mit Polyangiitis.....	6
1.1.2. Therapie bei refraktären Verläufen.....	8
1.2. Wirkprinzip von Rituximab.....	9
1.3. Einsatzspektrum von Rituximab.....	13
1.4. Sicherheit von Rituximab bei ANCA-assoziiertes Vaskulitis.....	13
1.5. Ziel dieser Arbeit.....	14
2. Patienten und Methodik.....	15
2.1. Patientenselektion (Ein- und Ausschlusskriterien).....	15
2.2. Therapieprotokoll.....	15
2.3. Therapieüberwachung.....	16
2.3.1. Beurteilung von Krankheitsstadium, -aktivität und -ausdehnung	17
2.3.2. Serologische Untersuchungen.....	18
2.3.3. Immunologische Untersuchungen.....	18
2.3.4. Beurteilung der Nebenwirkungen.....	18
2.4. Statistik.....	19
3. Ergebnisse.....	21
3.1. Patientencharakteristika.....	21
3.2. Refraktäre Krankheitsmanifestationen vor Rituximab-Therapie.....	23
3.3. Therapieprotokoll.....	23
3.4. Reevaluation und Langzeitbeobachtung („follow-up“)......	25

3.5. Therapieansprechen.....	26
3.5.1. Ansprechen einzelner Organsysteme.....	27
3.5.2. Beeinflussung von Krankheitsaktivität, - ausdehnung und Glukokortikoid-Bedarf.....	31
3.5.3. Beeinflussung von serologischen und immunologischen Parametern	33
3.5.4. Prädiktoren für das Therapie-Ansprechen.....	34
3.6. Häufigkeit von Rezidiven.....	35
3.6. 1. Prädiktoren für das Auftreten eines Rezidivs.....	38
3.7. Nebenwirkungen.....	40
4. Diskussion.....	44
4.1. Therapieansprechen und Beeinflussung verschiedener Parameter durch Rituximab.....	44
4.1.1. Therapieansprechen in der Gesamtkohorte und Analyse der Unterschiede zu anderen bisher publizierten Daten.....	44
4.1.2. Ansprechen von granulomatösen vs. vaskulitischen Manifestationen	45
4.1.3. Prädiktoren für das Therapie-Ansprechen.....	46
4.2. Rezidive.....	48
4.2.1. Häufigkeit von Rezidiven	48
4.2.2. Prädiktoren für das Auftreten eines Rezidivs.....	50
4.3. Nebenwirkungen.....	51
5. Zusammenfassung.....	53
6. Abkürzungsverzeichnis.....	54
7. Literaturverzeichnis.....	56

8. Anhang.....	62
9. Danksagungen.....	79
10. Lebenslauf.....	80

1 Einleitung

Die Granulomatose mit Polyangiitis (GPA) gehört zu den primär systemischen Vaskulitiden (PSV) und ist durch eine granulomatöse Entzündung -führend im oberen und unteren Respirationstrakt- sowie eine nekrotisierende, prädominante Kleingefäßvaskulitis (häufig mit nekrotisierender Glomerulonephritis einhergehend) definiert (24, 31) (Anhang 1). Die GPA verläuft typischerweise in Stadien: Das lokalisierte Stadium (früher „Initialphase“), ist durch eine granulomatöse Entzündung im oberen und unteren Respirationstrakt gekennzeichnet (z.B. Rhinitis, Sinusitis, orbitale und pulmonale Granulome), ohne dass klinische Zeichen einer Vaskulitis vorliegen. In diesem Stadium weisen nur ca. 50% der Patienten einen Anti-Neutrophilen Cytoplasmatischen Antikörper (ANCA) auf (15). Das frühsystemische und generalisierte Stadium sind durch klinische Vaskulitismanifestationen gekennzeichnet, die im frühsystemischen Stadium (noch) nicht organbedrohend (z.B. Episkleritis, Purpura) und im generalisierten Stadium organbedrohend sind (Anhang 2). Klassische Manifestationen des generalisierten Stadiums sind die pulmonale Kapillaritis (mit alveolärer Hämorrhagie) und die nekrotisierende intra- und extrakapilläre Glomerulonephritis. Große Kohorten zeigen, dass im Krankheitsverlauf v.a. der HNO-Trakt, Lunge, Niere, Gelenke und auch Nerven betroffen sind, sehr selten dagegen das Herz oder der Gastrointestinaltrakt (Anhang 3). Im generalisierten Stadium weisen > 90% der Patienten einen ANCA auf (15).

Histologisch ist die GPA durch die Trias granulomatöse Entzündung, landkartenartige Nekrose und nekrotisierende Kleingefäßvaskulitis gekennzeichnet (24). Serologisch findet sich eine Assoziation mit Anti-Neutrophilen Cytoplasmatischen Antikörpern (ANCA), die bei der GPA in der indirekten Immunfluoreszenz in der Regel eine cytoplasmatische Fluoreszenz (C-ANCA) zeigen (13, 54). Das Zielantigen ist in der Regel die Proteinase 3 (PR3-ANCA), nur wenige GPA-Patienten weisen eine Assoziation mit P-/MPO-ANCA auf (Zielantigen: Myeloperoxidase, MPO).

1.1 Therapie der Granulomatose mit Polyangiitis

Die Therapie der GPA erfolgt heute evidenzbasiert in Abhängigkeit von Stadium und Aktivität (35). Die EULAR (European League Against Rheumatism) unterteilt den Therapieerfolg in Remission (vollständiges Fehlen von klinischer Krankheitsaktivität und eine Erhaltungstherapie von weniger als 7,5 mg Glukokortikoid pro Tag) oder Ansprechen (Abnahme des BVAS 3 (Birmingham Vasculitis Activity Score) um 50%). Als refraktär

gelten Patienten deren Krankheitsaktivität gemessen am BVAS 3 bei Reevaluation nicht mindestens um 50% abgenommen hat. Als Rezidiv gelten Wieder- oder Neuauftreten von Krankheitsaktivität, noch unterteilt in „Major“ und „Minor“ Rezidiv (Tbl. 1).

Therapieansprechen	Definition
Remission	vollständiges Fehlen von klinischer Krankheitsaktivität und eine Erhaltungstherapie von weniger als 7,5 mg Glukokortikoid pro Tag
Ansprechen - Verbesserung der Krankheitsaktivität - Stabilisation der Krankheitsaktivität	Abnahme des BVAS 3 um > 50% unveränderte, stabile Krankheitsmanifestation mit einer Abnahme des BVAS 3 um 50%
Refraktär	Abnahme der Krankheitsaktivität gemessen am BVAS 3 < 50% bei Reevaluation
Rezidiv - Major Rezidiv - Minor Rezidiv	Wiederauftreten oder Neuauftreten von Krankheitsaktivität Wieder- oder Neuauftreten von potentiell lebens- oder organbedrohender Krankheitsaktivität, die nicht allein durch Steigerung der Glukokortikoid-Dosis behandelt werden kann sondern eine Eskalation der Therapie erfordert (z.B. Cyclophosphamid) Wieder- oder Neuauftreten von nicht lebens- oder organbedrohender Krankheitsaktivität

Tabelle 1: EULAR Klassifikation des Therapieansprechens

Die remissionsinduzierende Therapie erfolgt bei nicht organbedrohender Erkrankung (frühsystemisches Stadium) mit Methotrexat (in Kombination mit Glukokortikoiden) (6) im generalisiertem Stadium bis vor kurzem mit Cyclophosphamid (plus Glukokortikoiden) (5). Bei Organversagen (schweres Stadium) ist ein additiver Plasmaaustausch angezeigt (23). Die Remissioninduktion erfolgt in der Regel für 3-4 Monate, danach sollte eine Remission oder ein Therapieansprechen erreicht sein und der Patient auf eine remissionserhaltende Therapie mit Azathioprin (erste Wahl), Methotrexat oder Leflunomid umgestellt werden. Die Glukokortikoidtherapie wird fortgeführt, sollte jedoch unterhalb

der Cushing-Schwellendosis (7,5 mg/Tag) liegen. Die Dauer der remissionserhaltenden Therapie ist unklar, mindestens 18 Monate werden empfohlen. Seit kurzem bietet Rituximab (monoklonaler Anti-CD20 Antikörper) auf der Basis zweier randomisierter kontrollierter Studien eine Alternative zu Cyclophosphamid in der Remissionsinduktion der generalisierten Erkrankung. Ferner kann Rituximab im schweren Stadium zur Einsparung von Cyclophosphamid eingesetzt werden (26, 50) (Tabelle 2).

Stadium	Therapie	Evidenz	Studie
Frühsystemisch	Methotrexat	1 B	NORAM (6)
Generalisiert	Cyclophosphamid	1 A/B	CYCLOPS (oral vs. i.v.) (5)
Schwer	Cyclophosphamid + Plasmaaustausch	1 B	MEPEX (23)

Tabelle 2: Stadienadaptierte Remissionsinduktion gemäß EULAR

Seit Einführung der immunsuppressiven Therapie mit Cyclophosphamid in den 70er Jahren hat sich die einst infauste Prognose der GPA konstant verbessert (7, 17, 18). Problematisch ist jedoch weiterhin die Therapie von Patienten, die auf die geschilderte Standardtherapie nicht ansprechen (sog. refraktäre Patienten). Aktuell sind ca. 15-20% der Patienten refraktär gegenüber der empfohlenen Standardtherapie (7, 17, 18). Diese refraktären Verlaufsformen finden sich nicht nur im generalisierten oder schweren Stadium, sondern insbesondere auch bei Patienten mit ausschließlich lokalisierter („granulomatöser“) Verlaufsform in bis zu 16% der Patienten (18, 39).

1.1.2. Therapie bei refraktären Verläufen

Für die Remissionsinduktion bei Versagen der Standardtherapie, d.h. in der klinischen Praxis in der Regel bei Versagen der Therapie mit Cyclophosphamid und Glukokortikoiden wurden in den letzten Jahren v.a. Biologika genutzt. Aufgrund der mangelnden Datenlage (keine kontrollierten Studien) werden von der EULAR folgende Optionen ohne Präferenz empfohlen: TNF-alpha Blocker, Rituximab (RTX), intravenöse Immunglobuline (i.v. Ig), Mycophenolat mofetil (MMF), Antithymozyten-Globulin oder 15-Desoxypergualin. Eine 2010 publizierte kontrollierte Studie konnte zeigen, dass Rituximab verglichen mit der Standardtherapie (Cyclophosphamid oral, jeweils plus Glukokortikoid) gleichwertige Remissionsraten nach 6 bzw. 12 Monaten erzielt (50). Rituximab kann daher als Alternative zu Cyclophosphamid in der Standardremissionsinduktion im generalisierten und schweren Stadium angewendet werden. Auf der Basis dieser Studienlage ist RTX 2011 für die Remissionsinduktion bei

Granulomatose mit Polyangiitis und Mikroskopische Polyangiitis (MPA) in den USA zugelassen worden.

RTX wird in den letzten Jahren auch zur Therapie der refraktären Situation (also bei Versagen von Cyclophosphamid) eingesetzt. Unkontrollierte Studien berichten über eine gute Effektivität von RTX in der Remissionsinduktion der refraktären GPA (1, 2, 8, 25, 28, 29, 33, 34, 37, 41, 43, 44, 47, 49, 51). Die größte Studie zu RTX bei refraktärer ANCA-assoziiierter Vaskulitis (AAV) konnte bei 65 Patienten, davon 46 Patienten mit einer GPA, eine Remissionsrate von > 80% zeigen (25). Außerdem zeigte sich ein gutes Ansprechen von Rezidiven auf eine erneute RTX-Gabe (25). Diese Studie zeigte nicht im Detail auf, welche Krankheitsmanifestationen gegenüber der Therapie mit Rituximab refraktär waren: insbesondere wurde keine separate Analyse granulomatöser und vaskulitischer Manifestationen durchgeführt. Während die meisten kleineren Publikationen auf ein gutes Ansprechen vaskulitischer Manifestationen hinweisen, ist die Datenlage bezüglich des Ansprechens granulomatöser Manifestationen uneinheitlich. Eine bereits 2006 im Klinikum Bad Bramstedt durchgeführte Pilotstudie zeigte bei 5 von insgesamt 8 GPA-Patienten mit refraktären granulomatösen Manifestationen kein Ansprechen auf RTX (1). Auch andere kleinere Studien dokumentieren ein schlechteres Ansprechen von granulomatösen Krankheitsmanifestationen auf die Therapie mit RTX im Vergleich mit vaskulitischen Manifestationen (2, 29). Andererseits zeigen Studien bei Patienten mit orbitalen Granulomen ein gutes Ansprechen (34, 51). Die Vergleichbarkeit der Studien untereinander ist eingeschränkt, da häufig unterschiedliche Therapieprotokolle, insbesondere verschiedene Begleittherapien eingesetzt wurden. Eine systematische Untersuchung zum Ansprechen von granulomatösen vs. vaskulitischen Manifestationen an einer größeren Kohorte gibt es bislang nicht.

1.2. Wirkprinzip von Rituximab

RTX ist ein chimärer monoklonaler Antikörper, der sich gegen das Oberflächenmolekül CD20 humaner B-Zellen richtet. CD20 wird allerdings nicht auf allen Entwicklungsstadien der B-Zelllinie exprimiert: die Vorläufer B-Zellen im Knochenmark, die ausgereiften Plasmazellen und wahrscheinlich auch die B-Gedächtniszellen sind CD20 negativ (21) (Abb. 1A). Außerdem wird CD20 in geringer Ausprägung auf aktivierten, Interleukin 1 und TNF-alpha produzierenden T-Zellen exprimiert (21). Vermittelt durch den FcγR-Teil des Anti-CD20 Antikörpers Rituximab, kommt es zu einer komplement- und antikörpervermittelten B-Zell Depletion sowie zu einer direkte Apoptoseinduktion CD20-

positiver B-Zellen (46) (Abb.1B). Hierdurch zeigt sich eine rasche Depletion von ca. 98% der peripher zirkulierenden CD20-positiven B-Zellen. Im Vergleich dazu konnte nachgewiesen werden, dass in lymphatischen Geweben -wie z.B. der Milz- B-Zellen nur zu ca. 40-70%, also weniger effektiv depletiert werden (48). Als Ursache dafür werden protektive Faktoren in der Umgebung der lymphatischen Gewebe diskutiert (12). Man nimmt an, dass die Depletion CD20-positiver B-Zellen auch eine Depletion der aus den CD20-positiven B-Zellen hervorgehenden Plasmazellen folgt. In der Tat ist bei GPA-Patienten nicht nur die B-Zelldepletion, sondern eine rasche Depletion des ANCA nach RTX-Therapie nachweisbar. ANCA spielen eine zentrale Rolle in der Vermittlung der Kleingefäßvaskulitis. Sie aktivieren durch Interaktion mit ihrem Zielantigen Proteinase 3 neutrophile Granulozyten im Gefäßbett, was zu Ausschüttung von reaktiven Sauerstoffspezies („respiratory burst“) und proinflammatorischen Zytokinen führt (Abb. 1C). Die Effektivität von RTX ist somit vor dem Hintergrund der effizienten ANCA-Depletion und damit der Unterbindung der ANCA-induzierten Neutrophilen-Aktivierung im Gefäßbett in der Therapie vaskulitischer Manifestationen gut verständlich.

Neben der Depletion des ANCA ist möglicherweise auch eine verminderte T-Zell-Aktivierung eine weitere Folge der B-Zell Depletion, denn B-Zellen haben T-Zell-stimulatorische Funktion (Abb.1D) : sie aktivieren einerseits durch Antigenpräsentation T-Helferzellen, andererseits werden durch die direkte Ausschüttung kostimulatorischer Moleküle (B7, CD40, OX40L) antigenspezifische T-Zellen aktiviert (32, 42).

Eine weitere Funktion der B-Zellen ist die direkte Modulation des Immunsystems durch die Synthese proinflammatorischer Zytokine wie u.a. Interleukin 6, Interferon γ und TNF- α . TNF- α gehört zu den Hauptaktivatoren der Makrophagen, so dass diese durch die Rituximab-Therapie indirekt beeinflusst werden (53) (Abb. 1E).

Der Wirkmechanismus von RTX auf die granulomatöse Entzündung ist unklar. B-Zellen sind in der granulomatösen Entzündung in Lymphfollikel-artigen Strukturen organisiert, ohne dass ihre Bedeutung geklärt ist. Wenn man der B-Zelle bzw. den lymphfollikelartigen Strukturen eine unterhaltende Funktion im Granulom unterstellt, so führt eine B-Zell-Depletion möglicherweise über eine fehlende Aktivierung von B-Zellen schließlich zur Desintegration der granulomatösen Entzündung. Die RTX-induzierte B-Zell-Depletion scheint jedoch in Geweben weniger ausgeprägt als im peripheren Blut.

Nach Rituximab-Therapie kommt es nach ca. 6 Monaten, im Median sogar erst nach 9-12 Monaten, zu einem Wiederanstieg der B-Zellen im Blut (46). Dieser Wiederanstieg der B-Zellen nach erfolgreicher Rituximab-Therapie kann durch die CD20 negativen Vorläufer-B-Zellen im Knochenmark sowie die wahrscheinlich negativen B-Gedächtniszellen erklärt werden (46).

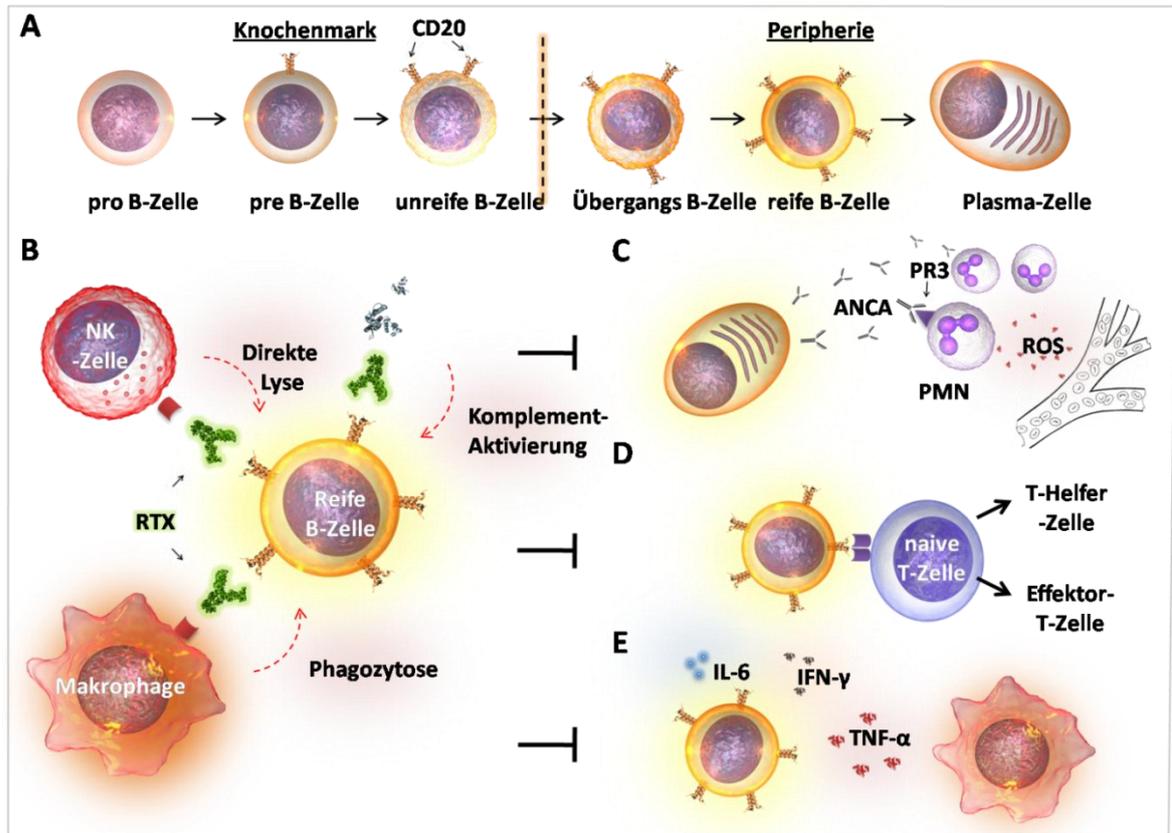


Abbildung 1: Reifung der B-Zellen und Wirkmechanismus von Rituximab

A: Sowohl die Vorläufer-B-Zellen im Knochenmark, als auch die antikörperproduzierenden Plasmazellen sind CD20 negativ und werden von der RTX-Therapie nicht beeinflusst. **B:** Durch den Fc γ -Teil des Anti-CD20 Antikörpers Rituximab kommt es zu einer komplementvermittelten B-Zell Depletion sowie zu Phagozytose und Lyse der reifen B-Zellen. **C:** Die Differenzierung in ANCA produzierende Plasmazellen kann nicht erfolgen, so dass die ANCA-vermittelte Aktivierung von neutrophilen Granulozyten im Gefäßbett -der entscheidene Schritt der Initiierung der Kleingefäßvaskulitis- unterbleibt. **D:** Durch die Depletion der reifen B-Zellen nimmt die T-Zell Aktivierung ab (fehlende „B-Zell-Hilfe“) **E:** Durch die verminderte Anzahl reifer B-Zellen stehen weniger proinflammatorische Zytokine wie z.B. IL-6, INF- γ , TNF- α zur Makrophagen-Aktivierung zur Verfügung. (Abbildung mit freundlicher Genehmigung von Danilo Dubrau)

1.3. Einsatzspektrum von Rituximab

Rituximab ist bereits seit 1997 in der Onkologie zur Behandlung von Non-Hodgkin B-Zell Lymphomen (follikulär und diffus großzellig) sowie der chronisch lymphozytischen Leukämie (CLL) zugelassen. In der Onkologie erfolgt die Therapie nach dem sogenannten Lymphomschema, d.h. in einer Dosis von 375 mg/m² Körperoberfläche einmal pro Woche über insgesamt 4 Wochen.

Seit 2006 ist RTX in der EU in Kombination mit Methotrexat zur Behandlung der Rheumatoiden Arthritis zugelassen. Die Zulassung besteht bei einer schweren aktiven rheumatoiden Arthritis, wenn ein unzureichender Effekt bzw. eine Unverträglichkeit gegenüber anderen Basistherapeutikern inkl. eines oder mehrerer TNF-alpha Blocker besteht. Eine Zulassung zur Standardremissionsinduktion im generalisierten und schweren Stadium der Granulomatose mit Polyangiitis und Mikroskopischen Polyangiitis besteht seit 2011 in den USA, jedoch bisher nicht in Deutschland.

