

Aus der Klinik für Innere Medizin I  
mit den Schwerpunkten Gastroenterologie, Hepatologie, Pneumologie,  
internistische Intensivmedizin, Endokrinologie, Infektiologie,  
Rheumatologie, Ernährungs-und Altersmedizin  
(Direktor: Prof. Dr. S. Schreiber)  
Sektion Rheumatologie  
(Leiterin: Prof. Dr. Bimba Franziska Hoyer)  
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel  
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**EINFLUSS DER KRANKHEITSAKTIVITÄT UND DER THERAPIEDAUER AUF DIE  
WIRKSAMKEIT DES BLYS-INHIBITORS BELIMUMAB BEI SYSTEMISCHEM  
LUPUS ERYTHEMATODES – LANGZEITUNTERSUCHUNG AN EINER  
MONOZENTRISCHEN LUPUSKOHORTE**

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung der Doktorwürde der Medizin  
der Medizinischen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von  
ANNA KATHARINA STURM  
aus Aachen  
Kiel 2018

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Johann Oltmann Schröder

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Michael Weichenthal

Tag der mündlichen Prüfung: 24. Juni 2020

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 13. November 2019

gez.: Prof. Dr. Johann Roider

(Vorsitzender der Prüfungskommission)

# Inhaltsverzeichnis

<b>I</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>III</b>
<b>II</b>	<b>Abbildungs- und Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>V</b>
<b>1.</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1	<i>Systemischer Lupus Erythematoses .....</i>	<i>1</i>
1.1.1	Definition und Epidemiologie .....	1
1.1.2	Pathogenese und Ätiologie .....	1
1.1.3	Klinik und Diagnostik.....	2
1.1.4	Therapie.....	5
1.2	<i>Belimumab.....</i>	<i>6</i>
1.3	<i>Fragestellungen .....</i>	<i>9</i>
<b>2.</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>10</b>
2.1	<i>Patientenkollektiv und Datenerhebung .....</i>	<i>10</i>
2.2	<i>ACR- und SLICC-Kriterien.....</i>	<i>11</i>
2.3	<i>SLEDAI .....</i>	<i>12</i>
2.4	<i>Patienten- und Arzturteil (Global Assessment).....</i>	<i>14</i>
2.5	<i>Glukokortikoide .....</i>	<i>14</i>
2.6	<i>Ansprechkriterien.....</i>	<i>14</i>
2.7	<i>Laborparameter .....</i>	<i>15</i>
2.7.1	ANA.....	15
2.7.2	dsDNA Antikörper .....	17
2.7.3	Komplementfaktoren C3 und C4.....	18
2.7.4	CRP .....	19
2.7.5	Blutbild (Hämoglobin, Thrombozyten).....	19
2.8	<i>Statistische Methodik.....</i>	<i>19</i>
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>22</b>
3.1	<i>Patientenkollektiv.....</i>	<i>22</i>
3.2	<i>Manifestation .....</i>	<i>22</i>
3.3	<i>Klinisches Ansprechen .....</i>	<i>24</i>
3.3.1	SLEDAI .....	25
3.3.2	Patienten- und Arzturteil (Global Assessment).....	26
3.3.3	Glukokortikoiddosis.....	28
3.4	<i>Serologisches Ansprechen .....</i>	<i>29</i>
3.4.1	ANA.....	29
3.4.2	dsDNA Antikörper .....	30
3.4.3	C3 .....	31

3.4.4	C4 .....	32
3.4.5	CRP .....	33
3.4.6	Hämoglobin.....	34
3.4.7	Thrombozyten.....	35
3.4.8	Prädiktive Faktoren des Therapieansprechens .....	35
<b>4.</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>38</b>
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>44</b>
<b>III</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>VI</b>
<b>IV</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>X</b>
<b>V</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>XVIII</b>