1.4. Sicherheit von Rituximab bei ANCA-assoziiierter Vaskulitis

Die bisher größte Studie zur Effektivität und Sicherheit von RTX bei refraktärer ANCA-assoziiierter Vaskulitis zeigte, dass es bei einem Gesamtkollektiv von 65 Patienten zu 45 Nebenwirkungen kam (25). Davon 16 Infektionen (v.a. Pneumonien), bei 2 Patienten zu einer spontan reversiblen Neutropenie und 2 Todesfälle allerdings ohne eindeutigen Zusammenhang mit der RTX-Therapie. Infusionsreaktionen konnten in diesem Patientenkollektiv nicht beobachtet werden. In der RAVE-Studie (50) zeigte sich, dass bei einem Kollektiv von 99 Patienten, 3 Patienten eine Leukopenie entwickelten, 7 Patienten schwere Infektionen und 5 Patienten ein Malignom (davon 1 Patient während der Therapie und 4 Patienten nach abgeschlossener Therapie). In der RITUXVAS-Studie (26) kam es bei 12 der 33 Patienten zu einer Infektion, 6 der Patienten verstarben (3 davon aufgrund einer Infektion).

Das Auftreten von Infektionen ist möglicherweise durch einen Abfall der Immunglobuline (v.a. Immunglobulin G) sowie das Auftreten sog. „Late-onset Neutropenien“ nach RTX Therapie zu erklären. Late-onset Neutropenien sind eine bekannte Nebenwirkung bei Patienten die aufgrund hämatologischer Erkrankungen mit RTX behandelt werden. Erste Studien zeigen diese Nebenwirkung jetzt auch bei Patienten mit Autoimmunerkrankungen: In einer retrospektiven Analyse einer Kohorte von 209 Patienten mit rheumatischen

Erkrankungen konnten 11 Neutropenien dokumentiert werden (52), diese treten ca. 100 Tage nach Rituximab Therapie auf.

Außerdem ist in kleineren Studien das Auftreten opportunistischer Infektionen wie Varizella Zoster Virus Reaktivierung (34) und Hepatitis B Reaktivierung (50) dokumentiert. Eine sehr seltene, jedoch dann meist tödlich verlaufende und daher sehr gefürchtete opportunistische Infektion ist die Reaktivierung des JC-Virus, die zu einer progressiven multifokalen Leukenzephalopathie (PML) führt. Die Entwicklung einer PML konnte bei rückblickender Literaturrecherche (1997-2008) bei 52 Patienten nach RTX-Gabe beobachtet werden, davon bei 48 Patienten mit lymphoproliferativen Erkrankungen, jedoch bisher bei keinem AAV Patienten.

1.5. Ziel dieser Arbeit

Diese Arbeit soll die Wirksamkeit und Sicherheit von RTX bei der Behandlung der therapierefraktären GPA in einer großen Kohorte des tertiären Referenzzentrums Lübeck/Bad Bramstedt untersuchen. Insbesondere soll erstmalig systematisch in einer großen Kohorte untersucht werden, ob ein unterschiedliches Ansprechen vaskulitischer und granulomatöser Manifestationen der GPA besteht. Ferner soll das Auftreten von Rezidiven (nach erfolgreicher Remissionsinduktion) und mögliche Einflussfaktoren auf die Rezidivhäufigkeit erfasst werden.

2 Patienten und Methodik

2.1. Patientenselektion (Ein- und Ausschlusskriterien)

Alle GPA-Patienten die in der Zeit von Januar 2002 bis Dezember 2009 im Klinikum Bad Bramstedt bei therapierefraktärer GPA Rituximab erhalten haben, wurden erfasst. Als refraktär galten Patienten entsprechend den Definitionskriterien der EULAR mit nach 4 Wochen bestehender stadienadaptierter Standardtherapie mit anhaltender oder progredienter Krankheitsaktivität, oder mit nach 6 Wochen fehlendem Ansprechen (Reduktion des BVAS < 50%) oder mit nach 12 Wochen chronisch persistierender Krankheitsaktivität (anhaltende Präsenz eines „Major“ oder drei sog. „Minor Items“ des BVAS). 52 Patienten erfüllten die Definitionen der Chapel-Hill-Consensus Konferenz von 1994 (24) und alle die ACR-Kriterien von 1994 (31) (Anhang 1).

2.2. Therapieprotokoll

Rituximab wurde in einer Dosis von 375 pro m² Körperoberfläche im Abstand von einer Woche insgesamt 4-malig appliziert (plus 100 mg Prednisolon i.v. am Infusionstag). Die bereits bestehende immunsuppressive Therapie wurde unverändert fortgeführt. Im Falle einer Kombination mit Cyclophosphamid wurde die orale Cyclophosphamid-Therapie mit 2 mg/kg/Tag bis zur Reevaluation (4 Monate), die intravenöse Cyclophosphamid-Therapie wurde à 3 Boli (15-20 mg/kg KG) in 3 wöchentlichen Intervallen fortgeführt. Die begleitende Prednisolontherapie wurde gemäß einem standardisierten Schema reduziert (Tbl.3). Patienten die gleichzeitig mit RTX und Cyclophosphamid therapiert wurden erhielten eine Pneumocystis jirovecii Prophylaxe mit Cotrimoxazol (3x pro Woche à 960 mg). Einige Patienten erhielten bei refraktärem Verlauf oder bei Auftreten eines Rezidives einen zweiten oder dritten Zyklus Rituximab.

Prednisolondosis	Reduktion
100 mg/kg KG	Reduktion um 10 mg täglich bis 40 mg/die
40 mg/die	Reduktion um 5 mg alle 5 Tage bis 20 mg/die
20 mg/die	Reduktion um 2,5 mg alle 5 Tage bis 10 mg/die

10 mg/die	Reduktion um 1 mg wöchentlich bis zu einer Erhaltungsdosis von 5 mg/die
-----------	---

Tabelle 3: Standardschema zur Prednisolonreduktion. Bei ansteigender Krankheitsaktivität wurde das Reduktionsschema gemäß ärztlicher Maßgabe angepasst (erneute Dosissteigerung bzw. langsamere Reduktion).

2.3. Therapieüberwachung

Alle Patienten erhielten vor der Rituximab-Applikation (zur Feststellung der Refraktärität) sowie 4 Monate danach eine interdisziplinäres klinisches (u.a. ophthalmologische, HNO-ärztliche und neurologische Untersuchung), apparatives (cMRT), serologisches (Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG), C reaktives Protein (CRP), Kreatinin, 24 Stunden-Sammelurinuntersuchung mit Kreatininclearance und totaler Proteinurie in 24 Std.) und immunologisches (ANCA, B-Zellen) Staging neben einer kompletten allgemein-internistischen Untersuchung. Dabei wurde die klinische Krankheitsaktivität mit dem Birmingham Vasculitis Activity Score (BVAS 3) und die Krankheitsausdehnung mit Hilfe des Disease Extent Index (DEI) erfasst (Erläuterung BVAS 3 und DEI s.u. 2.3.1.). Neben dem Gesamtansprechen wurde außerdem das Ansprechen der einzelnen Organsysteme auf die Rituximab-Therapie sowie der Glukokortikoid-Bedarf separat analysiert und hier auch zwischen granulomatösen und vaskulitischen Manifestationen unterschieden (Anhang 4).

Der Therapieerfolg wurde in Anlehnung an die EULAR-Klassifikation in Remission, Ansprechen und Refraktärität eingeteilt (15). Remission bedeutet das vollständige Fehlen von klinischer und serologischer Krankheitsaktivität unter immunsuppressiver Therapie, wobei die Glukokortikoiddosis 7,5 mg pro Tag betragen musste. Als Ansprechen („response“) gilt eine Verbesserung der Krankheitsaktivität, entsprechend einer Abnahme des BVAS 3 von 50% oder mehr. Als Stabilisation gilt eine unveränderte Krankheitsmanifestation, entsprechend einer Abnahme des BVAS 3 um max. 50%. Als therapierefraktär gegenüber RTX galten die Patienten, deren Krankheitsaktivität gemessen am BVAS 3 bei Reevaluation nicht mindestens um 50% abgenommen hat. Als Rezidiv galt ein Wiederauftreten oder Neuauftreten von Krankheitsaktivität, noch unterteilt in „Major“ Rezidiv mit Wieder- oder Neuauftreten von potentiell lebens- oder organbedrohender Krankheitsaktivität, die nicht allein durch Steigerung der Glukokortikoid-Dosis behandelt werden kann sondern eine Eskalation der Therapie erfordert (in aller Regel Cyclophosphamid) und „Minor“ Rezidiv mit Wieder- oder Neuauftreten von nicht lebens-

oder organbedrohender Krankheitsaktivität, in aller Regel behandelbar mit einer passageren Glukokortikoid-Steigerung (Tabelle 1).

2.3.1. Beurteilung von Krankheitsstadium, -aktivität und -ausdehnung

Die Krankheitsaktivität wurde mit Hilfe des Birmingham Vasculitis Activity Score (BVAS) erfasst. Dabei handelt es sich um eine klinische Check-Liste, mit deren Hilfe, Symptome die eine aktive Vaskulitis repräsentieren, erfasst und mit Punkten bewertet werden. In dieser Arbeit erfolgte die Erfassung der Krankheitsaktivität mit Hilfe der aktuellsten Version des BVAS von 2003 (BVAS 3) (36). Der BVAS 3 umfasst insgesamt 56 Symptome in 9 Organsystemen. Die Symptome werden mit einer höheren Punktzahl bewertet, wenn sie neu aufgetreten sind oder unter einer Therapie progredient sind. Mit einer niedrigeren Punktzahl (in der Regel mit der Hälfte der Punktzahl) bei Persistenz des Symptoms über mindestens 3 Monate. Die maximal zu erreichende Punktzahl liegt beim BVAS 3 bei 63 (Anhang 5).

Die Krankheitsausdehnung wurde mit Hilfe des Disease Extent Index (DEI) ermittelt (4). Dieser „Score“ erfasst Symptome einer aktiven Vaskulitis in 10 Organsystemen und B-Symptomatik (Fieber > 38°C, massiver Nachtschweiß, ungewollter Gewichtsverlust von mehr als 10% des ursprünglichen Körpergewichts innerhalb von 6 Monaten). Jedes Organsystem mit potenziell therapierbarer, aktiver Erkrankung wird mit 2 Punkten bewertet und aus allen involvierten Organen einen Summenscore ermittelt mit einem möglichen Maximum von 21 Punkten (Anhang 6). Bei der Bestimmung des Disease Extent Index ist es irrelevant, ob das Symptom neu, verschlechtert oder persistierend ist, da es immer in den Index einfließt. Da die Beurteilung der B-Symptomatik sehr subjektiv ist, wird diese im DEI zum einen nur mit einem Punkt bewertet, jedoch in dieser Arbeit bei der Erfassung der Krankheitsausdehnung nicht berücksichtigt.

Vor Erfassung des BVAS 3 und des DEI müssen andere Ursachen für die vorliegenden Symptome (z.B. Infektionen, Malignome) ausgeschlossen werden. Außerdem sind chronische Schäden („damage“), die nicht mehr auf eine Therapie ansprechen bzw. Folge der Therapie sind (z.B. Erythrozyturie bei hämorrhagischer Cyclophosphamid-assoziiertes Cystitis) abzugrenzen. Diese chronischen Schäden werden durch den Vasculitis Damage Index (VDI) erfasst (9). Dieser definiert Organmanifestationen als „damage“ die im Rahmen der Vaskulitis oder der Therapie entstanden sind, seit mind. 3 Monaten in gleicher Ausprägung bestehen und keine Indikation zur Therapieintensivierung darstellen.

2.3.2. Serologische Untersuchungen

Entsprechend den empfohlenen Therapie-Kontrollen unter den verschiedenen Immunsuppressiva (s. unter www.dgrh.de), erfolgten regelmäßige Kontrollen des großen Blutbildes (Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, MCV, MCH, Thrombozyten, Leukozyten und Differenzialblutbild), der Leberfunktion (GOT, GPT, gGT), der Elektrolyte (Natrium, Kalium, Chlorid, Calcium) mit allgemein bekannten Normwerten. Ferner erfolgte eine regelmäßige Kontrolle der serologischen Entzündungsparameter (BSG und CRP). Die Nierenfunktion wurde durch Urinstatus und 24 Stunden Sammelurin inkl. Bestimmung des Kreatinins, der Kreatininclearance und des Gesamteiweißes überprüft.

2.3.3. Immunologische Untersuchungen

Die spezifische rheumatologische/immunologische Laboruntersuchung umfasste u.a. ANCA und CD20+ B-Zellen.

Die ANCA wurden mit Hilfe von indirekter Immunfluoreszenz bestimmt und entsprechend der Verdünnung bei der noch Antikörper nachweisbar sind als Titer angegeben (14).

Mit Hilfe der Durchflusszytometrie konnten die B-Zell-Subpopulationen inkl. CD20+ B-Zellen im peripheren Blut erfasst werden. Der Referenzbereich für CD20+ B-Zellen liegt bei $55-400 \times 10^{-6}$ Zellen pro Liter. Weniger als $0,02 \times 10^2$ Zellen pro Liter werden als Depletion gewertet. Eine Menge von mehr als $0,02 \times 10^2$ Zellen pro Liter nach vorheriger Depletion wird als Wiederanstieg gewertet.

2.3.4. Beurteilung der Nebenwirkungen

Bei jeder Visite erfolgte die Erhebung von möglichen Nebenwirkungen. Die Patienten wurden in einem standardisierten Schulungsprogramms über mögliche Nebenwirkungen und Komplikationen der Therapie aufgeklärt, ein wesentlicher Schwerpunkt der Schulung liegt auf der Früherkennung von Rezidiven. Eine standardisierte Befragung bei Wiedervorstellung ermöglichte eine detaillierte Dokumentation der Nebenwirkungen.

Die Schwere der Nebenwirkungen wurde nach den Kriterien des National Cancer Institut in 5 Grade eingeteilt (20) (Tbl.4).

Schweregrad	Terminus	Definition
Grad 1	Mild	Asymptomatisch oder milde Symptome; ausschließlich klinische oder diagnostische Beobachtung, keine Intervention erforderlich
Grad 2	Moderat	Minimale, lokale oder nichtinvasive Intervention
Grad 3	Schwer	Medizinisch signifikante jedoch nicht unmittelbar lebensbedrohliche NW, Hospitalisation notwendig oder Verlängerung der Liegezeit
Grad 4	Lebensbedrohlich	Lebensbedrohliche Komplikation, sofortige Intervention erforderlich
Grad 5	Tod	Tod durch NW

Tabelle 4: Terminologiekriterien des National Cancer Institut zur Beurteilung der Schweregrade von Nebenwirkungen Version 4 vom 28.02.2009 (20)

2.4. Statistik

Zur statistischen Auswertung wurden die Daten aller Patienten retrospektiv erfasst. Dabei wurden alle Patientencharakteristika vor Einleitung der RTX-Therapie, die Rahmenbedingungen der RTX Therapie (u.a. Vormedikation, Begleitmedikation) und eventuell aufgetretene Nebenwirkungen dokumentiert. Außerdem wurden die klinischen, technischen, serologischen und immunologischen Parameter sowie der Glukokortikoid-Bedarf und aktive Organmanifestation vor RTX-Therapie und bei Reevaluation erfasst. Patienten, die auf die RTX Therapie ansprachen, wurden weiterbeobachtet („follow up“)

und ein ggf. auftretendes Rezidiv erfasst. Alle Daten wurden in einer Excel-Tabelle pseudonymisiert zusammengefasst und statistisch ausgewertet.

Zur Beurteilung des Einflusses von RTX auf die klinische, serologische und immunologische Krankheitsaktivität wurden BVAS, DEI, ANCA, B-Zellen, BSG, CRP und Glukokortikoid-Bedarf (jeweils Median) vor und nach Therapie mit RTX durch den Wilcoxon-Mann-Whitney-Test für zwei verbundene Stichproben verglichen. Da es sich bei den Daten laut dem Shapiro-Wilk Test um keine Normalverteilung handelt, wurde dieser nichtparametrische Test angewandt.

Zur statistischen Berechnung und graphischen Darstellung erfolgte eine Logarithmisierung der ANCA-Titer zur Basis 10.

Mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests wurde das Ansprechen vaskulitischer vs. granulomatöser Manifestationen auf die RTX-Therapie verglichen.

Da es sich bei dieser Arbeit um eine nicht kontrollierte Studie handelt, hatten nicht alle Patienten die gleichen Rahmenbedingungen. So erfolgte die Therapie mit Rituximab nach unterschiedlichen Kombinationsschemata. Außerdem befanden sich die Patienten zu Therapiebeginn in unterschiedlichen Krankheitsstadien (lokalisiert vs. früh-systemisch/generalisiert). Mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests wurde geprüft ob die unterschiedlichen Rahmenbedingungen Einfluss auf den Therapieerfolg hatten.

Das Auftreten von Rezidiven wurde mit Hilfe der Methode von Kaplan und Meier analysiert. Einerseits wurde die Häufigkeit von Rezidiven und deren Zeitpunkt nach RTX-Gabe erfasst, andererseits wurde nach möglichen prädiktiven Faktoren für das Auftreten eines Rezidivs gesucht.

Das Auftreten von Nebenwirkungen wurde nach Häufigkeit, Art und Schwere prozentual erfasst.

Die statistische Auswertung erfolgte mit Unterstützung durch das Institut für Medizinische Biometrie und Statistik der Universität zu Lübeck. Die Analyse der Daten erfolgte mit Hilfe von SPSS version 18.

Ein statistischer Unterschied wurde auf dem 5%-Niveau ($p < 0,05$) als signifikant bewertet.

3 Ergebnisse

3.1. Patientencharakteristika

60 Patienten, die in der Zeit von 2002 bis 2009 im Klinikum Bad Bramstedt bei therapierefraktärer Granulomatose mit Polyangiitis Rituximab erhalten haben, wurden in die Studie eingeschlossen. Da ein Patient während der ersten RTX-Infusion eine leichtgradige allergische Reaktion (Übelkeit, Schüttelfrost) erlitt, wurde er aus der Studie ausgeschlossen und die Daten von insgesamt 59 Patienten ausgewertet. Die Patientencharakteristika sind Tabelle 5 zu entnehmen. Die meisten Patienten (85%) hatten vor Applikation des 1. RTX Zyklus eine (refraktäre) generalisierte/früh-systemische Verlaufsform, 15% eine (refraktäre) streng lokalisierte Verlaufsform.

Alle Patienten wurden vor Einleitung der RTX Therapie bereits mit im Median 3 verschiedenen Immunsuppressiva (zwischen 1-7 Immunsuppressiva) behandelt. Alle Patienten hatten bereits eine Therapie mit Cyclophosphamid in einer kumulativen Dosis von 27,75g (4,8 g – 450g) (Tbl.6).

Anzahl der Patienten	59
Geschlecht n (%)	
Weiblich	24 (41)
Männlich	35 (59)
ANCA Status n (%)	
ANCA pos.	57 (97)
- C-ANCA/PR3 pos.	55 (96)
- P-ANCA/MPO pos.	2 (4)
ANCA neg.	2 (3)
Histologie n (%)	
Positiv/vereinbar mit GPA	52 (88)
Negativ	7 (12)

Krankheitsdauer, Median Monate (Streubreite)	37 (3-211)
Alter bei erster RTX Gabe Median (Streubreite)	54 (22-76)
Krankheitsstadium n (%) Lokalisiert	9 (15)
Systemisch (frühsystemisch/generalisiert)	50 (85)
Anzahl der RTX-Zyklen 1 Zyklus	59
2 Zyklen	12
3 Zyklen	4

Tabelle 5: Charakteristika aller 59 Patienten

Immunsuppressiva vor RTX n (%) Cyclophosphamid	59 (100)
- Cyc oral und Bolus	29 (50)
- Cyc nur oral	22 (38)
- Cyc nur Bolus	7 (12)
Methotrexat	34 (59)
Leflunomid	17 (29)
Azathioprin	24 (41)
TNF-alpha Blocker	18 (31)
Mycophenolat mofetil	8 (14)
Anzahl der Immunsuppressiva vor RTX Median (Streubreite)	3 (1-7)
Cyclophosphamid kumulativ in Gramm Median (Streubreite)	27,75 (4,8-450)

Tabelle 6: Immunsuppressive Therapie der 59 Patienten vor Einleitung der RTX Therapie.

3.2. Refraktäre Krankheitsmanifestationen vor Rituximab-Therapie

Die häufigsten refraktären Krankheitsmanifestationen, die zur Einleitung der RTX-Therapie führten waren: orbitale Granulome (n=27), renale Krankheitsaktivität (n=26, davon n=12 mit Erythrozyturie und Proteinurie jedoch ohne Einschränkung der Nierenfunktion, n=14 mit eingeschränkter Nierenfunktion definiert als Kreatinin-clearance ≤ 60 ml/min), Pachymeningitis (n=12), pulmonale Granulome (n=12), und alveoläre Hämorrhagien (n=12) (Abb. 2). Insgesamt 37 Patienten hatten mehr als eine refraktäre Krankheitsmanifestation vor Therapieeinleitung (Streubreite: 1-3 refraktäre Krankheitsmanifestationen).

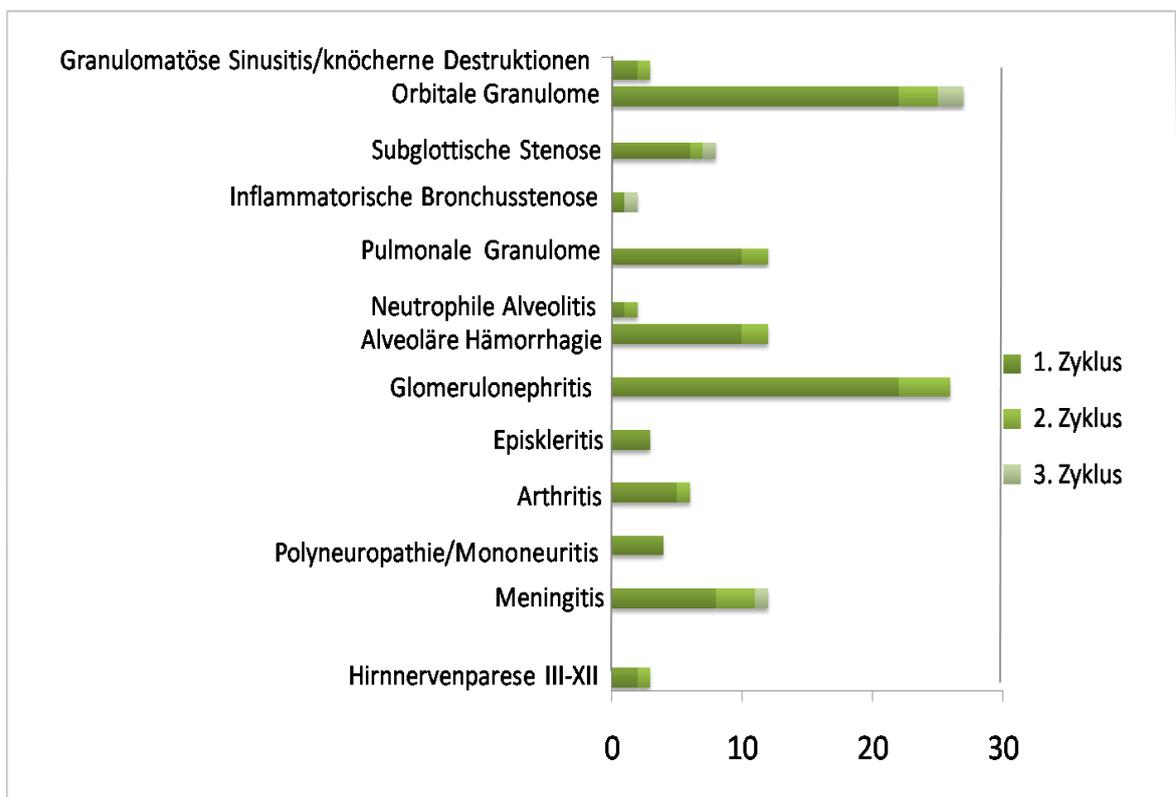


Abbildung 2: Die häufigsten refraktären Organmanifestationen vor Einleitung der RTX-Therapie. 37 Patienten hatten mehr als eine refraktäre Krankheitsmanifestation vor Einleitung der RTX Therapie.