## I. Abkürzungsverzeichnis

ACR	American College of Rheumatology
ANA	Antinukleäre Antikörper
APRIL	A proliferation inducing ligand
BAFF	B cell activating factor
BAFF-R	BAFF-Rezeptor
BCMA	B-cell maturation antigen
BFU	Biologika Follow Up
BILAG	British Isles Lupus Assessment Group Index
BLYS	B lymphocyte stimulator
BSG	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
bzgl.	bezüglich
bzw.	beziehungsweise
CRP	C-reaktives Protein
C3	Komplementfaktor C3
C4	Komplementfaktor C4
DGRh	Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie e.V.
DNA/ DNS	deoxyribonucleic acid/ Desoxyribonukleinsäure
dsDNA	doppelsträngige DNA
dsDNA-AK	doppelsträngige DNA-Antikörper
ECLAM	European Consensus Lupus Activity Measurement
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EMA	European Medicines Agency
FDA	Food and Drug Administration (USA)
GK	Glukokortikoide
Hb	Hämoglobin
HLA	Humanes Leukozyten Antigen
HRP	Horseradish-Peroxidase
IFR	Interferon regulierender Faktor
Ig (-A,-G,-M)	Immunglobulin (-A,-G,-M)
iIFT	indirekter Immunfluoreszenztest
IL	Interleukin
IQR	Interquartilsabstand
Max.	Maximum
Min.	Minimum
MTX	Methotrexat

MW	Mittelwert
NR	Non-Responder
o.g.	oben genannt
PCNA	Proliferating cell nuclear antigen
PtGA	Patient Global Assessment
PhGA	Physician Global Assessment
R	Responder
RA	Rheumatoide Arthritis
RIA	Radioimmunoassay
RNP	Ribonukleoproteine
ROC	Receiver-Operating-Characteristic
SD	Standard Deviation
SDI	Systemic Lupus International Collaboration Clinics Damage Index
SELENA	Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment
SLAM	Systemic Lupus Activity Measure
SLE	Systemischer Lupus Erythematosus
SLEDAI	Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index
SLICC	Systemic Lupus International Collaboration Clinics
Sm – AK	“Smith“- Antikörper
SS-A (Ro) – AK	“Sjögren-Syndrome A” - Antikörper
SS-B (La) – AK	“Sjögren-Syndrome B” – Antikörper
s.o.	siehe oben
SRI	SLE Responder Index
s.u.	siehe unten
TACI	Transmembrane activator and cyclophilin interactor
TLR	Toll-like Rezeptor
TNFSF13B	Tumor necrosis factor superfamily 13B
u.a.	unter anderem
UKSH	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
VAS	Visuelle Analogskala
Vgl.	Vergleich
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem

## II. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

<i>Abbildung 1: Pathogenese des SLE; Biologika und ihre Zielstrukturen nach Kamal (27).....</i>	<i>8</i>
<i>Abbildung 2: iIFT mit HEp-2-Zellen (1) und Primatenlebergewebe (2). .....</i>	<i>16</i>
<i>Abbildung 3: Nachweis von Autoantikörpern gegen dsDNA. ....</i>	<i>17</i>
<i>Abbildung 4: Eine dsDNA-Antigen beschichtete Mikrotiterplatte zur Detektion von Autoantikörpern im Patientenserum. ....</i>	<i>18</i>
<i>Abbildung 5: Krankheitsaktivität (SLEDAI) vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3).....</i>	<i>25</i>
<i>Abbildung 6: Krankheitsaktivität in der Patientenselbsteinschätzung (PtGA) vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3). ....</i>	<i>26</i>
<i>Abbildung 7: Krankheitsaktivität in der Arztfremdeinschätzung (PhGA) vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3). ....</i>	<i>27</i>
<i>Abbildung 8: Glukokortikoiddosis vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3). ....</i>	<i>28</i>
<i>Abbildung 9: ANA Titer vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3). ....</i>	<i>29</i>
<i>Abbildung 10: dsDNA Antikörper vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3). ....</i>	<i>30</i>
<i>Abbildung 11: dsDNA AK - individuelle Verläufe über 18 Monate.....</i>	<i>31</i>
<i>Abbildung 12: C3 vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3). ....</i>	<i>31</i>
<i>Abbildung 13: C4 vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3). ....</i>	<i>32</i>
<i>Abbildung 14: CRP vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3). ....</i>	<i>33</i>
<i>Abbildung 15: Hämoglobin vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3).....</i>	<i>34</i>
<i>Abbildung 16: Thrombozyten vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3). ....</i>	<i>35</i>
<i>Abbildung 17: dsDNA-AK vor Therapie - Vergleich Non-Responder (NR, n=5) und Responder (R, n=16).....</i>	<i>36</i>
<i>Abbildung 18: C3 vor Therapie - Vergleich Non-Responder (NR, n=5) und Responder (R, n=16).....</i>	<i>36</i>
<i>Abbildung 19: C4 vor Therapie - Vergleich Non-Responder (NR, n=5) und Responder (R, n=16).....</i>	<i>36</i>
<i>Abbildung 20: ROC-Kurven für C3 (blau) und C4 (blau). ....</i>	<i>37</i>
<i>Tabelle 1: Die modifizierten ACR-Kriterien (1997).....</i>	<i>11</i>
<i>Tabelle 2: gekürzte Klassifikationskriterien der SLICC-Arbeitsgruppe (nach Petri, Orbai, Alarcon et al. (26)).....</i>	<i>12</i>
<i>Tabelle 3: Response Kriterien .....</i>	<i>15</i>
<i>Tabelle 4: demografische Basisdaten, Krankheitscharakteristika und Biomarker der Kohorte.....</i>	<i>23</i>
<i>Tabelle 5: SLEDAI (gekürzt) nach der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie e.V. ....</i>	<i>Anhang</i>