3.3. Therapieprotokoll

Die RTX-Therapie erfolgte nach dem sog. Lymphom-Schema (insgesamt 4 RTX-Boli à 375 m² Körperoberfläche im Abstand von einer Woche). 12 Patienten erhielten einen zweiten Zyklus RTX, davon 6 Patienten aufgrund eines Rezidives und 6 Patienten bei zunächst therapierefraktärem Verlauf. 4 Patienten erhielten einen dritten Zyklus RTX, davon 2 Patienten aufgrund eines Rezidives und 2 Patienten bei therapierefraktärem

Verlauf. So konnten insgesamt 75 Zyklen ausgewertet werden. Alle Patienten erhielten eine Begleitmedikation mit Glukokortikoid mit im Median 16,25 mg/d (Streubreite: 5 mg/d – 90 mg/d) zu Beginn der RTX-Therapie. Bei 15 Patienten musste die Glukokortikoid-Dosis zu Beginn der Rituximab Therapie um im Median 42,5 mg (Streubreite: 40-90 mg) aufgrund der refraktären Krankheitsaktivität gesteigert werden. Die bestehende Glukokortikoid-Therapie wurde gemäß einem standardisierten Schema reduziert (siehe Tbl. 3). Allerdings konnte nur bei 17 Patienten (23,3%) entsprechend dem Schema reduziert werden, bei den anderen Patienten war eine langsamere Reduktion (41 Patienten) oder eine erneute Dosissteigerung nötig (15 Patienten). Die häufigsten Ursachen für eine Glukokortikoid-Dosissteigerung waren ein Kreatininanstieg oder eine Zunahme der Proteinurie bei Glomerulonephritis oder ein Progress orbitaler Granulome (Tbl. 7).

Ursachen für die Glukokortikoid-Dosissteigerung	Anzahl der Patienten (%)
Glomerulonephritis, (Kreatininanstieg oder Zunahme der Proteinurie > 500 mg/Tag)	5 (33,3)
Alveoläre Hämorrhagie	1 (6,6)
Glomerulonephritis und alveoläre Hämorrhagie	1 (6,6)
Orbitale Granulome (Progress der Granulommasse mit Kompression des Nervus opticus)	6 (40)
Meningitis (Zunahme des menigealen KM-Enhancement und Zunahme/Persistenz der steroidsensiblen Kopfschmerzen)	1 (6,6)
Pulmonale Granulome (Progress der Granulommasse und Zunahme der Einschmelzung)	1 (6,6)

Tabelle 7: Krankheitsmanifestationen die zur Steigerung der Glukokortikoid-Dosis führten. Bei insgesamt 15 Patienten war eine Dosissteigerung aufgrund anhaltender oder zunehmender Krankheitsaktivität notwendig.

Außerdem erhielten 95% zusätzlich ein oder zwei Immunsuppressiva (Cyclophosphamid, MTX, Leflunomid, Azathioprin, MMF, TNF-alpha Blocker, i.v. Ig) (Abb.3). Das häufigste Begleitmedikament war mit 55% Cyclophosphamid. Während des 1. RTX-Zyklus erhielten 2 Patienten zwei Immunsuppressiva gleichzeitig: ein Patient Methotrexat plus Leflunomid bzw. Cyclophosphamid plus i.v. Ig. Während des 2. und 3. Zyklus erhielten alle Patienten nur ein Begleitmedikament.

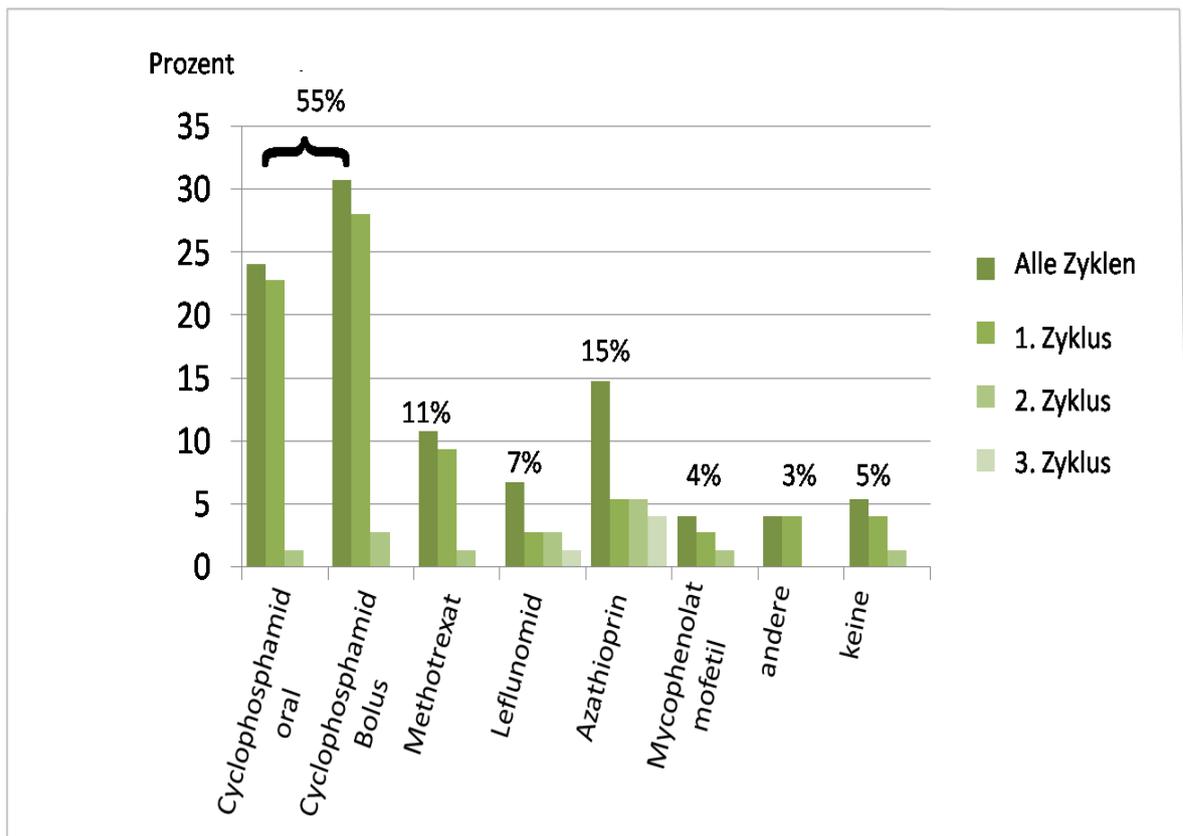


Abbildung 3: Begleitmedikation während der einzelnen RTX Zyklen . Die Anzahl der Begleitmedikamente betrug im Median 1 (0-2). Die angegebenen Prozentwerte beziehen sich auf alle Zyklen. Eine detailliertere Auflistung aller Begleitmedikamente zeigt Anhang 7.

3.4. Reevaluation und Langzeitbeobachtung („follow-up“)

Alle Patienten hatten eine Reevaluation 4 Monate nach Applikation des letzten Rituximab Bolus zur Evaluation der Krankheitsaktivität bzw. des Therapieeffekts. 36 Patienten hatten ein follow-up über diese 4 Monate hinaus und konnten bezüglich Rezidivhäufigkeit und –ursache evaluiert werden. Das mittlere follow-up der gesamten Kohorte beträgt 7 Monate (Streuung: 4-58 Monate). Die 36 Patienten mit einem follow-up über die 4 Monate hinaus wurden für im Median 13,5 Monate beobachtet (Streuung: 3-54 Monate).

3.5. Therapieansprechen

In Zusammenschau aller 75 Zyklen bei 59 Patienten erlangten 9,3% der Patienten (n=7) eine Remission unter RTX, bei 61,3% (n=46) konnte zumindest ein Ansprechen erreicht werden, davon bei 52% (n=39) mit Verbesserung der Krankheitsaktivität und bei 9,3% (n=7) mit einer Stabilisation der Krankheitsaktivität. 20 Patienten (26,7%) waren gegenüber der RTX-Therapie refraktär, d.h. mit weiter zunehmender Krankheitsaktivität unter der Therapie (Tbl.8).

Therapieansprechen	n (%)
Remission	7 (9,3)
Ansprechen – Verbesserung der Krankheitsaktivität	39 (52)
Ansprechen – Stabilisation der Krankheitsaktivität	7 (9,3)
Refraktär	20 (26,7)

Tabelle 8: Therapieansprechen durch RTX bei therapierefraktärer GPA. Die Zahlen und Prozenz beziehen sich auf alle Patienten und Zyklen (n=75). Da zwei Patienten nach dem 1. RTX-Zyklus verstorben sind ist keine Klassifikation des Therapieansprechens möglich.

Bei Betrachtung der einzelnen Zyklen erreichten von 59 Patienten nach dem ersten Zyklus vier Patienten (6,8%) eine Remission, 37 Patienten (62,7%) sprachen auf die Therapie an und 16 Patienten (27,1%) waren refraktär. Da zwei Patienten nach dem 1.RTX-Zyklus verstorben sind ist keine Klassifikation des Therapieansprechens möglich. 12 Patienten erhielten einen 2. Zyklus, davon erreichten zwei Patienten (16,7%) eine Remission (n=2), 6 Patienten (50%) ein Ansprechen und weitere vier Patienten (33,3%) waren refraktär. Durch einen 3. Zyklus bei vier Patienten erreichte ein Patient (25%) eine Remission und drei Patienten (75%) sprachen auf die Therapie an, kein Patient war refraktär (Abb. 4).

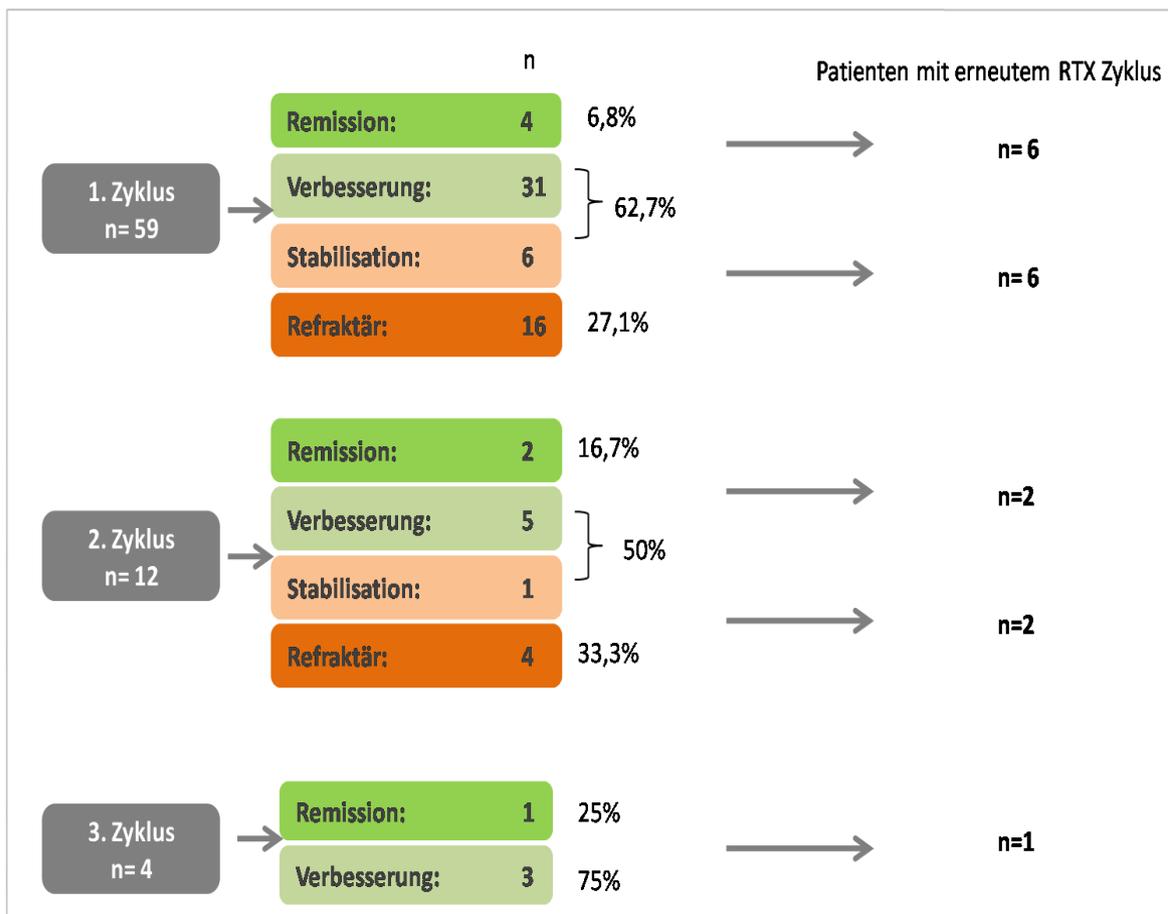


Abbildung 4: Überblick über alle Patienten bezüglich des Effektes der einzelnen Zyklen. Verbesserung und Stabilisation gelten als Untergruppe des Ansprechens. Da zwei Patienten nach dem 1. RTX-Zyklus verstorben sind ist keine Klassifikation des Therapieansprechens möglich.

3.5.1. Ansprechen einzelner Organsysteme

Neben dem generellen Therapieeffekt, gemessen an Remission, Ansprechen und Refraktärität, lag ein besonderer Schwerpunkt der Arbeit auf dem möglicherweise unterschiedlichen Ansprechen einzelner Organmanifestationen, insbesondere dem Vergleich granulomatöser vs. vaskulitischer Manifestationen, auf die RTX-Therapie. Betrachtet man das Therapieansprechen aller granulomatösen (n=71) vs. aller vaskulitischen (n=55) Manifestationen, so erlangen Patienten mit granulomatösen Manifestationen signifikant seltener eine Remission oder ein Ansprechen mit Verbesserung der Krankheitsaktivität (57,7%, n=41/71) als Patienten mit vaskulitischen Manifestationen (87,3%, n=48/55), $p < 0,05$ (Abb. 5).

		Therapieerfolg	
		Remission/ Verbesserung	Stabilisierung/ refraktär
Manifestation	granulomatös	41	29
	vaskulitisch	48	5

} P < 0,05

Abbildung 5: Vergleich des Therapieansprechens aller granulomatöser vs. aller vaskulitischer Manifestationen. Granulomatöse Manifestationen erreichen signifikant seltener eine Remission/Verbesserung als vaskulitische Manifestationen.

Dies trifft jedoch nicht in gleichem Maße auf alle granulomatösen Manifestationen zu. Besonders häufig waren orbitale Granulome (n=27) refraktär, bei keinem dieser Patienten konnte eine Remission erzielt werden, 66,7% (n=18) zeigten ein Ansprechen davon 44,4% (n=12) mit Verbesserung der Krankheitsaktivität und 22,2% (n=6) mit einer Stabilisation der Krankheitsaktivität. Jedoch waren 33,3% (n=9) der orbitalen Granulome refraktär (also progredient) unter der RTX-Therapie. Auch Patienten, die aufgrund einer therapierefraktären Pachymeningitis (n=12) eine RTX Therapie erhielten, waren in 33,3% (n=4) refraktär, nur einer der 12 Patienten (8,3%) erreichte eine Remission, 41,75% (n=5) ein Ansprechen mit Verbesserung der Krankheitsaktivität und 8,3% (n=1) eine Stabilisation der Krankheitsaktivität. Dagegen zeigten pulmonale Granulome (n=12) ein gutes Ansprechen auf die RTX Therapie: 16,7% (n=2) erreichten eine Remission, 66,7% (n=8) ein Ansprechen mit Verbesserung der Krankheitsaktivität und nur 16,7% (n=2) waren refraktär.

Vaskulitische Manifestationen dagegen zeigten generell ein sehr gutes Ansprechen. Von insgesamt 26 Patienten mit einer Glomerulonephritis erreichten 34,6% (n=9) eine Remission, 46,2% (n=12) ein Ansprechen mit Verbesserung der Krankheitsaktivität und nur vier Patienten (15,4%) waren refraktär. Ähnlich gute Effekte der RTX-Therapie zeigten sich bei alveolären Hämorrhagien (n=12): 66,7% (n=8) erreichten eine Remission, 16,7% (n=2) ein Ansprechen mit Verbesserung der Krankheitsaktivität und 8,3% (n=1) waren refraktär.

Ein Vergleich des Therapieansprechens der häufigsten granulomatösen (orbitale und pulmonale Granulome, Pachymeningitis) vs. der häufigsten vaskulitischen Manifestationen

(Glomerulonephritis, alveoläre Hämorrhagie) bestätigt den weniger guten Effekt von RTX auf orbitale Granulome. Diese erreichten signifikant seltener eine Remission bzw. Stabilität als alveolären Hämorrhagie oder Glomerulonephritis ($p=0,03$ für orbitalen Granulomen vs. alveolären Hämorrhagie, $p=0,03$ für orbitale Granulome vs. Glomerulonephritis). Dagegen sprachen sowohl pulmonale Granulome als auch die Pachymeningitis nicht signifikant schlechter an als alveoläre Hämorrhagie oder Glomerulonephritis ($p=0,94$ für pulmonale Granulome vs. alveoläre Hämorrhagien und $p=0,67$ für pulmonale Granulome vs. Glomerulonephritis; $p=0,15$ für Pachymeningitis vs. alveoläre Hämorrhagien und $p=0,34$ für Pachymeningitis vs. Glomerulonephritis) (Tbl.9).

Der Effekt von RTX auf Polyneuropathien(PNP)/Mononeuritis und Arthritis war gut: alle 4 Patienten mit PNP sprachen an, davon erreichte ein Patient eine Remission und die anderen 3 Patienten ein Ansprechen mit Verbesserung der Krankheitsaktivität. Insbesondere sprachen Arthritiden auf RTX an, alle 6 Patienten mit einer Arthritis erreichten (100%) eine Remission. Die Effekte auf die häufigsten Organmanifestationen zeigt Abb. 6, der Effekt auf alle Organmanifestationen kann Anhang 8 entnommen werden.

	<u>Alveoläre Hämorrhagien</u> <u>(n=12)</u> Remission/Verbesserung (n=10) Versus Stabilisierung/Refraktär (n=1)	<u>Glomerulonephritis</u> <u>(n=26)</u> Remission/Verbesserung (n=21) Versus Stabilisierung/Refraktär (n=4)
<u>Orbitale Granulome</u> <u>(n=27)</u> Remission/Verbesserung (n=12) Versus Stabilisierung/Refraktär (n=15)	P = 0,003	P = 0,003

<u>Pulmonale Granulome</u> (n=12) Remission/Verbesserung (n=10) Versus Stabilisierung/Refraktär (n=2)	P = 0,94	P = 0,67
<u>Pachymeningitis (n=12)</u> Remission/Verbesserung (n=6) Versus Stabilisierung/Refraktär (n=5)	P= 0,15	P = 0,14

Tabelle 9: Beim Vergleich der häufigsten granulomatösen vs. der häufigsten vaskulitischen Manifestationen und zeigt sich, dass orbitale Granulome signifikant seltener eine Vollremission/Verbesserung erreichen als alveoläre Hämorrhagien oder Glomerulonephritiden.

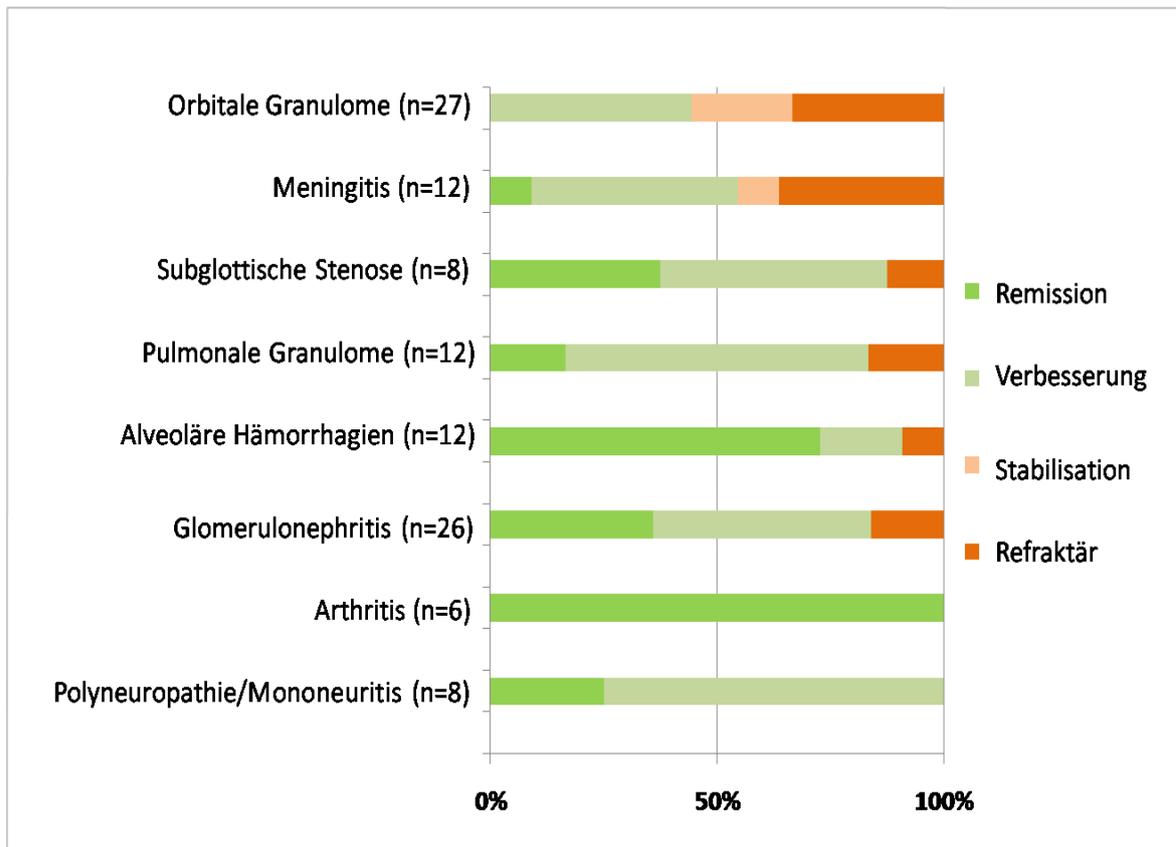


Abbildung 6: Therapieeffekt auf die am häufigsten betroffenen Organsysteme (mindestens 4 Patienten oder mehr). Den Therapieeffekt auf seltener betroffene Organsysteme zeigt Anhang 8.