## **1. Einleitung**

### **1.1 Systemischer Lupus Erythematoses**

#### **1.1.1 Definition und Epidemiologie**

Der Systemische Lupus Erythematoses (SLE) ist eine Autoimmunerkrankung, die der Gruppe der Kollagenosen zugeordnet wird. Die für den Lupus typischen Organschäden werden durch die Ablagerung von gewebebindenden Autoantikörpern und Immunkomplexen hervorgerufen (1).

Der SLE betrifft vor allem Frauen im gebärfähigen Alter mit einer Geschlechtsverteilung von etwa 10:1. Der Altersgipfel liegt zwischen dem 20. und 50. Lebensjahr. Jenseits dieser Altersgrenzen sind Männer und Frauen gleich häufig betroffen, was auf einen hormonellen Einfluss schließen lässt. Die Prävalenz liegt bei etwa 0,02-0,04%, die Inzidenzrate variiert zwischen 5 und 10 neuerkrankten Personen pro 100.000 Einwohner pro Jahr je nach Population und ethnischer Zugehörigkeit (2). So erkranken beispielsweise afroamerikanische und hispanoamerikanische Frauen im Vergleich zu Kaukasierinnen und Asiatinnen etwa zwei- bis dreimal häufiger an SLE (3).

Trotz stetiger Verbesserung der Therapiemöglichkeiten und einem optimierten Diagnostik- und Behandlungsschema ist das Sterblichkeitsrisiko gegenüber der Normalbevölkerung zwei- bis vierfach erhöht. Die 5-Jahres-Überlebensrate lag im Jahr 2011 zwischen 91% und 96,2% (im Jahr 1955 nur bei 5%) (4).

Prognostische Relevanz haben neben der akuten Krankheitsaktivität vor allem die frühzeitig auftretende Arteriosklerose und die damit verbundenen kardiovaskulären Komplikationen.

#### **1.1.2 Pathogenese und Ätiologie**

Die Ursache des SLE ist trotz umfangreicher Forschung nicht schlüssig aufgeklärt. Weitgehend unstrittig ist, dass Autoantikörper und Komplement-bindende Immunkomplexe an der pathogenetischen Endstrecke beteiligt sind.

Der immer wieder bestätigte immunhistologische und serologische Nachweis von Immunglobulinen bzw. Autoantikörpern unterstreicht die große Bedeutung der B-Lymphozyten in der Pathogenese des SLE (5).



## Einleitung

Seit wenigen Jahren wird zunehmend erkannt, dass die B-Zell-Stimulation u.a. auf eine ausgeprägte Aktivierung von Typ I Interferonen zurückzuführen ist. Im Jahr 2003 gelang es Rönnblom und Mitarbeitern in Zellkulturen von SLE-Patienten eine starke Interferon  $\alpha$ -Sekretion durch dendritische Zellen nachzuweisen (6). Inzwischen ist wiederholt dokumentiert worden, dass Lupus und andere Kollagenosen durch eine verstärkte Interferon-Ausschüttung gekennzeichnet sind. Sie werden daher von einigen Experten inzwischen als Interferonopathien bezeichnet (7). Die Aktivierung der Typ I Interferone ihrerseits lässt sich zum Teil auf genetische Ursachen zurückführen. Unter den inzwischen ca. 30 krankheitsassoziierten Genen sind u.a. genetische Marker der Interferon-Aktivität wie IFR-5 und IFR-7 beschrieben worden (8). Zum anderen hängt die hohe Interferon  $\alpha$ -Ausschüttung der dendritischen Zellen wahrscheinlich mit den Autoantigenen des SLE zusammen. Nukleäre Antigene wie doppelsträngige DNA (dsDNA) werden von den intrazellulär gelegenen Rezeptoren TLR7 und TLR9 der dendritischen Zellen wie virale Antigene wahrgenommen und führen auf diese Weise eine starke Aktivierung der Antigen-präsentierenden Zellen herbei. Über die Einschaltung der T- und B-Lymphozyten kommt es schließlich zur Antigen-spezifischen Produktion von Autoantikörpern und – nach deren Bindung an ihre Antigene – zur Präzipitation von Immunkomplexen (9).

### 1.1.3 Klinik und Diagnostik

Das klinische Erscheinungsbild des SLE ist sehr vielfältig und variiert in seiner Schwere und seinem Verlauf. Prinzipiell kann jedes Organsystem betroffen sein. Manifestationen zeigen sich an der Haut, dem muskuloskelettalen System, den Nieren, dem zentralen Nervensystem (ZNS), den Augen, am Herzen und an der Lunge. Die Erkrankung verläuft meist schubweise mit Perioden unterschiedlicher Krankheitsaktivität. Dauerhafte und vollständige Remissionen sind selten. Die Diagnose SLE basiert auf den klinischen Zeichen und einem charakteristischen Autoantikörper-Profil. Sie wird in der Regel anhand der Klassifikationskriterien des American College of Rheumatology (ACR) oder der Systemic Lupus International Collaboration Clinics (SLICC)-Kriterien gestellt. Zu Beginn der Erkrankung sind meist unspezifische Symptome wie Abgeschlagenheit, verminderte körperliche Leistungsfähigkeit und rezidivierendes Fieber führend. Im weiteren Verlauf können Arthralgien, Erytheme (vor allem das Schmetterlingserythem als bekanntes Zeichen der akuten kutanen Manifestation),

## Einleitung

Arthritiden, eine Nephritis, Raynaud-Syndrom, ZNS-Beteiligungen, gastrointestinale Beteiligungen, Lymphadenopathien, Schleimhautulzera, Vaskulitiden, eine Pleuritis und Perikarditis auftreten (10).

Labordiagnostisch aussagekräftig sind vor allem die Autoantikörpertests. In 95 bis 100 % der Fälle finden sich im Serum der SLE-Patienten antinukleäre Antikörper (ANA). Dabei können ANA schon Jahre vor der klinischen Manifestation einer Autoimmunerkrankung nachweisbar sein. Spezifisch für den SLE sind hohe Immunglobulin-G (IgG)-Titer gegen dsDNA, die im zeitlichen Verlauf schwanken und vor einem Krankheitsschub ansteigen können. Bei Patienten mit einem aktiven SLE können in 40-90 % der Fälle Autoantikörper gegen dsDNA nachgewiesen werden (11). Rasch ansteigende Titer und der Abfall der Komplementfaktoren C3 und C4 können bei einem nahenden SLE-Schub beobachtet werden (12). Hingegen sprechen abfallende dsDNA-Antikörper-Titer und die Normalisierung der Komplementwerte für eine Remission (10). Eine kontinuierliche Bestimmung der doppelsträngigen DNA-Antikörper (dsDNA-AK) ist somit von großer Bedeutung. Ein negatives Ergebnis bei der Untersuchung auf dsDNA-AK schließt einen SLE jedoch nicht aus. In etwa 85% der Fälle entwickeln klinisch gesund erscheinende Personen mit dem serologischen Nachweis von dsDNA-Antikörpern innerhalb von fünf Jahren einen systemischen Lupus (13).