3.5.2. Beeinflussung von Krankheitsaktivität, -ausdehnung und Glukokortikoid-Bedarf

Durch die Therapie mit RTX zeigten sowohl die mittlere Krankheitsaktivität (BVAS 3) als auch die mittlere Krankheitsausdehnung (DEI) eine statistisch signifikante Abnahme ($p < 0,05$). Der BVAS 3 reduziert sich bei Zusammenfassung aller Zyklen von im Median 11 (Streubreite: 1-28) vor der RTX Gabe auf einen Median von 5 (Streubreite: 0-20) bei der Reevaluation, der DEI fiel von im Median 4 (Streubreite: 2-8) vor der RTX Gabe auf einen Median von 2 (Streubreite: 0-6) bei der Reevaluation (Abb. 7). Auch der Glukokortikoidbedarf konnte durch die RTX Therapie signifikant ($p < 0,05$) von im Median 15 mg Prd-Äquivalent pro Tag (Streubreite: 0-90 mg pro Tag) auf 8 mg pro Tag (Streubreite: 0-80 mg pro Tag) gesenkt werden (Abb. 8).

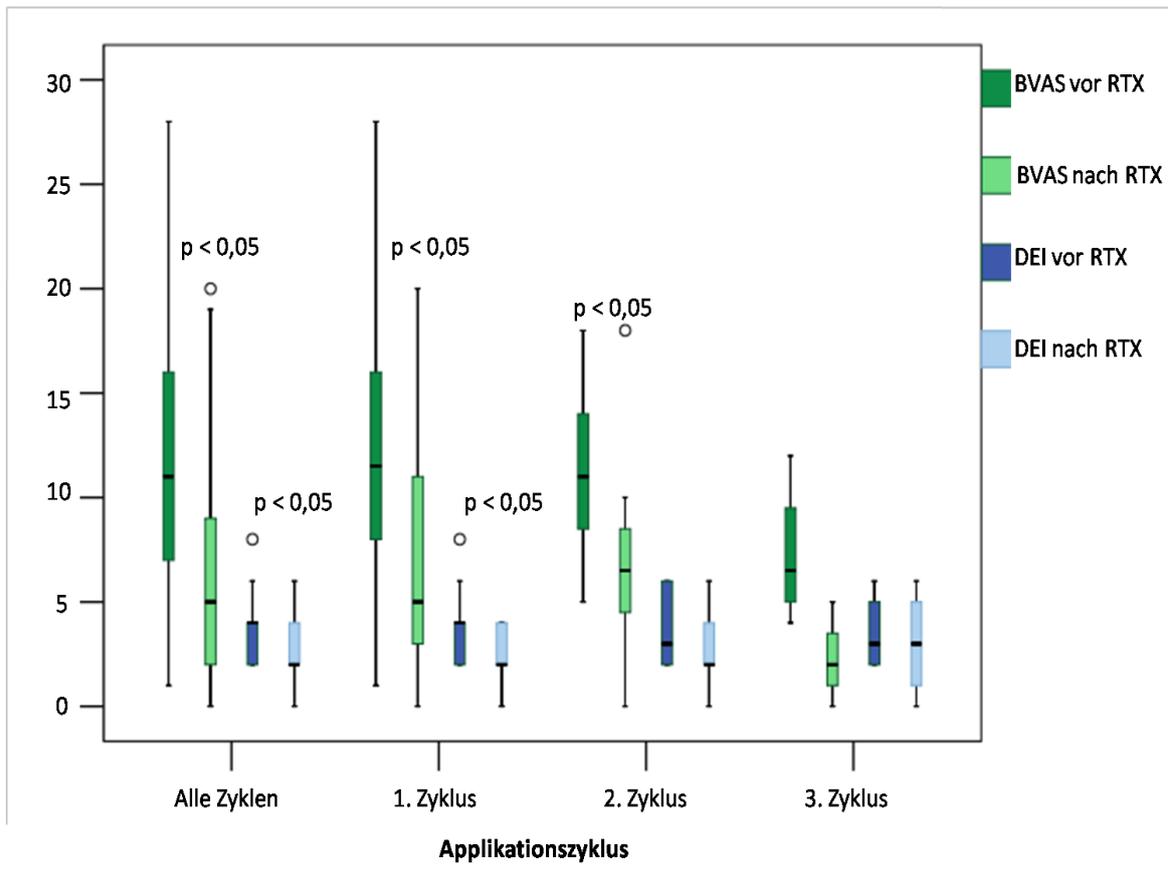


Abbildung 7: Abnahme der Krankheitsaktivität (BVAS 3) und Krankheitsausdehnung (DEI) in den einzelnen Zyklen. Da die Anzahl der Patienten die einen 2. Zyklus (n=12) oder einen 3. Zyklus (n=4) bekommen haben niedrig ist, ist die Abnahme des DEI im 2. Zyklus und die Abnahme von BVAS 3 und DEI im 3. Zyklus nicht signifikant. Eine detaillierte Auflistung der Werte findet sich in Anhang 9.

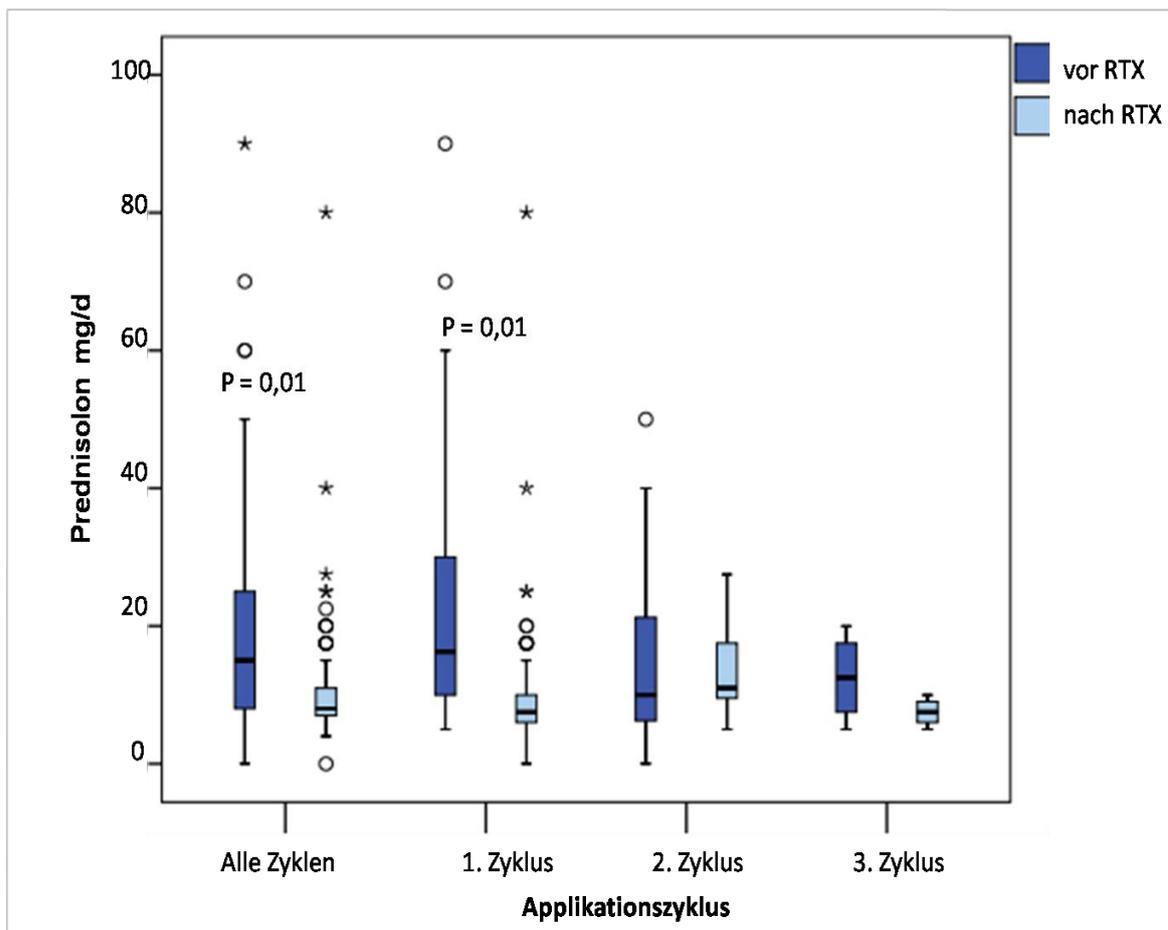


Abbildung 8: Abnahme des Glukokortikoid-Bedarfs während der einzelnen Zyklen. Da die Anzahl der Patienten die einen 2. Zyklus (n=12) oder einen 3. Zyklus (n=4) bekommen haben niedrig ist, ist die Abnahme des Glukokortikoid-Bedarfs im 2. Zyklus und 3. Zyklus nicht signifikant. Eine detaillierte Auflistung der Werte findet sich in Anhang 9.

3.5.3. Beeinflussung von serologischen und immunologischen Parametern

Auch die serologischen Entzündungsparameter (BSG, CRP) sowie die ANCA-Titer fielen unter der RTX Therapie signifikant ($p < 0,05$) ab (Abb.9).

Bei 31 Patienten wurden vor und nach RTX-Gabe die B-Zellenzahlen gemessen. Es kam zu einem statistisch signifikantem Abfall der B-Zellen von im Median 15 Zellen/ μl (Streubreite: 0-715 Zellen/ μl) auf 0,52 Zellen/ μl (Streubreite: 0-60 Zellen/ μl), $p < 0,05$. Die Definition der Depletion (Abfall der B-Zellen auf $< 0,02 \times 10^2$ Zellen pro Liter) erfüllten 93,5% (n=29) der 31 Patienten (Abb.9).

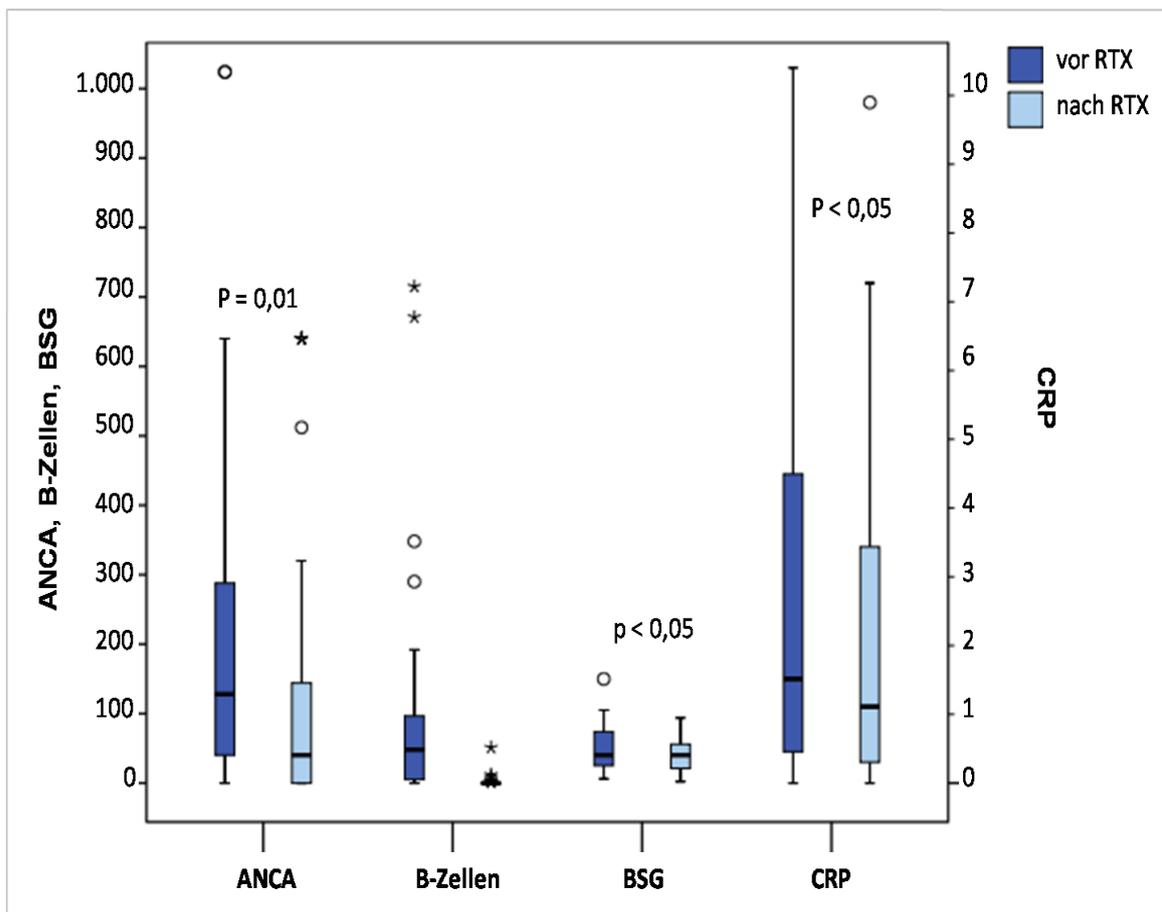


Abbildung 9: Mediane der serologischen (BSG, CRP) und immunologischen Parameter (ANCA, B-Zellen) vor Einleitung der RTX-Therapie im Vergleich zur Reevaluation.

Eine ausführliche Auflistung der serologischen und immunologischen Parameter vor und nach RTX Therapie in Abhängigkeit der Zahl der Zyklen findet sich im Anhang 9.

3.5.4. Prädiktoren für das Therapie-Ansprechen

Da die Patienten bezüglich der RTX-Gabe unterschiedliche Rahmenbedingungen (verschiedene Begleitmedikamente und unterschiedliche Krankheitsstadien zu Therapiebeginn) hatten, wurde mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests ein möglicher Einfluss dieser unterschiedlichen Bedingungen geprüft. Weder die Begleittherapie (Cyclophosphamid vs. andere Immunsuppressiva) noch das Krankheitsstadium zu Therapiebeginn (lokalisiert vs. früh-systemisch/generalisiert) hatten einen Einfluss auf das Ansprechen auf die RTX-Therapie. Der Einsatz von Cyclophosphamid als Begleittherapeutikum vs. andere Immunsuppressiva (MTX, Leflunomid, Azathioprin, Mycophenolat mofetil, TNF-alpha Blocker, i.v. Ig) hatte ebenfalls keinen signifikanten Einfluss auf das Therapieansprechen. Der Einsatz von Cyclophosphamid als

Begleitmedikament führte bei 59,5% der Patienten zu einer Remission/Verbesserung vs. 40,5% Stabilisierung/refraktär, der Einsatz von anderen Immunsuppressiva bei 65,6% zu einer Remission/Verbesserung vs. 34,4% Stabilisierung/refraktär (Abb.10).

		Therapieerfolg		
Krankheitsstadium		Remission/ Verbesserung	Stabilisierung/ refraktär	} P = 0,335
	lokalisiert	9	3	
	Früh-systemisch/ generalisiert	38	25	

		Therapieerfolg		
Begleittherapie		Remission/ Verbesserung	Stabilisierung/ refraktär	} P = 0,592
	Cyclophosphamid	25	17	
	Kein Cyclophosphamid	21	11	

Abbildung 10: Mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests konnte gezeigt werden, dass der Therapieerfolg (Vollremission/Verbesserung vs. Stabilisierung/refraktär) nicht vom Einsatz von Cyclophosphamid (Cyc vs. andere Immunsuppressiva) und nicht vom Krankheitsstadium (lokalisiert vs. früh-systemisch/generalisiert) abhängig ist.

3.6. Häufigkeit von Rezidiven

Bei 36 Patienten, die eine Remission erreichten oder auf die RTX Therapie ansprachen, war eine Langzeitbeobachtung („follow-up“) über die erste Evaluation nach 4 Monaten hinaus möglich. 16 von 36 Patienten (44,4%) erlitten ein Rezidiv (Wieder- oder Neuauftreten von Krankheitsaktivität) nach im Mittel 13,5 Monaten (Streubreite: 3-54 Monate) (Abb. 11), davon 12 Patienten nach dem 1.Zyklus, 3 Patienten nach dem 2.Zyklus und ein Patient nach dem 3.Zyklus. 15 der 16 Patienten (93,8%) hatten ein „Major“ Rezidiv (Wieder- oder Neuauftreten von potentiell lebens- oder organbedrohender Krankheitsaktivität welche nicht allein durch Steigerung der Glukokortikoid-Dosis behandelt werden kann sondern eine Eskalation der Therapie erfordert) und ein Patient (6,3%) ein „Minor“ Rezidiv (Wieder- oder Neuauftreten von nicht lebens- oder organbedrohender Krankheitsaktivität). Der Patient mit dem „Minor“ Rezidiv bekam

keinen erneuten RTX-Zyklus. 6/11 Patienten die nach dem 1. Zyklus ein „Major“ Rezidiv hatten, wurde ein erneuter RTX-Zyklus verabreicht, davon erreichte ein Patient eine Remission (16,7%), 4 sprachen erneut auf die Therapie an (66,7%) und ein Patient war refraktär (16,7%). 2/3 Patienten die nach dem 2. Zyklus ein „Major“ Rezidiv hatten bekamen einen erneuten RTX-Zyklus, dadurch erreichte einer eine Remission und einer sprach erneut auf die Therapie an (Abb.12).

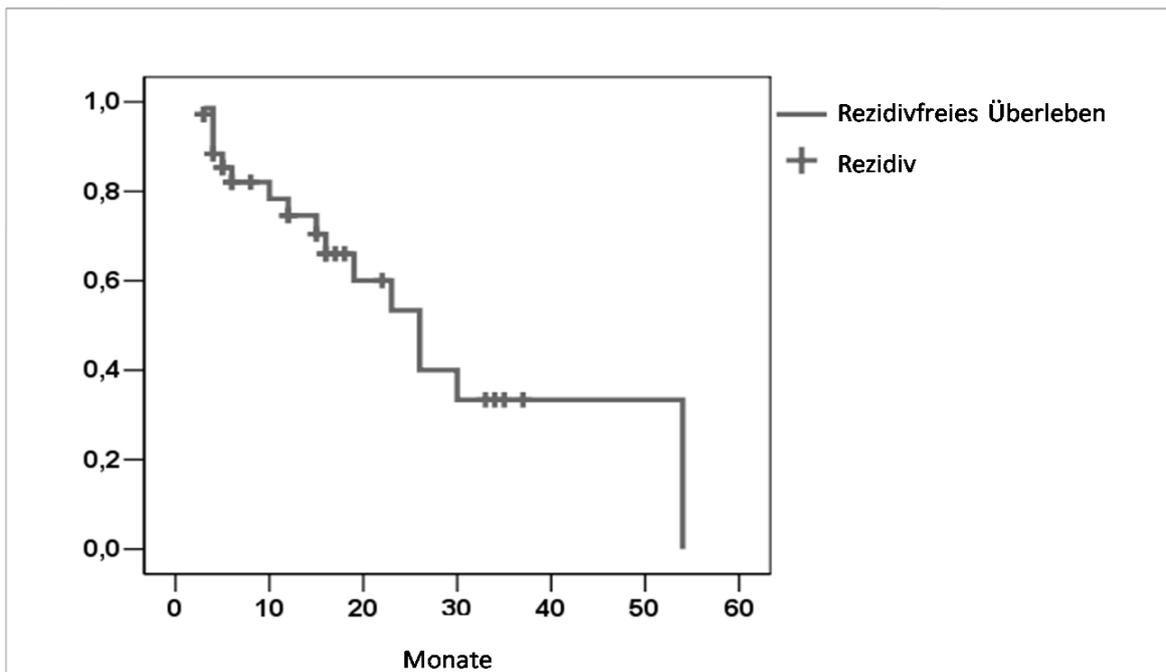


Abbildung 11: Rezidive und rezidivfreies Überleben von 36 Patienten nach erfolgreicher Therapie mit RTX (Remission, Ansprechen). 16 Patienten hatten ein Rezidiv, 20 Patienten blieben bis zum Ende des Beobachtungszeitraum rezidivfrei.