Ebenfalls häufig finden sich Antikörper gegen Zellkernbestandteile wie Histone, Sm, SS-A (Ro), SS-B (La) und ribosomales P-Protein, sowie Antiphospholipid-Antikörper wie Cardiolipin und  $\beta$ 2-Glykoprotein-1. Die jeweiligen Antikörper sind mit unterschiedlichen klinischen Erscheinungen des SLE assoziiert.

Es gibt in sehr seltenen Fällen einen ANA-negativen Lupus. Bei diesen Patienten können meist andere SLE-assoziierte Antikörper nachgewiesen werden.

Neben den positiven Autoantikörpertests fällt labordiagnostisch der Komplementverbrauch auf. Das Komplementsystem besteht aus mehr als 20 Serumproteinen, die in der Leber synthetisiert werden und ist Teil der nativen, unspezifischen Immunabwehr. Es kann über zwei Reaktionswege - den klassischen und den alternativen Weg - aktiviert werden. Zum einen werden durch das System Mikroorganismen direkt durch Zellyse zerstört, zum anderen kann durch Oponierung die Phagozytose von pathologischen Erregern ausgelöst werden. Der klassische Aktivierungsweg der Komplementkaskade wird durch Antigen-Antikörper-Immunkomplexe ausgelöst (14). Eine Hypokomplementämie tritt bei

## Einleitung

immunkomplexvermittelten Erkrankungen auf. Niedrige C3- und C4-Werte sind Ausdruck der verstärkten Antigen-Antikörper-Reaktion und weisen eine relativ hohe Korrelation mit der Krankheitsaktivität auf (10). Dabei kommt es vor allem zu einem Mangel von C4 als Schlüsselprotein des klassischen Weges. Die Komplementfaktoren C3 und C4 sind Teil der Diagnosekriterien des SLE, aber auch wichtige Verlaufsparemeter zur Beurteilung der Aktivität der Erkrankung.

Auch die allgemeinen Entzündungsparemeter wie Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG), alpha2-Globuline und C-reaktives Protein (CRP) sind bei einem aktiven SLE in der Regel erhöht. Das CRP gehört zu den Akute-Phase-Proteinen und wird in der Diagnostik als unspezifischer Entzündungsparemeter genutzt. Charakteristisch für den SLE sind meist nur latent erhöhte CRP-Werte (10). Als unspezifischer Marker wurde das CRP nicht in die SLICC-Diagnosekriterien für SLE aufgenommen. Dennoch ist es aufgrund seiner Empfindlichkeit ein geeigneter Paremeter zur Verlaufsbeobachtung einer antiinflammatorischen Therapie.

Des Weiteren kann eine Erniedrigung von Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten auffällig sein. Bei einer Anämie ist zu unterscheiden zwischen einer häufig auftretenden normo- oder hypochromen Anämie als Zeichen der chronischen Entzündung und einer seltener auftretenden hämolytischen Anämie mit positivem Coombs-Test. Schwere Anämien sind ein Hinweis für eine Organbeteiligung. Sie sind prognoserelevant und weisen auf einen Krankheitsprogress hin (15).

Eine Lympho- und Granulopenie geht vor allem mit einer erhöhten Infektanfälligkeit einher.

Thrombozytopenien können durch antithrombozytäre Antikörper bedingt sein. Auch können Thrombopenien, neben Thromboembolien und Frühaborten, Ausdruck eines sekundären Antiphospholipid-Syndroms sein. Bei etwa 40% der SLE Patienten sind im Krankheitsverlauf Antiphospholipid-Antikörper nachweisbar (16). Die klinischen Manifestationen durch thromboembolische Ereignisse sind vielfältig.

Blutungsgefährdende Thrombopenien bei Werten  $< 30.000/\mu\text{l}$  sind selten, jedoch von großer klinischer Relevanz.