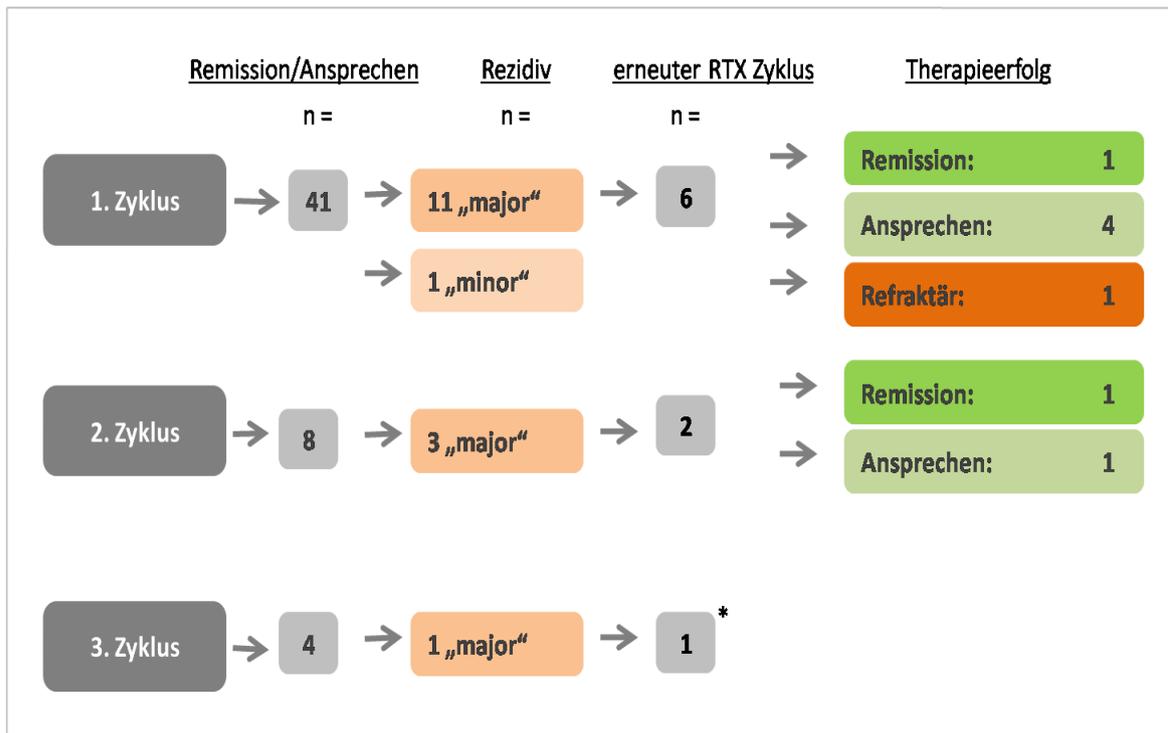


Abbildung 12: Überblick über die Anzahl der Rezidive nach den einzelnen Zyklen und den Effekt der erneuten RTX-Therapie. Insgesamt kam es bei 16/36 Patienten nach erreichter Remission/Ansprechen zu einem Rezidiv (1 „minor“, 15 „major“). 8/15 Patienten mit „major“ Rezidiv bekamen einen 2. oder 3. Zyklus RTX wodurch es bei insgesamt 2 Patienten zu einer Remission und bei 5 Patienten zum Ansprechen kam und nur ein Patient refraktär war. *Ein Patient erreichte durch den 3. RTX-Zyklus zunächst eine Remission und hatte dann ein „major“ Rezidiv. Daraufhin erhielt er einen erneuten RTX-Zyklus. Da dieser Zyklus jedoch nach Ende des Beobachtungszeitraums (12/2009) appliziert wurde gibt es keine Daten bezüglich des Therapieerfolgs.

Die Erhaltungstherapie zum Zeitpunkt des Rezidiv bestand bei 25% (n=4/16) aus Cyclophosphamid, bei 19% (n=3/16) aus Azathioprin, bei 13% (n=2/16) aus Mycophenolat mofetil, bei 25% (n=4/16) aus MTX und bei 19% (n=3/16) aus Leflunomid (Abb. 13a). Dabei hatte der Einsatz von hoch-potenten (Cyclophosphamid) vs. niedrig-potenten (Aza, MMF, MTX, Lef) Immunsuppressiva als Erhaltungstherapie keinen statistischen signifikanten Einfluss auf das Auftreten eines Rezidivs, $p = 0,302$ (Abb. 13b).

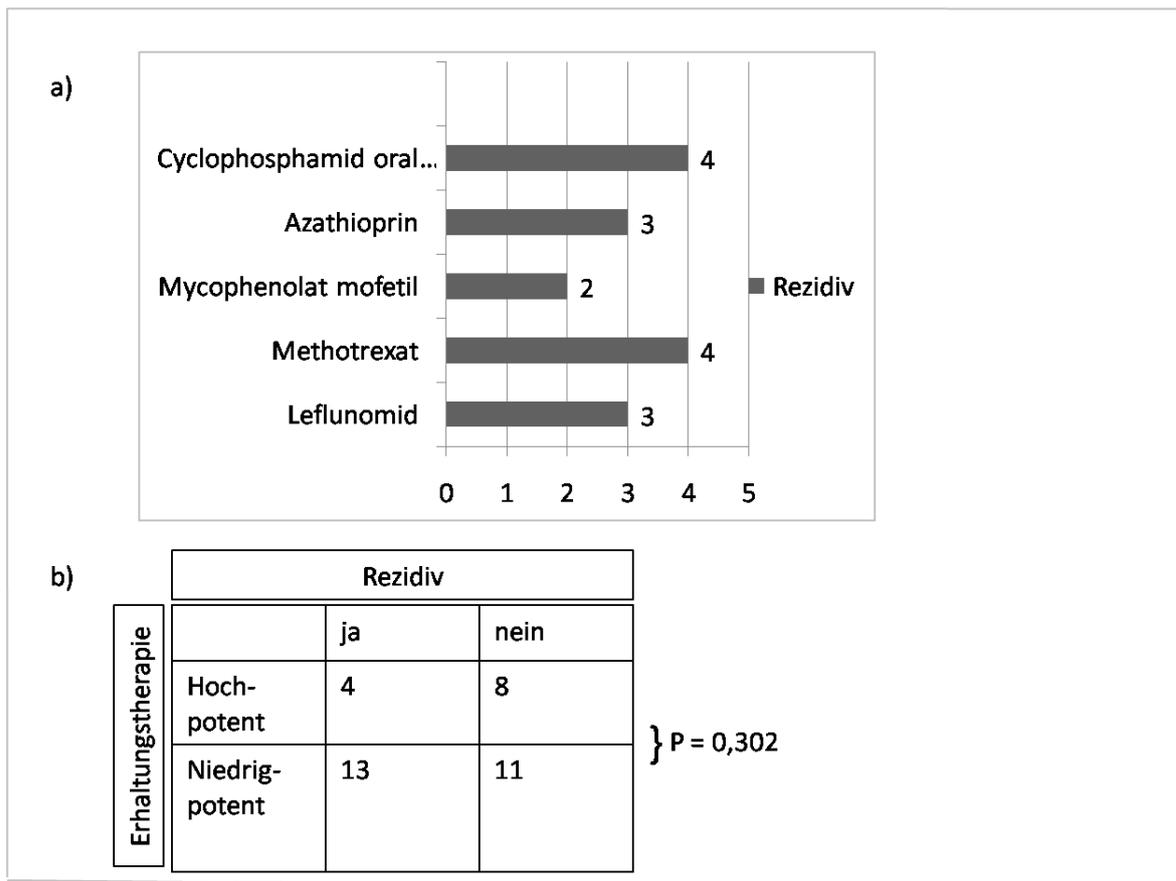


Abbildung 13: a) Immunsuppressiva die zum Zeitpunkt des Rezidivs als Erhaltungstherapie eingesetzt wurden. 2 Patienten erhielten Cyclophosphamid oral 150 mg/d, 2 Patienten Cyclophosphamid Bolus 1g alle 18d. Die niedrig-potenten Immunsuppressiva wurden in folgender Dosierung appliziert: Aza 100 mg/d, MMF 500-100 mg/d, MTX 15-25 mg/Wo., Lef 20-30 mg/d. b) Das Auftreten von Rezidiven hängt nicht von der Art der Erhaltungstherapie ab (hoch-potente vs. niedrig-potente).

3.6.1. Prädiktoren für das Auftreten eines Rezidivs

Mögliche prädiktive Faktoren bei den 36 Patienten, die nach RTX-Therapie im Mittel 13,5 Monaten (Streubreite: 3-54 Monate) nachbeobachtet wurden, ergaben sich nicht. Das Krankheitsstadium (lokalisiert vs. früh-systemisch/generalisiert), die Höhe des ANCA-Titer bei Einleitung der RTX-Therapie (ANCA < 1:320 vs. ANCA > 1:320), die

Begleittherapie (Cyclophosphamid vs. andere Begleittherapie) haben keinen Einfluss auf das Auftreten von Rezidiven (Abb.14).

		Rezidiv		
		ja	nein	
Krankheitsstadium	lokalisiert	6	6	} P = 0,635
	Früh-systemisch/generalisiert	10	14	
		Rezidiv		
		ja	nein	
ANCA-Status	ANCA < 1:320	13	12	} P = 0,169
	ANCA > 1:320	3	8	
		Rezidiv		
		ja	nein	
Begleittherapie	Cyc	9	10	} P = 0,709
	Andere Immunsuppressiva	7	10	

Abbildung 14: Mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests konnte gezeigt werden, dass das Auftreten von Rezidiven nicht vom Krankheitsstadium (lokalisiert vs. früh-systemisch/generalisiert), nicht von der Höhe des ANCA-Titers bei Einleitung der RTX Therapie (< 1:320 vs. > 1:320) und auch nicht von der Begleittherapie (Cyclophosphamid vs. andere Immunsuppressiva) abhängt.

Nur bei einem Patienten stieg der ANCA-Titer zum Zeitpunkt des Rezidivs von 1:128 auf 1:512. Bei allen anderen Patienten ging das Rezidiv nicht mit einem ANCA-Anstieg einher.

Die Zahl der B-Zellen wurde nur bei 3 Patienten bei Auftreten des Rezidivs bestimmt: beim ersten Patienten war die Zahl der B-Zellen von 0 auf 112/ μmol , beim zweiten von 51 auf 942/ μmol und beim dritten von 0 auf 715/ μmol angestiegen. Da die B-Zellen bei Auftreten eines Rezidivs nur bei wenigen Patienten bestimmt wurden, ist das Ergebnis nur als deskriptiv zu bewerten und lässt allenfalls eine Tendenz erkennen.

3.7. Nebenwirkungen

Bei allen 75 Zyklen RTX kam es zu insgesamt 24 Nebenwirkungen. Entsprechend der Einteilung des National Cancer Instituts ergaben sich bei einem Patienten eine milde NW (Grad 1), bei 8 Patienten eine moderate NW (Grad 2), bei 13 Patienten und damit am häufigsten eine schweren NW (Grad 3), 2 Patienten starben (Grad 5) (Abb.15). Einer der verstorbenen Patienten wurde aufgrund einer alveolären Hämorrhagie mit RTX behandelt und war bereits seit 5 Jahren dialysepflichtig, er verstarb 2 Monate nach der letzten RTX Infusion aus ungeklärten Ursachen zu Hause. Der zweite Patient starb 2 Monate nach der letzten RTX Infusion an einer *Pneumocystis jirovecii* und CMV Pneumonie. Beide Patienten wurden neben RTX zusätzlich mit Cyclophosphamid und Glukokortikoid behandelt. Der Patient, der an der *Pneumocystis jirovecii* Pneumonie verstarb, bekam zu diesem Zeitpunkt keine *Pneumocystis* Prophylaxe mehr, da die Glukokortikoid Dosis bereits auf 7 mg/d reduziert werden konnte (keine Prophylaxe mehr bei Glukokortikoid Dosis < 12,5 mg/d gemäß EULAR Empfehlungen).

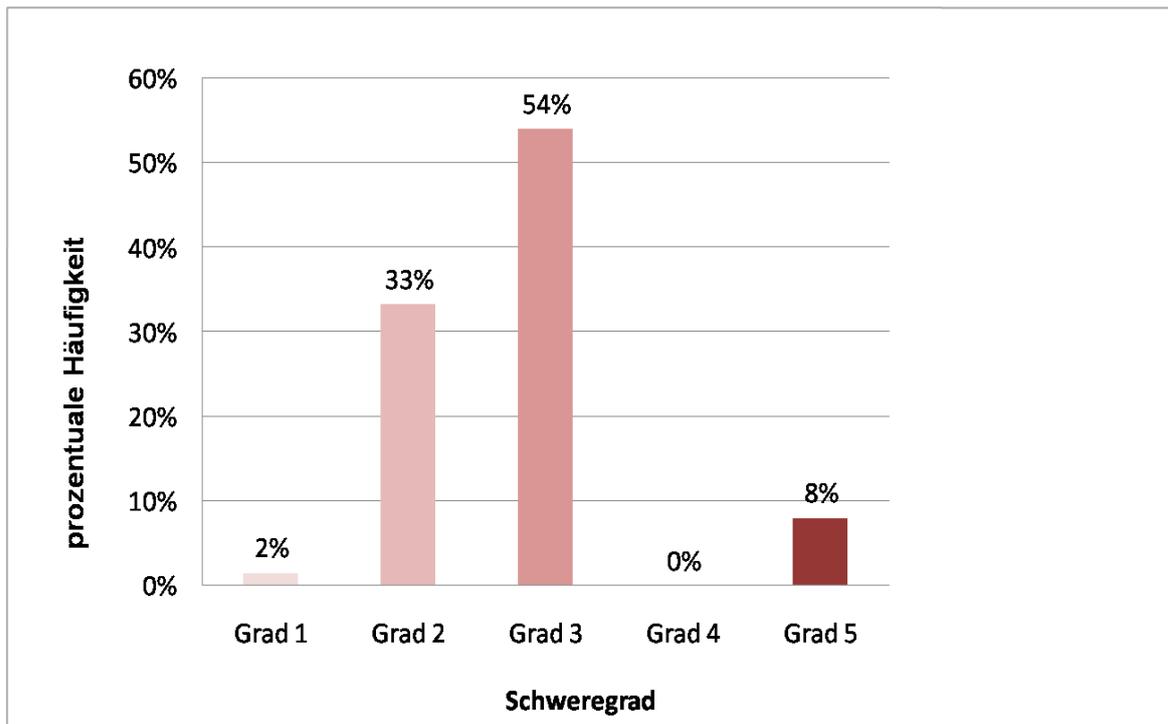


Abbildung 15: Schweregrade der 24 aufgetretenen Nebenwirkungen nach den Terminologiekriterien des National Cancer Institut: Grad 1: Asymptomatisch oder milde Symptome; ausschließlich klinische oder diagnostische Beobachtung, keine Intervention erforderlich Grad 2: Minimale, lokale oder nichtinvasive Intervention Grad3: Medizinisch signifikante jedoch nicht unmittelbar lebensbedrohliche NBW, Hospitalisation notwendig oder Verlängerung der Liegezeit Grad 4: Lebensbedrohliche Komplikation, sofortige Intervention erforderlich Grad 5: Tod durch NBW

Insgesamt stellen Infektionen mit 21 von insgesamt 24 (88%) die häufigste Nebenwirkung der RTX Therapie dar. Davon waren 81% (n=17) nicht opportunistische Infektionen und 19% (n=4) opportunistische Infektionen, davon zweimal eine Herpes zoster Reaktivierung, eine CMV-Reaktivierung und eine Pneumocystis jiroveci Infektion. Die CMV-Reaktivierung und Pneumocystis jiroveci Infektion trat bei einem Patient auf und führte zu Pneumonie und Tod des Patienten (s.o.). Die häufigsten nicht-opportunistischen Infektionen sind Pneumonien (Tbl.10). Diese erforderten bei allen Patienten eine Antibiotikatherapie.

<u>Nebenwirkungen</u>	
Infektion n (%)	
- nicht opportunistisch	
Pneumonie n (%)	21 (28,9)
Infekt der oberen Atemwege n (%)	11 (14,5)
Endokarditis n (%)	3 (3,9)
Harnwegsinfekte n (%)	1 (1,3)
Tränenwegsabszess n (%)	1 (1,3)
- opportunistisch	
Herpes zoster n (%)	2 (2,6)
Cytomegalievirus Reaktivierung n (%)	1 (1,3)
Pneumocystis jirovecii Pneumonie n (%)	1 (1,3)
Tod n (%)	2 (2,6)
Allergie/Infusionsreaktion n (%)	1 (1,5)

Tabelle 10: Nebenwirkungen während der Applikation aller 75 RTX-Zyklen. Die angegebenen Prozenzte beziehen sich auf alle 75 Zyklen.

Die Begleittherapie bei den 4 Patienten mit opportunistischen Infektionen bestand bei den 2 Herpes zoster Reaktivierungen aus niedrig-potenter Immunsuppression (MTX 25 mg/Wo. + GC < 7,5 mg/d und AZA 100 mg/d + GC ≤ 7,5 mg/d). Die CMV-Reaktivierung und Pneumocystis jirovecii Infektion, die zu Pneumonie und Tod führten, traten unter einer hoch-potenten Medikation mit Cyclophosphamid 150 mg/d + GC ≤ 7,5 mg/d auf.

Die Pneumonien als häufigste nicht-opportunistische Infektion traten bei 6/11 Patienten unter einer hoch-potenten Therapie mit Cyclophosphamid Bolus (1g alle 18d + GC ≤ 7,5 mg/d) oder Cyclophosphamid oral (150 mg/d + GC ≤ 7,5 mg/d) auf. Von den 6 anderen nicht opportunistischen Infektionen (Infekt der oberen Atemwege, Endokarditis, Tränenwegsabszess, Harnwegsinfekt) traten 5 unter einer niedrig-potenten Therapie mit MTX oder Azathioprin auf (MTX 25 mg s.c. Wo. + GC ≤ 7,5 mg/d oder AZA 100 mg/d + GC ≤ 7,5 mg/d). Nur der Patient mit Harnwegsinfekt erhielt eine hoch-potente Therapie mit Cyclophosphamid (Abb. 16).

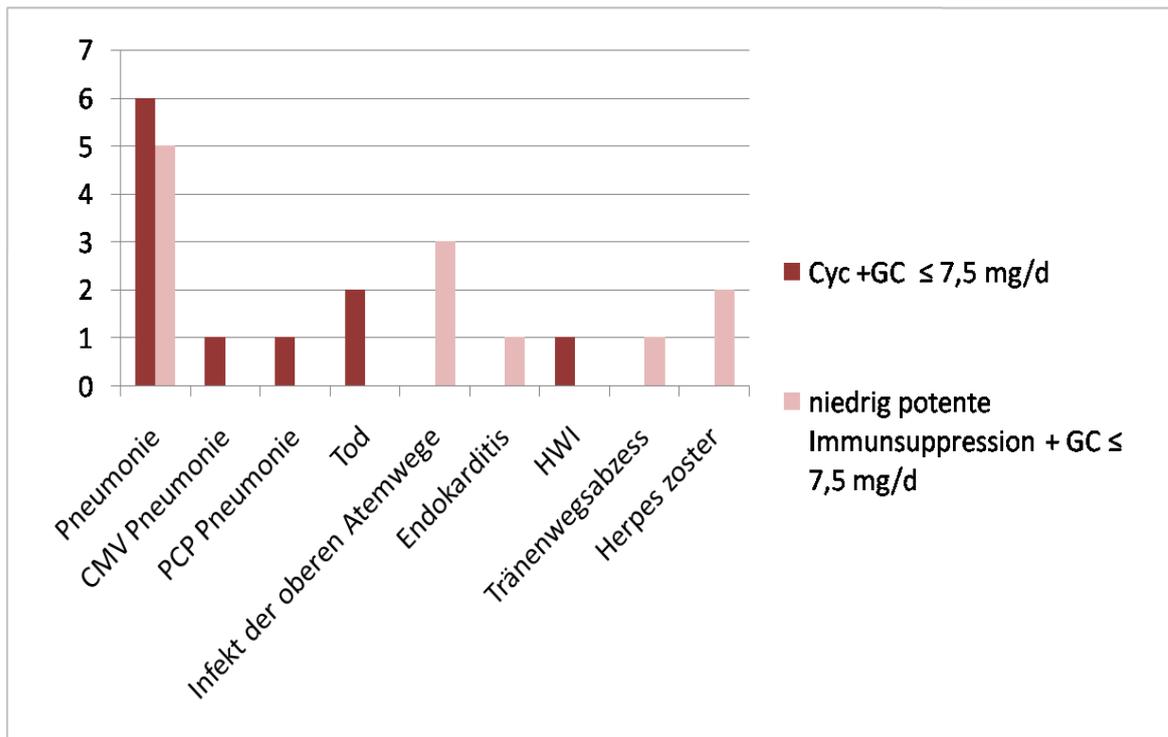


Abbildung 16: Erhaltungstherapie zum Zeitpunkt der Nebenwirkungen. Pneumonien treten bei 6/11 unter einer Erhaltungstherapie mit hoch-potenten Immunsuppressiva wie Cyclophosphamid oral 150 mg/d oder Bolus à 1g alle 18d auf und nur bei 5/11 unter einer niedrig-potenten Immunssuppression mit MTX 25 mg s.c./Wo. oder Azathioprin 100 mg/d.

4 Diskussion

4.1.1. Therapieansprechen in der Gesamtkohorte und Analyse der Unterschiede zu anderen bisher publizierten Daten

Der monoklonale Anti-CD20 Antikörper Rituximab hat in zahlreichen unkontrollierten Studien seine gute Wirksamkeit bei refraktären Verläufen ANCA-assoziiierter Vaskulitiden, insbesondere bei der Granulomatose mit Polyangiitis, gezeigt (Anhang 10). Im Rahmen zweier randomisierter kontrollierter Studien konnte außerdem gezeigt werden, dass RTX in der Remissionsinduktion bei ANCA-assoziiierter Vaskulitiden der bisherigen Standardtherapie mit Cyclophosphamid nicht unterlegen ist (RAVE (50) und RITUXVAS (26)), und bei Patienten, die aufgrund eines Rezidivs behandelt wurden, sogar effektiver als Cyclophosphamid ist.

Die hier vorgestellte unkontrollierte retrospektive Studie mit 59 Patienten mit refraktärer GPA konnte einen guten Effekt von RTX bestätigen (9,3% Remission, 61,3% Ansprechen, 26,7% refraktär) mit statistisch signifikanter Abnahme der klinischen (gemessen am BVAS und DEI), serologischen (BSG und CRP) und immunologischen Parameter (ANCA-Titer, CD20+ B-Zellen) sowie des Glukokortikoid-Bedarfs. Alle Patienten wurden aufgrund des refraktären Krankheitsverlaufes vorher bereits im Mittel mit 3 verschiedenen Immunsuppressiva behandelt, bei allen Patienten ging eine Cyclophosphamid-Therapie voraus. Dennoch ist in dieser Studie die Rate der Patienten, die eine Remission oder ein Ansprechen erreichten, niedriger als in anderen großen unkontrollierten Studien: Jones et al. (25) dokumentierten bei einem großen Patientenkollektiv mit 63 therapierefraktären Patienten mit einer AAV bei 78% (n=49/63) der Patienten eine Remission, bei 24% (n=15/63) ein Ansprechen und nur bei 2% (n=1/63) einen refraktären Verlauf. Ähnlich Ergebnisse wurden in anderen, kleineren Studien erzielt: In einer kleinen Studie von Smith et al. (47) hatten nur 9% (n=1/11) einen refraktären Verlauf, bei Brihaye et al. (2) 25% (N=2/8), bei Lovric et al. (33) 7% (n=1/15) und bei Martinez et al. (34) 12% (n=4/34). In der Summe aller Studien (in Anhang 10) sind nur 14 von insgesamt 211 Patienten (7%) refraktär gegenüber RTX, interessanterweise wurden 10 dieser 14 Patienten aufgrund einer granulomatösen Manifestation mit RTX behandelt. Der dazu im Vergleich hohe Anteil an RTX-refraktären Patienten in unserer Studie mit 26,7% könnte an dem primär hohen Anteil refraktärer granulomatöser Manifestationen in unserem Patientenkollektiv liegen (granulomatöse Manifestationen n=71 vs. refraktäre vaskulitische Manifestationen n=55), die ein insgesamt deutlich schlechteres Ansprechen auf RTX zeigten als vaskulitische

Manifestationen (siehe unten). Bei der Interpretation der unterschiedlichen Ergebnisse müssen natürlich auch methodische Unterschiede in der Evaluation des Therapieerfolgs berücksichtigt werden. So ist zur genauen Beurteilung von Krankheitsaktivität und Therapieansprechen ein systematisches Staging der Patienten notwendig. Der Vorteil der hier vorgestellten Studie liegt in einem systematischen Assessment der Patienten vor der RTX-Gabe sowie in definierten Intervallen nach RTX-Gabe mit komplettem interdisziplinären klinischen (u.a. ophthalmologische, HNO-ärztliche und neurologische Untersuchung), technischen (cMRT), serologischen (Blutsenkungsgeschwindigkeit, C reaktives Protein) und immunologischen (ANCA, B-Zellen) Staging neben einer kompletten allgemein-internistischen Untersuchung.

4.1.2. Ansprechen von granulomatösen vs. vaskulitischen Manifestationen

Bereits in einer früheren Studie aus dem Vaskulitzentrum Lübeck/Bad Bramstedt mit 8 refraktären GPA-Patienten mit ausschließlich granulomatösen Manifestationen (retroorbitale und pulmonale Granulome, subglottische Stenose), die mit RTX behandelt wurden, waren 63% (n=5/8) der Patienten refraktär gegenüber RTX (1).

In der hier vorgestellten, deutlich größeren Studie zeigt ein direkter Vergleich der häufigsten granulomatösen (orbitale Granulome, Pachymeningitis) vs. der häufigsten vaskulitischen Manifestationen (Glomerulonephritis, alveoläre Hämorrhagien), dass granulomatöse Manifestationen häufiger refraktär gegenüber der RTX Therapie sind. Das gute Ansprechen der vaskulitischen Manifestationen ist durch den RTX-Wirkmechanismus einfach nachzuvollziehen: Durch die Depletion der aus den CD20-positiven B-Zellen hervorgehenden Plasmazelle erfolgte eine rasche Depletion des ANCA. Die Folge ist die Unterbindung der ANCA-induzierten Neutrophilen-Aktivierung im Gefäßbett. Die Wirkung von RTX auf die granulomatöse Entzündung ist nicht abschließend geklärt, allerdings könnte auch hier die Depletion gewebeständiger B-Zellen zur Kontrolle der Krankheitsaktivität beitragen, v.a. wenn diesen gewebsständigen B-Zellen in der granulomatösen Entzündung eine T-Zell-aktivierende Funktion zukäme, was bisher allerdings nicht untersucht ist. Bisher vorliegende Daten zeigen allerdings, dass die Depletion der peripher zirkulierenden B-Zellen deutlich effektiver (98%) ist als die der gewebeständigen (40-70%), da im Granulom protektive Faktoren wirken (12).

Es ist außerdem festzustellen, dass nicht alle granulomatösen Manifestationen auf RTX schlechter als Vaskulitismanifestationen ansprechen: so sprechen pulmonale Granulome

nicht signifikant schlechter als vaskulitische Manifestationen auf RTX an ($p=0,94$ für pulmonale Granulome vs. alveoläre Hämorrhagien und $p=0,67$ für pulmonale Granulome vs. Glomerulonephritis). Der Grund für das schlechtere Therapieansprechen granulomatöser Manifestationen v.a. orbitaler Granulome ist unklar. Orbitale Granulome zeigen histologisch den gleichen Aufbau wie auch andere granulomatöse Läsionen bei GPA (27). Allerdings können sie im Gegensatz zu anderen granulomatösen Manifestationen wie z.B. pulmonalen Granulomen zusätzlich von einer Fibrose und von zwiebelschaleneartig angeordneten Kollagenfasern umgeben sein (38, 40). Die dadurch entstehende „Abschirmung“ orbitaler Granulome ist eine mögliche Erklärung für die Refraktärität gegenüber der RTX-Therapie (und anderen Therapien). Ein erfolgsversprechender Ansatz könnte zunächst die operative Resektion mit folgender immunsuppressiver Therapie sein (10). Allerdings birgt die Operation das Risiko von strukturellen Schädigungen und damit Funktionseinschränkungen am Auge in sich, so dass die Operationsindikation zurückhaltend gestellt wird. Auch andere weniger invasive Interventionen wie z.B. Laserbehandlungen könnten die „Abschirmung“ des Granuloms durch Fibrosierung und Kollagenfasern verringern und damit die Wirksamkeit von RTX verbessern. Laser-Behandlungen werden bereits bei tracheobronchialen Granulomen und subglottischen Stenosen erfolgreich durchgeführt (3, 45). Möglicherweise sind auch medikamentöse Therapieansätze mit guten gewebe penetrierenden Eigenschaften von Nutzen. Ein großes Problem in der Evaluation des Therapieansprechens orbitaler Granulome ist das Fehlen zuverlässiger Aktivitätsmarker. Während ein Größenprogress unter Therapie als sicheres Zeichen einer Refraktärität gewertet werden kann, ist die Bewertung größenkonstanter Granulome unklar. Diese wurden in dieser Studie insgesamt als „stabiler Befund“ bewertet und unter der Kategorie „Ansprechen“ subsumiert. Dennoch könnten diese Granulome einer aktiven Entzündung entsprechen und von ihnen eine Rezidivgefahr ausgehen, wenn die Immunsuppression de-eskaliert wird. Andererseits könnten sie auch Narbengewebe darstellen. Hier sind perfusions-gewichtete bildgebende Verfahren (z.B. perfusionsgewichtete MRT) eine mögliche Option für das genaue Assessment der Aktivität dieser Granulome in der Zukunft.

4.1.3. Prädiktoren für das Therapie-Ansprechen

In dieser unkontrollierten Studie hatten die Patienten unterschiedliche Rahmenbedingungen (unterschiedliche Begleitmedikamente, unterschiedliche Krankheitsstadien zu Therapiebeginn). Diese Bedingungen hatten allerdings keinen

statistisch signifikanten Einfluss auf das Therapieansprechen, so beeinflusst der Einsatz von Cyclophosphamid als Begleittherapeutikum vs. andere Immunsuppressiva (MTX, Leflunomid, Azathioprin, MMF, TNF-alpha Blocker, i.v. Ig) den Therapieerfolg nicht. Da allerdings die Mehrzahl der Patienten Cyclophosphamid oral oder als Bolus (55%) als Begleittherapeutikum bekam, musste für die statistische Analyse eine Zusammenfassung in Gruppen erfolgen. So wurden alle Begleittherapeutika (MTX + Leflunomid + Azathioprin + MMF + TNF-alpha Blocker + i.v. Ig) in einer Gruppe zusammengefasst und Cyclophosphamid gegenübergestellt. Um einen Einfluss der einzelnen Kombinationsschemata auf das Therapieansprechen definitiv ausschließen zu können müsste eine kontrollierte randomisierte Studie mit einer größeren Anzahl an Patienten durchgeführt werden, die eine Gegenüberstellung aller einzelnen Begleittherapeutika ermöglicht.

Auch hatte in dieser Studie das Krankheitsstadium (lokalisiert vs. früh-systemisch/generalisiert) auf das Therapieansprechen keinen Einfluss.

Da auch die Mehrzahl der bereits veröffentlichten Studien mit refraktärer AAV unkontrolliert ist, lagen auch bei diesen Patientenkollektiven verschiedene Rahmenbedingungen vor. Allerdings beschäftigten sich nur Jones et al. 2009 (25) ausführlich mit einem möglichen Einfluss der Rahmenbedingungen auf das Therapieansprechen. Sie schlossen einen Einfluss des Therapieschemas (Lymphom- vs. RA- vs. andere Schemata) und auch der immunsuppressiven Begleittherapie (Cyclophosphamid vs. kein Cyclophosphamid) und des Krankheitsstadiums auf den Therapieerfolg aus.

Trotz der statistisch signifikanten Abnahme des ANCA-Titers durch die RTX-Therapie bei der Gesamtheit aller Patienten in dieser Studie, ist der Verlauf der ANCA-Titer kein Prädiktor für das Therapieansprechen (Remission/Ansprechen vs. refraktär). Weder ist ein signifikanter Abfall der ANCA-Titer (≥ 2 Stufen) ein Prädiktor für eine Remission/Ansprechen, noch ist eine Konstanz der ANCA-Titer ein Prädiktor für einen refraktären Verlauf, $p= 0,580$. Andere Studien (1, 25) zeigen eine mögliche Korrelation von fehlender ANCA-Depletion und Refraktärität. Allerdings ist die Anzahl refraktärer Patienten in diesen Patientenkollektiven deutlich geringer als in unserem.

In dieser Studie erreichten 93,5% der Patienten ($n=29/31$), bei denen eine Messung der CD20+ B-Zellen vor und nach RTX-Therapie erfolgte, eine Depletion (Abfall der B-Zellen

auf $<0,02 \times 10^2$ Zellen pro Liter). Allerdings ist die B-Zell Depletion, wie auch in allen bisherigen unkontrollierten Studien, kein Prädiktor für das Therapieansprechen (Remission/Ansprechen vs. Refraktär). Vor allem bei den Patienten mit refraktären granulomatösen Manifestationen wäre die Erfassung der B-Zelldepletion im Gewebe aussagekräftiger als die in der Peripherie. Allerdings stehen dafür bisher keine nicht-invasiven Methoden zur Verfügung.

4.2.1. Häufigkeit von Rezidiven

Bei 36 Patienten, die eine Remission oder ein Ansprechen durch RTX erreichten, lag ein Follow-up von mehr als 4 Monaten vor. Davon erlitten 44,1% (n=16/36) nach im Median 13,5 Monaten (Streubreite: 3-54 Monate) ein Rezidiv, davon 15/16 ein „Major“ Rezidiv.

In Zusammenschau aller bisherigen unkontrollierten Studien (Anhang 10) ist die Rezidivhäufigkeit in diesen Studien kumulativ mit 32,5% (n=64/197) geringer als in unserem Patientenkollektiv. Allerdings umfassen die anderen Studien nicht ausschließlich Patienten mit einer GPA sondern auch mit anderen AAV (Mikroskopische Polyangiitis, Churg-Strauss-Syndrom). Es ist bekannt, dass es bei den unterschiedlichen AAV unterschiedliche Rezidivfrequenzen aufweisen und GPA Patienten häufiger zu Rezidiven neigen als MPA Patienten (22). Somit könnte erklärt sein, warum die Rezidivrate in unserer Studie, in der ausschließlich Patienten mit einer GPA behandelt wurden, höher ausfällt. In den anderen Studien mit verschiedener AAV fehlen Angaben, wie sich die Rezidive auf die verschiedenen Entitäten verteilen (GPA, MPA oder CSS). Jones et al. (25) mit der bisher größten unkontrollierten Studie mit 63 Patienten mit einer AAV, berichten über eine ähnlich hohe Rezidivrate (45%) wie in unserem Patientenkollektiv. Hier waren die meisten Patienten (n=46) ebenfalls GPA-Patienten. Auch der Zeitpunkt des Auftretens des Rezidivs ist mit im Median nach 11,5 Monaten (Streubreite: 4-37 Monate) ähnlich.

Die Begleittherapie zum Zeitpunkt des Rezidiv bestand bei 25% (n=4/16) unserer Patienten mit Rezidiv aus Cyclophosphamid und bei 75% (n=12/16) aus mittel-potenten Immunsuppressiva (Azathioprin, Mycophenolat mofetil, Methotrexat und Leflunomid). Allerdings hat der Einsatz von hoch-potenten (Cyclophosphamid) vs. mittel-potenten (Aza, MMF, MTX, Lef) Immunsuppressiva keinen statistischen signifikanten Einfluss auf das Auftreten eines Rezidivs, $p=0,302$. Nur Jones et al. (25) beschäftigten sich mit einem möglichen Einfluss der immunsuppressiven Erhaltungstherapie auf die Rezidivhäufigkeit

und fanden keinen Unterschied bei Fortführung vs. Unterbrechung der immunsuppressiven Therapie ($p=0,79$). Möglicherweise kann daher in zukünftigen Studien eine Komedikation ausschließlich mit mittel-potenten Immunsuppressiva (plus Glukokortikoid) durchgeführt werden, um Nebenwirkungen/Komplikationen, die möglicherweise eher in der Kombination mit hochpotenten Immunsuppressiva auftreten zu reduzieren.

In unserem Patientenkollektiv erhielten 56,3% ($n=9/16$) der Patienten mit einem Rezidiv einen erneuten RTX-Zyklus. Dadurch konnte bei einem Patienten (12,5%) eine Remission erzielt werden, bei 5 Patienten (62,5%) ein Ansprechen und ein Patient (12,5%) blieb refraktär. Damit ist der Therapieerfolg bei erneuter RTX-Gabe ähnlich dem der erstmaligen RTX-Gabe. Diese Daten entsprechen denen anderer großer unkontrollierter Studien: in der Studie von Jones et al. 2009 (25) erhielten alle Patienten mit einem Rezidiv ($n=28$) einen erneuten RTX-Zyklus. Dadurch erreichten 84% ($n=24/28$) eine erneute Remission oder ein Ansprechen. Auch in Zusammenschau aller kleineren unkontrollierten Studien erfolgt bei Auftreten eines Rezidivs in 89% der Patienten ($n=57/64$) eine erneute RTX Gabe. Nur 3 Patienten (ein Patient bei Lovric et al. 2009 (33) und 2 Patienten bei Martinez Del Pero et al. 2009 (34)) waren gegenüber dem erneuten RTX-Zyklus refraktär, alle anderen Patienten erreichten durch die erneute RTX-Gabe ein Remission oder ein Ansprechen.

Zusammengefasst bleibt auch unter RTX-ähnlich wie in vielen anderen kontrollierten und unkontrollierten Studien die hohe Rezidivrate bei der GPA ein wesentliches Problem im Langzeitverlauf. Daher muss zukünftig nach neuen Möglichkeiten gesucht werden die Häufigkeit der Rezidive zu vermindern. Da Vorläufer-B-Zellen im Knochenmark, ausdifferenzierte antikörperproduzierende Plasmazellen und wahrscheinlich auch B-Gedächtniszellen CD20-negativ sind und deshalb von einer RTX-Therapie nicht beeinflusst werden (46), kommt es nach erfolgreicher RTX-Therapie zu einem Wiederanstieg der B-Zellen und zu einem Rezidiv. Dieser Anstieg erfolgt frühestens nach 6 Monaten, im Median sogar erst nach 9-12 Monaten. Eine präemptive Gabe nach 6 Monaten könnte daher bei schweren, rezidivierenden Verlaufsformen zu erwägen sein. Allerdings steigt dann das Infektionsrisiko durch die massive Immunglobulindepletion.

Außerdem könnten andere Therapieansätze wie Anti-CD19 Antikörper, die sich gegen CD20-negative Vorläufer-B-Zellen im Knochenmark und ausdifferenzierte antikörperproduzierende Plasmazellen sowie B-Gedächtniszellen richten möglicherweise effektiver in der Therapie der GPA sein. Von diesem therapeutischem Ansatz könnte man

sich neben einer effektiveren ANCA-Depletion (über Plasmazelldepletion) auch eine geringere Rezidivhäufigkeit versprechen, da auch Gedächtniszellen sowie gewebeständige Zellen depletiert werden. Allerdings sind auch hier möglicherweise höhere Nebenwirkungsraten (v.a. Infektionen) aufgrund der nachhaltigen Beeinflussung von Gedächtniszellen anzunehmen. Die Wirksamkeit eines solchen Antikörpers (MEDI-551) konnte bereits *in vitro* und *in vivo* (Mausmodelle) nachgewiesen werden und ist eine neue Hoffnung in der Therapie B-Zell abhängiger Tumore und Autoimmunerkrankungen (16).

4.2.2. Prädiktoren für das Auftreten eines Rezidivs

In der hier vorgestellten Studie konnten keine prädiktive Faktoren für das Auftreten von Rezidiven gefunden werden: weder das Krankheitsstadium (lokalisiert vs. früh-systemisch/generalisiert), die Höhe des ANCA-Titer bei Einleitung der RTX-Therapie (ANCA < 320 vs. ANCA > 1:320) noch die Begleittherapie (Cyclophosphamid vs. andere Begleittherapie) hatten einen Einfluss auf das Auftreten von Rezidiven. Außerdem konnte in dieser Studie zum Zeitpunkt des Rezidivs nur bei einem der 16 Patienten ein Anstieg des ANCA-Titers beobachtet werden. Der Grund dafür ist, dass v.a. die granulomatösen Manifestationen rezidiert sind. Bei allen Patienten mit Dokumentation der B-Zellen zum Zeitpunkt des Rezidivs konnte ein Anstieg nach vorheriger B-Zell-Depletion verzeichnet werden.

Alle unkontrollierten Studien summiert trat bei 64 von 197 AAV-Patienten, die eine Remission oder ein Ansprechen durch die RTX-Therapie erreichten, ein Rezidiv auf. Bei 97% (n=62/64) der Patienten mit einem Rezidiv wurde ebenfalls ein Anstieg der B-Zellen zum Zeitpunkt des Rezidivs nach vorheriger B-Zell-Depletion dokumentiert. Zum ANCA-Verlauf bei Rezidiv liegen in diesen Studien divergierende Ergebnisse vor. Keogh et al. (28), Stasi et al. (49) und Seo et al. (44) dokumentierten einen Anstieg der ANCA-Titer zum Zeitpunkt des Rezidivs, während es in anderen Studien (25, 33, 34, 43, 47) zum Zeitpunkt des Rezidivs nicht zum Anstieg der ANCA-Titer kam. Dementsprechend ist eine alleinige Kontrolle der ANCA-Titer in regelmäßigen Zeitabständen nicht sinnvoll zur Früherkennung eines Rezidivs während einer RTX-Therapie, sondern sollte neben klinischen Kontrollen immer in Kombination mit einer Messung der B-Zellen erfolgen. Allerdings fehlen für solche Empfehlungen kontrollierte Studien. Außerhalb der RTX-Studien hatte bereits Finkielman et al. für die GPA nur eine schwache Assoziation zwischen ANCA-Anstieg und nachfolgendem Rezidiv im Rahmen einer kontrollierten Studie zur Wertigkeit von Etanercept bei der GPA (WGET) beschrieben (11).

Jones et al. (25) beschäftigten sich ausführlicher mit möglichen Prädiktoren für das Auftreten eines Rezidives: Ein Einfluss des Therapieschemas (Lymphom- vs. RA- vs. andere Schemata), des Krankheitsstadiums und des initialen ANCA-Titers (ANCA pos. vs. ANCA neg.) wurde in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen in dieser Studie ebenfalls nicht gefunden.

Allerdings kann ein Einfluss der unterschiedlichen Rahmenbedingungen auf das Auftreten von Rezidiven, ähnlich wie ein Einfluss der Rahmenbedingungen auf das Therapieansprechen (s.o.), gezielt nur durch kontrollierte Studien mit größeren Patientenzahlen untersucht werden.

4.3. Nebenwirkungen

In unserer Studie kam es bei den insgesamt 59 Patienten zu 24 Nebenwirkungen (41%, n=24/59). Davon traten 13 schweren NW entsprechend der Einteilung des National Cancer Instituts auf (medizinisch signifikante jedoch nicht unmittelbar lebensbedrohliche NW, Hospitalisation notwendig oder Verlängerung der Liegezeit). Die häufigsten Nebenwirkungen in unserem Patientenkollektiv sind Infektionen, im Verlauf aller Zyklen kam es zu insgesamt 37 Infektionen (davon 28% Pneumonie). 4 unserer Patienten entwickelten eine opportunistische Infektion (Herpes zoster, Cytomegalievirus und Pneumocystis jirovecii Pneumonie). Auch Jones et al. dokumentierten bei 25% der Patienten (n=16/65) infektiöse Komplikationen. Die beiden kontrollierten Studien RAVE (50) und RITUXVAS (26) zur Standardremissionsinduktion zeigten, dass die Nebenwirkungsrate unter der RTX Therapie nicht anders ist als unter der Standardtherapie mit Cyclophosphamid (RAVE: 22% der Patienten in RTX Gruppe NW vs. 33% in der Cyclophosphamid-Kontrollgruppe, p=0,01; RITUXVAS: 42% der Patienten in RTX Gruppe NW vs. 36% in der Cyclophosphamid-Kontrollgruppe).

Zwei unserer Patienten verstarben, ein Patient aus nicht zu klärender Ursache, der zweite Patient an einer Pneumocystis jirovecii und CMV Pneumonie. Beide Patienten wurden zu diesem Zeitpunkt mit Cyclophosphamid und Glukokortikoid behandelt. Der an der CMV/Pneumocystis jirovecii Pneumonie verstorbene Patient hatte bei einer Glukokortikoid Dosis von 7 mg/Tag keine Pneumocystis jirovecii Prophylaxe mehr erhalten, da diese entsprechen den EULAR Empfehlungen nur bei Glukokortikoid Dosis > 12,5 mg/d empfohlen wird. Vielleicht sollte in Zukunft bei der kombinierten Therapie aus RTX und Cyclophosphamid generell eine entsprechende Prophylaxe erfolgen, unabhängig von der Höhe der

begleitenden Glukokortikoid-Therapie. In Zusammenschau aller unkontrollierten Studien verstarben von 211 mit RTX behandelten Patienten 5 (Todesursachen: 1x Adenovirusinfektion, 1x Pneumonie, 1x Hepatitis B Reaktivierung, ein Patient mit ungeklärter Todesursache, 1x unmittelbar an der Vaskulitis). Alle Patienten hatten zum Zeitpunkt des Todes andere begleitende Immunsuppressiva.

Bei Betrachtung aller unkontrollierten Studien mit refraktären AAV-Patienten traten insgesamt 75 Nebenwirkungen bei 211 Patienten (35,5%) auf. Mit 64% (n=48/75) sind Infektionen ebenfalls die häufigsten Nebenwirkungen (v.a. Pneumonien und Infekte der oberen Atemwege), aber auch opportunistische Infektionen (Herpes zoster und Hepatitis B Reaktivierungen) sind bei 10% dokumentiert. Aufgrund der ausführlich dokumentierten, erhöhten Infektanfälligkeit durch die RTX-Therapie ist eine kontinuierliche, engmaschige klinische und serologische Kontrolle nötig. In diesen Kontrollen sollte v.a. die Erfassung der Serumimmunglobulinlevel zur Diagnose eines sekundären Immundefektes beachtet werden. Unverzichtbarer Bestandteil in der Betreuung von Vaskulitispatienten ist zudem eine strukturierte Patientenschulung mit besonderem Schwerpunkt auf der frühen Erkennung von Nebenwirkungen (und Rezidiven).

Zusammengefasst sind infektiöse Komplikationen die häufigste Nebenwirkung einer RTX-Therapie, hier spielt aber sicher auch die Begleittherapie eine wesentliche Rolle. Da in unserer Studie gezeigt werden konnte, dass der Therapieerfolg nicht von den Begleittherapeutikern abhängt sollte in Zukunft v.a. vor dem Hintergrund der schweren Infektkomplikationen eine RTX-Monotherapie (plus Glukokortikoid) erwogen werden.