Des Weiteren ist im Rahmen der SLE-Diagnostik eine Urinanalyse auf Hämaturie und Proteinurie von großer Wichtigkeit, da eine Nierenbeteiligung (Lupusnephritis) häufig klinisch stumm verläuft. Auch die Bestimmung von Kreatinin und Albumin ist daher stets indiziert. Die labordiagnostischen Paremeter sind nicht nur relevant, um

## *Einleitung*

die Diagnose SLE zu stellen, sondern dienen auch der Verlaufskontrolle und Therapieüberwachung.

### **1.1.4 Therapie**

Das Ziel der Behandlung des SLE ist es, bei möglichst geringer Dosierung der entzündungshemmenden Medikamente eine Reduktion der Krankheitsaktivität zu erreichen und weitere Organschäden zu verhindern.

Die Krankheitsaktivität und die Schwere der Organschädigungen bestimmen die Intensität der Therapie. Dabei reicht das Ausmaß der etablierten Therapien von abwartendem Verhalten bis hin zu einer intensiven immunsuppressiven bzw. immunmodulierenden medikamentösen Behandlung.

Der chronische Krankheitsverlauf erfordert eine lebenslange klinische Beobachtung sowie Überwachung des Therapieplans.

Supportive Maßnahmen wie u.a. konsequenter UV-Schutz bei Photosensibilität und Hautbeteiligung, eine medikamentöse antihypertensive Therapie bei Hyperlipidämie und arteriellem Hypertonus sowie eine suffiziente Osteoporoseprophylaxe dienen der Prävention von Komplikationen des SLE bzw. der Reduktion therapiebedingter Komorbiditäten.

Die Diagnose SLE allein stellt noch keine Indikation zur medikamentösen Therapie dar. Vielmehr bestimmen die klinische Symptomatik und die serologische Krankheitsaktivität die Behandlungsstrategie. Dabei gilt es, sorgsam zwischen der Gefährdung des Patienten durch die Erkrankung und einer möglichen Schädigung infolge der immunsuppressiven Therapie abzuwägen (17).

Eine Ausnahme stellt hier die Lupusnephritis dar, die häufig nur labormedizinisch diagnostiziert wird und stets einer Behandlung bedarf.

Folgende Substanzgruppen werden zur Behandlung des SLE eingesetzt und je nach Schwere der Erkrankung angewandt:

- nichtsteroidale Antiphlogistika
- Glukokortikoide (GK)
- Antimalariamittel (Hydroxychloroquin und Chloroquin)
- Immunsuppressiva (Cyclophosphamid, Azathioprin, Methotrexat, Mycophenolat Mofetil, Ciclosporin A, Tacrolimus)
- Biologika (Belimumab, Rituximab)

## *Einleitung*

Bei milden Verläufen wird häufig zunächst versucht mit nichtsteroidalen Antiphlogistika zu behandeln. In fortgeschrittenen Krankheitsverläufen kommen fast immer Glukokortikoide zum Einsatz. Je nach Schwere des Krankheitsschubs kann eine niedrigdosierte Mono- bzw. Begleittherapie oder eine hochdosierte Kortisonstoßtherapie angemessen sein. Die Nebenwirkungen einer Glukokortikoidtherapie sind abhängig von der Dauer und der Dosierung des Wirkstoffs (18). Sie umfassen akut auftretende Komplikationen wie u.a. arterielle Hypertonie, Ödeme, Steroiddiabetes, psychische/neurologische Symptome, aber auch verzögerte Komplikationen bei chronischer Einnahme wie Osteoporose, Fettverteilungsstörungen, Magen- und Darmulzera sowie iatrogen verursachte Nebenniereninsuffizienzen (19). Diese Nebenwirkungen gilt es zu verhindern. Ziel ist es demnach, die langfristige und hochdosierte Anwendung von Glukokortikoiden zu reduzieren (20,21).