Bei einem mittleren „follow-up“ unserer Studienpopulation von 7 Monaten (Streubreite: 4-58 Monate) ist es möglich das potentielle Spät-Nebenwirkungen wie zum Beispiel die „late-onset Neutropenie“ oder auch eine progressive multifokale Leukencephalopathie nicht dokumentiert wurden. Insgesamt ist die Langzeiterfahrung mit RTX ungenügend um eine abschließende Stellung bezüglich der potentiellen Nebenwirkungen zu nehmen. Vor allem im Hinblick auf die bereits in der RAVE-Studie (50) dokumentierten Malignome ist eine Langzeitbeobachtung nötig.

5 Zusammenfassung

Die Granulomatose mit Polyangiitis (GPA) gehört zu den primär systemischen Vaskulitiden und ist durch eine granulomatöse Entzündung – v.a. im Respirationstrakt - und eine nekrotisierende Entzündung der kleinen (und mittelgroßen) Gefäße gekennzeichnet. Die Prognose hat sich seit Einführung der immunsuppressiven Therapie mit Cyclophosphamid plus Glukokortikoide und dem nachfolgenden Ausbau der Therapieprotokolle deutlich verbessert. Jedoch sind ca. 15% der Patienten refraktär gegenüber der Standardtherapie. Für diese Situation gibt es bislang keine verbindlichen Empfehlungen. In den letzten Jahren hat Rituximab (RTX) eine gute Wirksamkeit in der Therapie der refraktären GPA im Rahmen von Fallserien gezeigt, wobei v.a. vaskulitische Manifestationen mit RTX behandelt wurden. RTX ist ein chimärer monoklonaler Antikörper, der sich gegen das Oberflächenmolekül CD20 humaner B-Zellen richtet. Ziel dieser Arbeit war die Wirksamkeit und Sicherheit von RTX bei der Behandlung der therapierefraktären GPA zu evaluieren, und dabei insbesondere das Ansprechen vaskulitischer und granulomatöser Manifestationen zu analysieren. Es erfolgte eine retrospektive Datenauswertung von insgesamt 59 Patienten die zwischen 2002 und 2009 bei therapierefraktärem Verlauf RTX erhalten haben. Vor Einleitung der Therapie und bei der Reevaluation nach 4 Monaten erfolgte ein interdisziplinäres Staging. 9,3% der Patienten erreichten eine Remission (definiert als ein vollständiges Fehlen von klinischer Krankheitsaktivität), 61,3% zeigten ein Therapie-Ansprechen und 26,7% der Patienten waren gegenüber der Therapie mit RTX refraktär. Deutliche Unterschiede zeigten sich im Ansprechen von vaskulitischen und granulomatösen Manifestationen: Vaskulitische Manifestationen waren signifikant ($p < 0,05$) seltener refraktär als granulomatöse Manifestationen. Die dokumentierten Nebenwirkungen und Rezidive entsprachen in Art und Häufigkeit bereits vorangegangenen Studien. Die hohe Ansprechrate vaskulitischer Manifestation ist wahrscheinlich auf die Elimination von Vorläuferzellen ANCA-produzierender B-Plasmazellen und damit auch des ANCA zurückzuführen. Hingegen ist die Wirkung von RTX in der Therapie granulomatöser Läsionen bisher nicht eindeutig geklärt. Möglicherweise führt RTX zu einer Depletion von B-Zellen, die T-Zell-aktivierende Funktion haben, wobei die B-Zell-Depletion im Gewebe (Granulom) wahrscheinlich weniger effektiv ist als in der Zirkulation. Zusammenfassend bietet RTX eine gute Option in der Therapie refraktärer vaskulitischer Manifestationen, wohingegen für die Therapie refraktärer granulomatöser Manifestationen effektivere, zielgerichtete Therapien zu entwickeln sind.

6 Abkürzungsverzeichnis

AAV	ANCA-assoziierte Vaskulitiden
ACR	American College of Rheumatology
ANCA	Anti-Neutrophil Cytoplasmatic Antibody
AZA	Azathioprin
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
BVAS 3	Birmingham vasculitis activity score, Version von 2003
C-ANCA	Anti-Neutrophil Cytoplasmatic Antibody with Cytoplasmic Fluorescence
CHC	Chapel Hill Consensus Conference
CMV	Cytomegalie-Virus
CLL	Chronische lymphatische Leukämie
CRP	C-reaktives Protein
CSS	Churg Strauss Syndrom
CYC	Cyclophosphamid
DEI	Disease Extent Index
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EULAR	European League Against Rheumatism
EUVAS	European Vasculitis Study Group
GC	Glukokortikoid
GPA	Granulomatose mit Polyangiitis
ITP	Idiopathische Thrombozytopenische Purpura

i.v. Ig	Intravenöse Gabe von Immunglobulinen
KOF	Körperoberfläche
LEF	Leflunomid
MMF	Mycophenolat mofetil
MPA	Mikroskopische Polyangiitis
MPO-ANCA	Myeloperoxidase-Anti-Neutrophil Cytoplasmatic Antibody
MTX	Methotrexat
NW	Nebenwirkung
PML	Progressive multifokale Leukenzephalopathie
PNP	Polyneuropathie
PR3	Proteinase 3
PR3-ANCA	Proteinase 3-Anti-Neutrophil Cytoplasmatic Antibody
PSV	Primär systemische Vaskulitiden
RA	Rheumatoide Arthritis
RCT	Randomisierte kontrollierte Studie
RPGN	Rapid progressive Glomerulonephritis
RTX	Rituximab
SLE	Systemischer Lupus Erythematoses
WG	Wegenersche Granulomatose
VDI	Vasculitis Damage Index

7 Literaturverzeichnis

1. Aries PM, Hellmich B, Voswinkel J, Both M, Nölle B, Holl-Ulrich K, Lamprecht P, Gross WL: Lack of efficacy of rituximab in Wegener's granulomatosis with refractory granulomatous manifestations. *Ann Rheum Dis* 65 (7), 853-858 (2006)
2. Brihaye B, Aouba A, Pagnoux C, Cohen P, Lacassin F, Guillevin L.: Adjunction of rituximab to steroids and immunosuppressants for refractory/relapsing Wegener's granulomatosis: a study on 8 patients. *Clin Exp Rheumatol* 25 (1), 23-27 (2007)
3. Daum TE, Specks U, Colby TV, Edell ES, Brutinel MW, Prakash UB, DeRemee RA: Tracheobronchial involvement in Wegener's granulomatosis. *Am J Respir Crit Care Med* 151 (2), 522-526 (1995)
4. de Groot K, Gross WL, Herlyn K, Reinhold-Keller E: Development and validation of a disease extent index for Wegener's granulomatosis, *Clin Nephrol* 55(1), 31-38 (2001)
5. de Groot K, Harper L, Jayne DR, Flores Suarez LF, Gregorini G, Gross WL, Luqmani R, Pusey CD, Rasmussen N, Sinico RA, Tesar V, Vanhille P, Westman K, Savage CO: Pulse versus daily oral cyclophosphamide for induction of remission in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: a randomized trial. *Ann Intern Med* 150 (10), 670-80 (2005)
6. de Groot K, Rasmussen N, Bacon PA, Tervaert JW, Feighery C, Gregorini G, Gross WL, Luqmani R, Jayne RW: Randomized trial of cyclophosphamid versus methotrexat for induction of remission in early systemic antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum* 52 (8), 2461-2469 (2005)
7. Eriksson P, Jacobsson L, Lindell A, Nilsson JA, Skogh T. Improved outcome in Wegener's granulomatosis and microscopic polyangiitis? A retrospective analysis of 95 cases in two cohorts. *J Intern Med* 265 (4), 496-506 (2009)
8. Eriksson P: Nine patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibody-positive vasculitis successfully treated with rituximab. *J Intern Med* 257(6), 540-548 (2005)
9. Exley AR, Bacon PA, Luqmani RA, Kitis GD, Gordon C, Savage CO, Adu D.: Development and initial validation of the Vasculitis Damage Index for the standardized clinical assessment of damage in the systemic vasculitides. *Arthritis Rheum* 40(2), 371-380 (1997)
10. Fechner FP, Faquin WC, Zilch BZ: Wegener's granulomatosis of the orbit: a clinicopathological study of 15 patients. *Laryngoscope* 112 (11), 1945-1950 (2002)

11. Finkielman JD, Merkel PA, Schroeder D, Hoffman GS, Spiera R, St Clair EW, Davis JC Jr, McCune WJ, Lears AK, Ytterberg SR, Hummel AM, Viss MA, Peikert T, Stone JH, Specks U; WGET Research Group: Antiproteinase 3 antineutrophil cytoplasmic antibodies and disease activity in Wegener granulomatosis. *Ann Intern Med* 147(9), 611-619 (2007)
12. Gong Q, Ou Q, Ye S, Lee WP, Cornelius J, Diehl L, Lin WY, Hu Z, Lu Y, Chen Y, Wu Y, Meng YG, Gribling P, Lin Z, Nguyen K, Tran T, Zhang Y, Rosen H, Martin F, Chan AC : Importance of cellular microenvironment and circulatory dynamics in B cell immunotherapy. *J Immunol* 174 (2), 817-26 (2005)
13. Gross WL, Lüdemann G, Kiefer G, Lehmann H: Anticytoplasmatic antibodies in Wegener`s granulomatosis. *Lancet* 1 (1), 806 (1986)
14. Gross WL, Schmitt WH, Csernok E: ANCA and associated disease: immunodiagnostic and pathogenetic aspects. *Clin Exp Immunol* 91 (1), 1-12 (1993)
15. Hellmich B, Flossmann O, Gross WL, Bacon P, Cohen-Tervaert JW, Guillevin L, Jayne D, Amhr A, Merkel P, Raspe R, Scott DGI, Witter J, Yazici H, Luqmani RA: EULAR recommendations for conducting clinical studies and/or clinical trials in systemic vasculitis: focus on anti-neutrophil cytoplasm antibody-associated vasculitis. *Ann Rheum Dis* 66 (5), 605 – 617 (2007)
16. Herbst R, Wang Y, Gallagher S, Mittereder N, Kuta E, Damschroder M, Woods R, Rowe DC, Cheng L, Cook K, Evans K, Sims GP, Pfarr DS, Bowen MA, Dall'Acqua W, Shlomchik M, Tedder TF, Kiener P, Jallal B, Wu H, Coyle AJ: B-cell depletion in vitro and in vivo with an afucosylated anti-CD19 antibody. *J Pharmacol Exp Ther* 335 (1), 213-222 (2010)
17. Hoffman GS, Kerr GS, Leavitt RY, Hallahan CW, Lebovics RS, Travis WD, Rottem M, Fauci AS: Wegener granulomatosis: an analysis of 158 patients. *Ann Intern Med* 116 (6), 488-498 (1992)
18. Holle JU, Gross WL, Holl-Ulrich K: Prospective long-term follow-up of patients with localized Wegener`s granulomatosis: does it occur as persistent disease stage? *Ann Rheum Dis* 69 (11), 1934-1939 (2010)
19. Holle JU, Gross WL, Latza U et al. Improved outcome of 445 Wegener`s granulomatosis patients in a German vasculitis center over four decades. *Arthritis Rheum* 63 (1), 257-266 (2011)
20. http://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_5x7.pdf (Tag des Zugriffs 16.02.2011)

21. Hultin LE, Hausner MA, Hultin PM, Giorgi JV: CD20 (pan-B cell) antigen is expressed at a low level on a subpopulation of human T lymphocytes. *Cytometry* 14 (2), 196-204 (1993)
22. Jayne D: Update on the European Vasculitis Study Group trials. *Curr Opin Rheumatol* 13(1), 48-55 (2001)
23. Jayne DR, Gaskin G, Rasmussen N, Abramowicz D, Ferrario F, Guillevin L: Randomized trial of plasma exchange or high-dosage methylprednisolon as adjunctive therapy for severe renal vasculitis. *J Am Soc Nephrol* 18 (7), 2180-2188 (2007)
24. Jennette JC, Falk R, Andrassy K, Bacon PA, Churg J, Gross WL, Hagen EC, Hoffman GS, Hunder GG, Kallenberg CGM, McCluskey RT, Sinico RA, Rees AJ, Es van LA, Waldherr R, Wilk A: Nomenclature of Systemic vasculitides. Proposal of an international conference. *Arthritis Rheum* 37 (2), 187-192 (1994)
25. Jones RB, Ferraro AJ, Chaudhry AN, Brogan P, Salama AD, Smith KG, Savage CO, Jayne DR. A multicenter survey of rituximab therapy for refractory antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum* 60 (7), 2156-2168 (2009)
26. Jones RB, Tervaert JW, Hauser T, Luqmani R, Morgan MD, Peh CA, Savage CO, Segelmark M, Tesar V, van Paassen P, Walsh D, Walsh M, Westman K, Jayne DR; European Vasculitis Study Group: Rituximab versus cyclophosphamide in ANCA-associated renal vasculitis. *N Engl J Med* 363 (3), 211-220 (2010)
27. Kalina PH, Lie JT, Campbell RJ, Garrity JA: Diagnostic value of orbital biopsy in Wegener`s granulomatosis. *Ophthalmology* 99 (1), 120-124 (1992)
28. Keogh KA, Wylam ME, Stone JH, Specks U: Induction of remission by B lymphocyte depletion in eleven patients with refractory antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum* 52(1), 262-268 (2005)
29. Keogh KA, Ytterberg SR, Fervenza FC, Carlson KA, Schroeder DR, Specks U: Rituximab for refractory Wegener's granulomatosis: report of a prospective, open-label pilot trial. *Am J Respir Crit Care Med* 173(2), 180-187 (2006)
30. Keystone E, Emery P, Peterfy CG, Tak PP, Cohen S, Genovese MC, Dougados M, Burmester GR, Greenwald M, Kvien TK, Williams S, Hagerty D, Cravets MW, Shaw T: Rituximab inhibits structural joint damage in patients with rheumatoid arthritis with an inadequate response to tumour necrosis factor inhibitor therapies. *Ann Rheum Dis* 68 (2), 216-221 (2009)

31. Leavitt LY, Fauci AS, Bloch DA, Michel BA, Hunder GG, Arend WP, Calabrese LH, Fries JF, Lie JT, Lightfoot jr., Masi AT, McShane DJ, Mills JA, Steven MB, Wallace SL, Zvaifler NJ: The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Wegener`s granulomatosis. *Arthritis Rheum* 33 (8), 1101 – 1107 (1990)
32. Linton PJ, Bautista B, Biederman E, Bradley ES, Harbertson J, Kondrack RM, Padrick RC, Bradley LM: Costimulation via OX40L expressed by B cells is sufficient to determine the extent of primary CD4 cell expansion and Th2 cytokine secretion in vivo. *J Exp Med* 197(7), 875-83 (2003)
33. Lovric S, Erdbruegger U, Kumpers P, Woywodt A, Koenecke C, Wedemeyer H, Haller H, Haubitz M: Rituximab as rescue therapy in anti- neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: a single-centre experience with 15 patients. *Nephrol Dial Transplant* 24(1), 179-185 (2009)
34. Martinez Del Pero M, Chaudhry A, Jones RB, Sivasothy P, Jani P, Jayne D: B-cell depletion with rituximab for refractory head and neck Wegener's granulomatosis: a cohort study. *Clin Otolaryngol* 34(4), 328-335 (2009)
35. Mukhtyar C, Guillevin L, Cid MC, Dasgupta B, de Groot K, Gross W, Hauser T, Hellmich B, Jayne D, Kallenberg CG, Merkel PA, Raspe H, Salvarani C, Scott DG, Stegeman C, Watts R, Westman K, Witter J, Yazici H, Luqmani R: EULAR recommendations for the management of primary small vessel vasculitis. *Ann Rheum Dis* 68 (3), 318-323 (2009)
36. Mukhtyar C, Lee R, Brown D, Carruthers D, Dasgupta B, Dubey S, Flossmann O, Hall C, Hollywood J, Jayne D, Jones R, Lanyon P, Muir A, Scott D, Young L, Luqmani RA: Modification and validation of the Birmingham Vasculitis Activity Score (version 3), *Ann Rheum Dis* 68 (12), 1827 -1832 (2009)
37. Omdal R, Wildhagen K, Hansen T, Gunnarsson R, Kristoffersen G. : Anti-CD20 therapy of treatment-resistant Wegener's granulomatosis: favourable but temporary response. *Scand J Rheumatol* 34 (3), 229-232 (2005)
38. Ostri C, Heegard S, Prause JU: Sclerosing Wegener`s granulomatosis of the orbit. *Acta Ophthalmol* 86 (8), 917-920 (2008)
39. Pagnoux C, Stubbe M, Lifermann F, et al. Wegener`s granulomatosis strictly and persistently localized to one organ is rare: assessment of 16 patients from the French Vasculitis Study Group Database. *J Rheumatol* 38 (3), 475-478 (2010)
40. Perry SR, Rootman J, White VA: The clinical and pathologic constellation of Wegener`s granulomatosis of the orbit. *Ophthalmology* 104 (4), 683-694 (1997)

41. Roccatello D, Baldovino S, Alpa M, Rossi D, Napoli F, Naretto C, Cavallo R, Giachino O: Effects of anti-CD20 monoclonal antibody as a rescue treatment for ANCA-associated idiopathic systemic vasculitis with or without overt renal involvement. *Clin Exp Rheumatol* 26 (3), 67-71 (2008)
42. Rodríguez-Pinto D, Moreno J: B cells can prime naive CD4+ T cells in vivo in the absence of other professional antigen-presenting cells in a CD154-CD40-dependent manner. *Eur J Immunol* 35(4), 1097-105 (2005)
43. Sánchez-Cano D, Callejas-Rubio JL, Ortego-Centeno N.: Effect of rituximab on refractory Wegener granulomatosis with predominant granulomatous disease. *J Clin Rheumatol* 14 (2), 92-93 (2008)
44. Seo P, Specks U, Keogh KA: Efficacy of rituximab in limited Wegener's granulomatosis with refractory granulomatous manifestations. *J Rheumatol* 35 (10), 2017-2023 (2008)
45. Shvero J, Shitrit D, Koren R, Shalomi D, Kramer MR: Endoscopic laser surgery for subglottic stenosis in Wegener's granulomatosis. *Yonsei Med J* 48 (5), 748-753 (2007)
46. Silverman GJ, Weisman S: Rituximab therapy and autoimmune disorders. *Arthritis Rheum* 48 (6), 1484-1492 (2003)
47. Smith KG, Jones RB, Burns SM, Jayne DR: Long-term comparison of rituximab treatment for refractory systemic lupus erythematosus and vasculitis: Remission, relapse, and re-treatment. *Arthritis Rheum* 54 (9), 2970-2982 (2006)
48. Sneller MC: Rituximab and Wegener's granulomatosis: are B cells a target in vasculitis treatment? *Arthritis Rheum* 52 (1), 1-5 (2005)
49. Stasi R, Stipa E, Del Poeta G, Amadori S, Newland AC, Provan D: Long-term observation of patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis treated with rituximab. *Rheumatology (Oxford)* 45 (11), 1432-1436 (2006)
50. Stone JH, Merkel PA, Spiera R, Seo P, Langford CA, Hoffman GS, Kallenberg CG, St Clair EW, Turkiewicz A, Tchao NK, Webber L, Ding L, Sejismundo LP, Mieras K, Weitzenkamp D, Ikle D, Seyfert-Margolis V, Mueller M, Brunetta P, Allen NB, Fervenza FC, Geetha D, Keogh KA, Kissin EY, Monach PA, Peikert T, Stegeman C, Ytterberg SR, Specks U; RAVE-ITN Research Group: Rituximab versus cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med* 363 (3), 221-232 (2010)

51. Taylor SR, Salama AD, Joshi L et al. Rituximab is effective in the treatment of refractory ophthalmic Wegener`s granulomatosis. *Arthritis Rheum* 60 (5), 1540-1547 (2009)
52. Tesfa D, Ajeganova S, Hägglund H, Sander B, Fadeel B, Hafström I, Palmblad j: Late-onset neutropenie following rituximab therapy in rheumatic disease: association with B lymphocyte depletion and infections. *Arthritis Rheum* 63 (8), 2209-2214 (2011)
53. Toubi E, Kessel A, Slobodin G, Boulman N, Pavlotzky E, Zisman D, Rozenbaum M, Rosner I: Changes in macrophage function after rituximab treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 66 (6), 818-820 (2007)
54. van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S et al.: Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener`s granulomatosis. *Lancet* 1 (8426), 425-429 (1985)

8 AnhangAnhang 1:**Definition und Klassifikationskriterien der Granulomatose mit Polyangiitis****Definition der Chapel-Hill-Consensus-Conference (24)**

Granulomatöse Entzündung im Respirationstrakt plus nekrotisierende, kleine bis mittelgroße Gefäße betreffende Vaskulitis häufig mit nekrotisierender Glomerulonephritis.

Klassifikationskriterien nach dem American College of Rheumatology (31)

- Nasale/orale Entzündung (blutig-krustiger Schnupfen/orale Ulzera)
 - Pathologischer Röntgen-Thorax mit Rundherden und/oder Infiltraten
 - Pathologisches/nephritisches Urinsediment
 - Histologisch granulomatöse Veränderungen innerhalb oder in der Umgebung von Gefäßwänden
- > Eine Vaskulitis kann als Granulomatose mit Polyangiitis klassifiziert werden, wenn 2 der 4 genannten Kriterien erfüllt sind
- > Für das Vollbild der GPA (Generalisationsphase) geht man bei Anwendung der Kriterien des American College of Rheumatology von einer Spezifität von 92% und einer Sensitivität von 88% aus.