Als Basistherapie bei leichten bis mittelschweren Organmanifestationen wird Chloroquin oder Hydroxychloroquin - ggf. in Kombination mit Glukokortikoiden - empfohlen. Dies gilt insbesondere bei kutanen und artikulären Manifestationen. Bei unzureichender Kontrollierbarkeit der Symptome ist eine immunsuppressive Therapie mit Azathioprin, Mycophenolat Mofetil oder Methotrexat in Erwägung zu ziehen. Die Therapie der Lupusnephritis bestand jahrzehntelang in der Gabe des relativ aggressiven Zytostatikums Cyclophosphamid. Seit etwa 2001 hat sich das Mycophenolat als gleichwertig erwiesen. Es wird heute insbesondere bei jungen, gebärfähigen Frauen mit einer schweren Lupusnephritis eingesetzt (22). Die Behandlungsmöglichkeiten wurden im Jahr 2011 durch den monoklonalen Antikörper Belimumab erweitert. Er ist als add-on Therapie zu den Basistherapeutika bei schweren Krankheitsverläufen zugelassen. Laufende Studien zu B- und T-Zell-, sowie Zytokin-gerichteten Biologika lassen auf weitere Therapieoptionen hoffen (23).

### **1.2 Belimumab**

Belimumab ist das erste Biologikum, das für die Therapie des SLE zugelassen worden ist. Es war zum Zeitpunkt der Einführung im Jahr 2011 zugleich die erste Neuzulassung in der Indikation SLE seit 50 Jahren.

Biochemisch handelt es sich um einen vollständig humanen monoklonalen IgG1 $\lambda$ -Antikörper, der spezifisch gegen den löslichen B-Lymphozyten Stimulator (BLyS, auch BAFF oder TNFSF13B genannt) gerichtet ist.

## Einleitung

BLyS ist ein löslicher B-Zell-Überlebensfaktor, der von verschiedenen Zelltypen wie neutrophilen Granulozyten, dendritischen Zellen und T-Zellen exprimiert wird. Er bindet an drei Oberflächenrezeptoren (BCMA, TACI, BAFF-R) von B-Lymphozyten und ermöglicht somit die Ausdifferenzierung von B-Lymphozyten zu Immunglobulin-bildenden Plasmazellen. Zudem hemmt BLyS die B-Zell-Apoptose (24). Belimumab verhindert die Bindung von BLyS an den B-Zell-Rezeptor und führt somit auf indirektem Weg zum Absterben von B-Lymphozyten und zur Reduktion der Ausdifferenzierung von B-Zellen zu Antikörper-bildenden Plasmazellen. Diesem Wirkmechanismus unterliegen auch die autoreaktiven B-Zellen, so dass durch den Einsatz von Belimumab die Bildung von Autoantikörpern gehemmt werden kann. Patienten mit SLE weisen eine Überexpression von BLyS auf. Es konnte nachgewiesen werden, dass eine Korrelation zwischen den erhöhten BLyS-Plasmaspiegeln, der Krankheitsaktivität und hohen dsDNA-AK-Spiegeln besteht (25). Die Zulassung von Belimumab erfolgte als „Zusatztherapie bei erwachsenen Patienten mit aktivem, Autoantikörper-positiven systemischen Lupus erythematodes, die trotz Standardtherapie eine hohe Krankheitsaktivität (z.B. positiver Test auf Anti-dsDNA-Antikörper und niedriges Komplement) aufweisen“ (Zulassungstext der European Medicines Agency (EMA)).

Bei seronegativen (serologisch kein Nachweis von Autoantikörpern) Patienten wird eine Therapie mit Belimumab nicht empfohlen, da das Medikament hier keine Überlegenheit gegenüber der Standardtherapie aufweist.

Belimumab ist nicht zugelassen für Patienten mit einer schweren, aktiven Lupusnephritis.

Die am häufigsten beschriebenen unerwünschten Arzneimittelwirkungen sind: bakterielle und virale Infektionen (Bronchitis, Nasopharyngitis, Zystitis, Gastroenteritis), Fieber, Leukopenie, Überempfindlichkeitsreaktionen, Infusionsreaktionen, Migräne, Schlaflosigkeit und Depressionen (26).

Belimumab wird als Infusion zu Beginn der Therapie in einem zweiwöchigen Abstand, danach in vierwöchigem Abstand (Tag 0,14,28, dann alle 28 Tage) in einer Dosierung von 10mg pro Kilogramm Körpergewicht über einen Zeitraum von einer Stunde verabreicht.