Anhang 2:**Definition der Krankheitsstadien der Granulomatose mit Polyangiitis in klinischen Studien (15)**

Krankheitsstadium	Systemische Vaskulitis außerhalb des HNO-Bereichs und der Lunge	Bedrohung lebenswichtiger Organe	Merkmal	Serum Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)
Lokalisiertes Stadium („Initialstadium“)	Nein	Nein	ANCA typischerweise negativ	< 120
Frühsystemisches Stadium	Ja	Nein	ANCA pos. oder neg.	< 120
Generalisiertes Stadium	Ja	Ja	ANCA pos.	< 500
Schwerer Verlauf	Ja	Organversagen	ANCA pos.	> 500
Refraktär	Ja	Ja	Refraktär gegenüber der Standardtherapie	/

Anhang 3:**Kummulative Organmanifestation einer Kohorte von 167 GPA Patienten mit ED zwischen 1999-2002 (Ende des Beobachtungszeitraumes 2005) (19)**

Krankheitsmanifestation	Häufigkeit in Prozent
E (HNO-Trakt)	~ 90%
L (Lunge)	~ 65%
K (Niere)	~ 50%
H (Herz)	~5 %
S (Haut)	~20%
P (peripheres Nervensystem)	~ 40%
Ey (Auge)	~ 28%
A (Gelenke)	~ 62%
C (zentrales Nervensystem)	~ 10%
G (Gastrointestinaltrakt)	~ 1%

Anhang 4:**Beispiele für granulomatöse und vaskulitische Manifestationen**

Granulomatöse Krankheitsmanifestationen
Granulomatöse Sinusitis
Orbitale Granulome
Orbitonasale Fistel
Subglottische inflammatorische Stenose
Ulcerierende Tracheobronchitis
Inflammatorische Bronchusstenose
Pulmonale Granulome
Pachymeningitis
Vaskulitische Krankheitsmanifestationen
Lungeninfiltrate
Neutrophile Alveolitis
Alveoläre Hämorrhagien
Nekrotisierende Glomerulonephritis
Polyneuropathie
Neuritis nervi optici
Zerebrale Kleingefäßvaskulitis
Purpura
Episkleritis

Anhang 5:**Birmingham Vasculitis Activity Score version 3 (BVAS 3)**

Glossary and Scoring for BVAS 2003: General Rule: disease features are scored only when they are due to active vasculitis, after excluding other causes (e.g. infection, hypertension etc.). If the feature is due to active disease, it is scored in the boxes. It is essential to apply these principles to each item below. Scores have been weighted according to severity which each symptom or sign is through to represent.

		BVAS persistent	BVAS new/worse
1. General	Maximum scores	2	3
Myalgia	Pain in the muscles	1	1
Arthralgia or arthritis	Pain in the joints or joint inflammation	1	1
Fever > 38°C	Documented oral/axillary temperature elevation. Rectal temps are 0,5°C higher	2	2
Weight loss	At least 2kg loss of body weight (not fluid) having occurred since last assessment or in the 4 weeks not as a consequence of dieting	2	2
2. Cutaneous	Maximum scores	3	6
Infarct	Area of tissue necrosis or splinter haemorrhages	1	2
Purpura	Petechiae (small red spots), palpable purpura, or ecchymoses (large pleques) in skin or oozing (in the absence of trauma) in themucous membranes	1	2
Ulcer	Open sore in a skin surface	1	4
Gangrene	Extensive tissue necrosis (e.g. digit)	2	6
Other skin vasculitis	Livedo reticularis, subcutaneous nodules, erythema nodosum	1	2
3. Mucous membranes/eyes	Maximum scores	3	6
Mouth ulcers/granulomata	Aphthous stomatitis, deep ulcers and/or “strawberry” gingival hyperplasia, excluding lupus erythematosus, and infection	1	2
Genital ulcers	Ulcers localized in the genitalia or perineum, excluding infections	1	1
Adnexal inflammation	Salivary (diffuse, tender swelling unrelated to meals) or lacrimal gland inflammation. Exclude other causes (infection). Specialist opinion preferably required.	2	4

Significant proptosis	Protrusion of the eyeball due to significant amounts of inflammatory in the orbit; if unilateral, there should be a difference of 2 mm between one eye and the other. This may be associated with diplopia due to infiltration of extra-ocular muscles. Developinf myopia (measured on best visual acuity, see later) can also be a manifestation of proptosis	2	4
Red eye (Epi)scleritis	Inflammation of the sclera (specialist opinion usually required). Can be heralded by photophobia	1	2
Red eye conjunctivitis	Inflammation of the conjunctivae (exclude infectious causes and excluding uveitis as cause of the red eye, also exclude conjunctivitis sicca wich should not be scored as this is not a feature of active vasculitis); (specialist opinion usually required)	1	1
Blepharitis	Inflammation of eyelids. Exclude other causes (trauma, infection). Usually no specialist opinion required		
Keratitis	Inflammation of central or peripheral cornea as evaluated by specialist.		
Blurred vision	Altered measurement of best visual acuity from previous or baseline, requiring specialist opinion for further evaluation.	2	3
Sudden visual loss	Sudden loss of vision requiring ophthalmological assesement		6
Uveitis	Inflammation of the uves (iris, ciliary body, choroid) confirmed by ophthalmologist	2	6
Retinal vasculitis	Retinal vessel sheathing on examination by specialist or confirmed by retinal fluorescein angiography	2	6
Retinal vessel thrombosis	Arterial or venous retinal blood vessel occlusion	2	6
Retinal exudates	Any area of soft retinal exudates (exclude hard exudates) seen on ophthalmoscopic examination	2	6
Retinal haemorrhages	Any area of retinal haemorrhage seen on ophthalmoscopic examination	2	6
4. ENT	Maximum scores	3	6
Bloody nasal discharge/nasal crusts/ulcer and/or granulomata	Bloody, mucupurolent, nasal secretetion, light or dark brown crusts frequently obstructing the nose, nasal ulcers and/or granulomatous lesions observed by rhinoscopy	3	6

Paranasal sinus involvement	Tenderness or pain over paranasal sinuses usually with pathologic imaging (CT, MR, x-ray, ultrasound)	1	2
Subglottic stenosis	Stridor and hoarseness due to inflammation and narrowing of the subglottic area observed by laryngoscopy	3	6
Conductive hearing loss	Hearing loss due to middle ear involvement confirmed by otoscopy and/or tuning fork examination and/or audiometry	1	3
Sensorineural hearing loss	Hearing loss due to auditory nerve or cochlea damage confirmed by audiometry	2	6
5. Chest	Maximum scores	3	6
Wheeze	Wheeze on clinical examination	1	2
Nodules or cavities	New lesions, detected by CXR		3
Pleural effusion/pleurisy	Pleural pain and/or friction rub on clinical assessment or new onset of radiologically confirmed pleural effusion. Other causes (e.g. infection, malignancy) should be excluded	2	4
Infiltrate	Detected by CXR or CT scan. Other causes (infection) should be excluded	2	4
Endobronchial involvement	Endobronchial pseudotumor or ulcerative lesions to be included in VDI, subglottic lesions to be recorded in the ENT section	2	4
Massive haemoptysis/alveolar haemorrhage	Major pulmonary infiltrates, other causes of bleeding should be excluded if possible	4	6
Respiratory failure	Dyspnoea which is sufficiently severe as to require artificial ventilation	4	6
6. Cardiovascular	Maximum scores	3	6
Loss of pulses	Loss of pulses in any vessel detected clinically, this may include loss of pulses leading to threatened loss of limb	1	4
Valvular heart disease	Significant valve abnormalities in the aortic mitral or pulmonary valves detected clinically or echocardiographically	2	4
Pericarditis	Pericardial pain and/or friction rub on clinical assessment	1	3
Ischaemic cardiac pain	Typical clinical history of cardiac pain leading to myocardial infarction or angina. Consider the possibility of more common causes (eg atherosclerosis)	2	4

Cardiomyopathy	Significant impairment of cardiac function due to poor ventricular wall motion confirmed on echocardiography	3	6
Congestive cardiac failure	Heart failure by history or clinical examination	3	6
7. Abdominal	Maximum scores	4	9
Peritonism	Acute abdominal pain with peritonism/peritonitis due to perforation/infarction of small bowel, appendix or gallbladder etc., or acute pancreatitis confirmed by radiology/surgery/elevated amylase	3	9
Bloody diarrhoea	Of recent onset, inflammatory bowel disease and infectious causes excluded	3	9
Ischaemic abdominal pain	Severe abdominal pain with typical features of ischaemia confirmed by imaging or at surgery, with typical appearance of aneurysms or abnormal vasculature characteristics of vasculitis	2	6
8. Renal	Maximum scores	6	12
Hypertension	Diastolic BP > 95, accelerated or not, with or without retinal changes	1	4
Proteinuria	> 1+ on urinalysis, > 0,2 g/24 hours. Infection should be excluded	2	4
Haematuria	10 or more RBC per hpf (high power field), excluding urinary infection and urinary lithiasis	3	6
Creatinine 125-249	Serum creatinine values 125-249 µmol/l at first assessment only	2	4
Creatinine 250-499	Serum creatinine values 250-499 µmol/l at first assessment only	3	6
Creatinine ≥ 500	Serum creatinine values 500 µmol/l or greater at first assessment only	4	8
Rise in creatinine > 30% or creatinine clearance fall > 25%	Significant deterioration in renal function attributable to active vasculitis		6
9. Nervous system	Maximum scores	6	9
Headache	New, unaccustomed and persistent headache	1	1
Meningitis	Severe headache with neck stiffness ascribed to inflammatory meningitis after excluding infection/bleeding	1	3
Organic confusion	Impaired orientation, memory or other intellectual function in the absence of metabolic, psychiatric, pharmacological or toxic causes	1	3

Seizures (not hypertensive)	Paroxysmal electrical discharges in the brain and producing characteristic physical changes including tonic and clonic movements and certain behavioural changes	3	9
Stroke	Cerebrovascular accident resulting in focal neurological signs such as paresis, weakness etc., A stroke due to other causes (eg atherosclerosis) should be considered and appropriate neurological advice is recommended	3	9
Cord lesion	Transverse myelitis with lower extremity weakness or sensory loss (usually with a detectable sensory level) with loss of sphincter control (rectal and urinary bladder)	3	9
Cranial nerve palsy	Facial nerve palsy, recurrent nerve palsy, oculomotor nerve palsy etc., excluding sensorineural hearing loss and ophthalmic symptoms due to inflammation	3	6
Sensory peripheral neuropathy	Sensory neuropathy resulting in glove and/or stocking distribution of sensory loss. Other causes should be excluded (eg idiopathic, metabolic, vitamin deficiencies, infectious, toxic, hereditary)	3	6
Motor mononeuritis multiplex	Simultaneous neuritis of single or many peripheral nerves, only scored if motor involvement. Other causes should be excluded (diabetes, sarcoidosis, carcinoma, amyloidosis)	3	9
10. Others	Other feature of active vasculitis- please describe		

Anhang 6:**Disease Extent Index (DEI)**

Note: all symptoms in any organ system must be attributable to active vasculitis, other possible causes (especially infections and/or malignoma) must have been excluded.

Symptoms	Organ manifestation	Scores	Notes	Standard diagnostic procedure
E	ENT and upper airways	2	Nasal obstruction, crusty, bloody discharge, non-infectious sinusitis, middle or inner ear deafness, laryngitis, tracheal stenosis	ENT exem. (cranial MRT, biopsy, sinuscopy)
Eye	Inflammatory eye lesions	2	Scleritis, episcleritis, retinitis, retroorbital mass, if not grown contiguously from the ENT tract	Ophthal. exam. (MRT)
H	Heart	2	Paracardial effusion, new arrhythmias, myocardial infarction, myocarditis	Electrocardiography, chest X-ray, echocardiogram, myocardial scan, (cardiac catheter for potential proof of coronariitis and possible myocardial biopsy)
L	Lung and lower airways	2	Pulmonary hemorrhage, bronchial stenosis, Infiltrates or nodules	Chest x-ray, (high resolution CT scan, bronchoscopy, biopsy)
K	Kidney	2	Nephritic sediment with or without deterioration of renal function	Urinary sediment, serum creatinine, abdominal ultrasound, (kidney biopsy)

Gi	Gastrointestinal tract	2	New bloody diarrhea, histological proof of vasculitis in a biopsy	Ultrasound, (endoscopy, biopsy, angiography, surgery)
P	Peripheral nervous system	2	Motory and/or sensory distal symmetrical PNP or mononeuritis multiplex	Neurological exam, electroneurography, electromyography, (MRT of muscles, sural nerve biopsy)
C	Central nervous system	2	Primary nodular CNS lesions, small vessel vasculitis of meningea, with or gray matter	Neurological exam (electroencephalography, cranial MRT, analysis of cerebrospinal fluid)
S	Skin	2	Palpable purpura, digital gangrene, non-healing ulcerations	Dermatologist opinion (skin biopsy)
A	Arthragias/arthritis	2	Rheumatic complains, including arthralgias, myalgias, non-destructive arthritis, myositis	x-ray, ultrasound, (bone scan, diagnostic joint puncture, muscle biopsy)
B	Constitutional symptoms	1	Fever > 38°C, weight loss > 10% of body weight, fatigue, night sweats	

Anhang 7:**Begleitmedikation während der einzelnen RTX-Zyklen**

Begleitmedikation	
Glukokortikoide n (%)	
Dosierung in mg,	75 (100%)
Median (min-max)	15 (0-90)
<u>1. Zyklus</u>	
Cyclophosphamid	
oral n(%)	17 (29)
i.v. n (%)	21 (36)
Methotrexat n (%)	8 (14)
Leflunomid n (%)	2 (3)
Azathioprin n (%)	4 (7)
Mycophenolat mofetil n (%)	2 (3)
TNF-alpha Blocker n (%)	1 (2)
Andere n (%)	2 (3)
Keine n (%)	3 (5)
<u>2. Zyklus</u>	
Cyclophosphamid	
oral n(%)	1 (8)
i.v. n (%)	2 (17)
Methotrexat n (%)	1 (8)
Leflunomid n (%)	2 (17)
Azathioprin n (%)	4 (33)
Mycophenolat mofetil n (%)	1 (8)
TNF-alpha Blocker n (%)	0 (0)
Andere n (%)	0 (0)
Keine n (%)	1 (8)

<u>3. Zyklus</u>	
Cyclophosphamid	
oral n(%)	0 (0)
i.v. n (%)	0 (0)
Methotrexat n (%)	0 (0)
Leflunomid n (%)	1 (25)
Azathioprin n (%)	3 (75)
Mycophenolat mofetil n (%)	0 (0)
TNF-alpha Blocker n (%)	0 (0)
Andere n (%)	0 (0)
Keine n (%)	0 (0)
<u>Anzahl von Kombinationsmedikamenten</u>	
Median (min-max)	1 (0-2)

Anhang 8:

Häufigkeit verschiedener Organmanifestationen vor RTX Einleitung und Effekt der Therapie auf einzelne Organmanifestationen

Krankheits-manifestation	Patienten n	Remission n (%)	Ansprechen-Verbesserung der Krankheits-aktivität	Ansprechen-Stabilisation der Krankheits-aktivität	Refraktär n (%)
Granulomatöse Sinusitis	3	0 (0)	2 (66,7)	0 (0)	1 (33,3)
Orbitale Granulome	27	0 (0)	12 (44,4)	6 (22,2)	9 (33,3)
Orbitonasale Fistel	2	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)

Subglottische Stenose	8	3 (37,5)	4 (50)	0 (0)	1 (12,5)
Ulcerierende Tracheobronchitis	2	1 (50)	1 (50)	0 (0)	0 (0)
Inflammatorische Bronchusstenose	2	0 (0)	0 (0)	1 (50)	1 (50)
Pulmonale Granulome	12	2 (16,7)	8 (66,7)	0 (0)	2 (16,7)
Lungeninfiltrate	4	4 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Neutrophile Alveolitis	2	2 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Alveoläre Hämorrhagie	12	8 (66,7)	2 (16,7)	0(0)	1 (8,3)
Glomerulonephritis	26	9 (34,6)	12 (46,2)	0 (0)	4 (15,4)
Arthritis	6	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Polyneuropathie	4	1 (25)	3 (75)	0 (0)	0 (0)
Hirnnervenparese III-XII	3	1 (33,3)	1 (33,3)	0 (0)	1 (33,3)
Meningitis	12	1 (8,3)	5 (41,7)	1 (8,3)	4 (33,3)
Neuritis nervi optici	1	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)

Anhang 9:

Effekt von RTX auf klinische, serologische, immunologische Parameter und den Glukokortikoid-Bedarf während der einzelnen Zyklen

	Vor RTX-Gabe Median (Streubreite)	Reevaluation Median (Streubreite)	p-Wert
<u>Klinische Parameter</u>			
BVAS 3 alle Zyklen	11 (1-28)	5 (0-20)	< 0,05
BVAS 3 1. Zyklus	11,5 (1-28)	5 (0-20)	< 0,05
BVAS 3 2.Zyklus	11 (5-18)	6,5 (0-18)	< 0,05
BVAS 3 3. Zyklus	6,5 (4-12)	2 (0-5)	Nicht sign.

DEI alle Zyklen	4 (2-8)	2 (0-6)	< 0,05
DEI 1. Zyklus	4 (2-8)	2 (0-4)	< 0,05
DEI 2. Zyklus	3 (2-6)	2 (0-6)	Nicht sign.
DEI 3. Zyklus	3 (2-6)	3 (0-6)	Nicht sign.
<u>Serologische Parameter</u>			
BSG mm/Std. alle Zyklen	40 (6-150)	40 (2-94)	< 0,05
BSG mm/Std. 1. Zyklus	43 (6-105)	41 (4-94)	< 0,05
BSG mm/Std. 2. Zyklus	37 (6-150)	39 (2-88)	Nicht sign.
BSG mm/Std. 3. Zyklus	16 (8-50)	15 (4-26)	Nicht sign.
CRP mg/dl alle Zyklen	1,5 (0-277)	1,1 (0-50,6)	< 0,05
CRP mg/dl 1. Zyklus	1,6 (0-277)	1 (0-50,6)	< 0,05
CRP mg/dl 2. Zyklus	1,2 (0,1-5,7)	1,25 (0,1-189)	Nicht sign.
CRP mg/dl 3. Zyklus	1,4 (0,2-6)	1,5 (0,1-5,0)	Nicht sign.
<u>Immunologische Parameter</u>			
ANCA Titer alle Zyklen	128 (0-4096)	32 (0-2048)	< 0,05
ANCA Titer 1. Zyklus	160 (0-5120)	40 (0-2560)	< 0,05
ANCA Titer 2. Zyklus	80 (28-640)	30 (0-160)	< 0,05
ANCA Titer 3. Zyklus	20 (0-40)	0 (0-10)	Nicht sign.
B-Zellen µmol alle Zyklen	13 (0-715)	0 (0-51)	< 0,05
<u>Glukokortikoid-Bedarf</u>			
Prednisolondosis alle Zyklen	15 (0-90)	8 (0-80)	< 0,05
Prednisolondosis 1.Zyklus	16 (5-90)	7,5 (0-80)	< 0,05
Prednisolondosis 2.Zyklus	10 (0-50)	11 (5-27,5)	Nicht sign.
Prednisolondosis 3.Zyklus	12,5 (5-20)	7,5 (5-10)	Nicht sign.

Anhang 10:

Therapieansprechen refraktärer oder rezidivierender AAV auf RTX-Therapie und Rezidive in verschiedenen unkontrollierten Studien von 2005 bis 2009

Autor	Anzahl (n)	Erkrankung	Ergebnis	Rezidive n (%)
Keogh K et al. 2005 (28)	11	PR3-ANCA- AAV	10 Remission1 Ansprechen	2 (18)

Keogh K et al. 2006 (29)	10	PR3-ANCA- AAV	10 Remission	1 (10)
Eriksson P et al. 2005 (8)	9	AAV	8 Remission 1 Ansprechen	2 (22)
Omdal R et al. 2005 (37)	3	GPA	1 Remission 2 Ansprechen	3 (100)
Aries P et al. 2006 (1)	8	GPA	2 Remission 1 Ansprechen 5 Refraktär	0 (0)
Stasi R et al. 2006 (49)	10	8 GPA, 2 MPA	9 Remission 1 Ansprechen	3 (30)
Smith K et al. 2006 (47)	11	GPA, MPA, CSS	9 Remission 1 Ansprechen 1 Refraktär	6 (60)
Brihaye B et al. 2007 (2)	8	GPA	3 Remission 2 Ansprechen 2 Refraktär	1 (20)
Sanchez-Cano D et al. 2008 (43)	4	GPA	4 Remission	3 (75)

Roccatello D et al. 2008 (41)	7	4 MPA, 2 GPA, 1 CSS	7 Remission	0 (0)
Seo P et al. 2008 (44)	8	GPA	8 Remission	5 (63)
Lovic S et al. 2009 (33)	15	13 GPA, 1 MPA, 1 CSS	6 Remission 8 Ansprechen 1 Refraktär	3 (21)
Taylor S et al. 2009 (51)	10	GPA	10 Remission	0 (0)
Jones R et al. 2009 (25)	63	AAV	49 Remission 15 Ansprechen 1 Refraktär	28 (45)
Martinez Del Pero et al. 2009 (34)	34	GPA	21 Remission 9 Ansprechen 4 Refraktär	7 (23)

9 Danksagung

Diese Arbeit entstand in der Klinik für Rheumatologie und Immunologie der Universität zu Lübeck unter der Leitung von Prof. Dr. med. W.L. Gross. Ihm gilt mein Dank für die Vergabe des Themas und die freundliche Beratung. Außerdem danke ich Frau PD Dr.med. Reinhold-Keller für die kritische Durchsicht der Arbeit und die konstruktive Kritik. Frau PD Dr.med. Holle danke ich für die Motivation und das Vorantreiben der Publikation. Außerdem für die Unterstützung meiner beruflichen Zukunft.

Ich danke Prof. Dr. rer. nat. Ziegler aus dem Institut für Medizinische Biometrie und Statistik der Universität zu Lübeck sowie Frau Dr.med. Herlyn aus der Poliklinik für Rheumatologie der Universität zu Lübeck für die statistische Beratung.

Den Mitarbeitern und Patienten aus dem Klinikum Bad Bramstedt danke ich für die freundliche Zusammenarbeit.

Meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, danke ich für ihr Vertrauen, ein immer offenes Ohr und die uneingeschränkte Unterstützung während meines bisherigen Lebensweges.

Mein besonderer Dank gilt meiner Hauptstütze in den letzten 9 Jahren, meinem Ehemann Danilo Dubrau, der in den schweren Zeiten, sei es die Examensvorbereitung oder die Arbeit an der Dissertation immer an mich geglaubt und mich in allen Situationen unterstützt hat. Ich möchte ihm für seine Kraft und Liebe danken.

10 LebenslaufPersönliche Daten

Name	Christin Dubrau geb. Müller
Anschrift	Pflugacker 14a 22523 Hamburg
Geburtsdatum	07.03.1985
Geburtsort	Cottbus
Familienstand	verheiratet

Schulbildung

1991-2004	Grundschule und Gymnasium in Cottbus
-----------	--------------------------------------

Studium

2004-2010	Medizinstudium, Universität zu Lübeck
08/2006	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
11/2010	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
12/2010	Approbation

Berufsleben

Seit 04/11	Assistenzärztin in der Klinik für Rheumatologie und Immunologie, UKS-H Schleswig-Holstein
------------	--

Dissertation

09/2010	Ergebnispräsentation beim 38. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin e.V.
10/11	Publikation „Rituximab for refractory granulomatosis with polyangiitis (Wegener's granulomatosis): comparison of efficacy in granulomatous versus vasculitic manifestations.“ Annals of the Rheumatic Diseases (Impact factor: 8,727)