Es wird von dem britischen Pharmaunternehmen GlaxoSmithKline hergestellt und unter dem Handelsnamen Benlysta® vertrieben.

## Einleitung

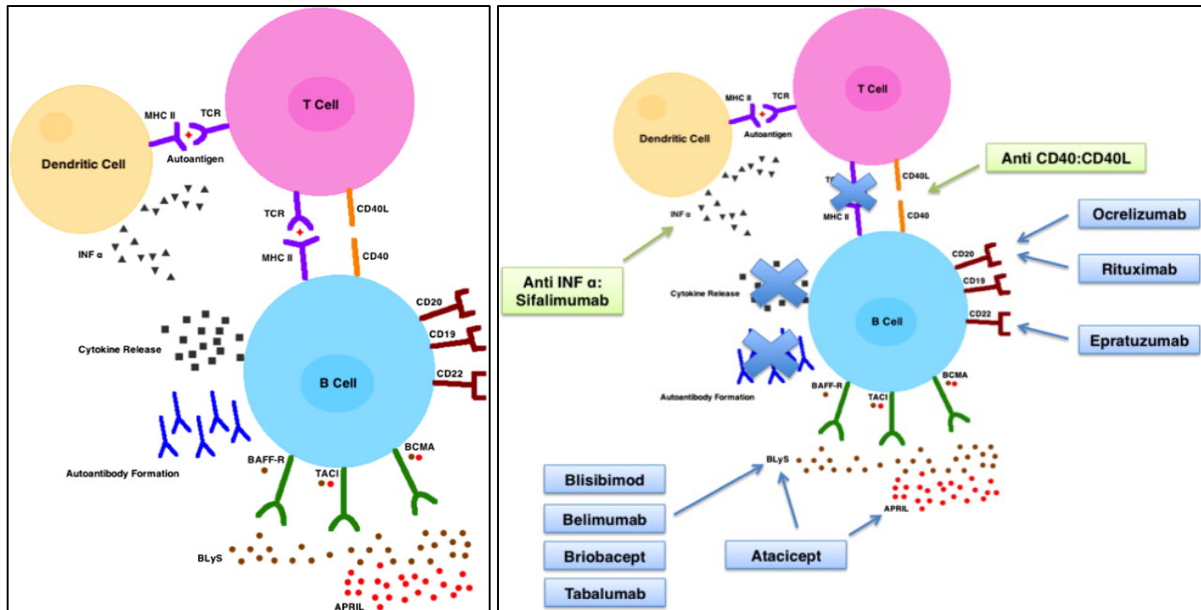


Abbildung 1: Pathogenese des SLE; Biologika und ihre Zielstrukturen nach Kamal (27)

Obwohl Belimumab in zwei großen klinischen Phase-III Studien (BLISS-52 und BLISS-76) einen signifikanten Nutzen erbracht hat und als erstes Biologikum für die Therapie des SLE zugelassen wurde, ist die Wirkung des Präparats nicht unumstritten. Insbesondere die zwar signifikante, aber relativ geringe Differenz zwischen den Verum- und den Placebogruppen, führte bei vielen Anwendern zu einer Skepsis gegenüber dem Präparat. Beide Studien untersuchten die Wirkung von Belimumab bei seropositiven SLE-Patienten. So ergab die BLISS-52 Studie, dass nach Gabe von Belimumab über 48 Wochen in der Konzentration von 10 mg/kg Körpergewicht die Krankheitsaktivität gemessen am Aktivitätsscore SELENA-SLEDAI nach 52 Wochen bei 46,5% der untersuchten erkrankten Personen um mindestens 4 Punkte gesenkt werden konnte. Im Vergleich dazu wurde diese Reduktion auch bei immerhin 35,5% der untersuchten Personen der Placebogruppe beschrieben. Die BLISS-76 Studie untersuchte die Veränderung der Krankheitsaktivität über einen Beobachtungszeitraum von 76 Wochen, wobei hier die Patienten der Verumgruppe über 72 Wochen Belimumab erhielten. Durch eine Behandlung in der Konzentration von 10 mg/kg Körpergewicht konnte die anhand des SELENA-SLEDAI erhobene Krankheitsaktivität in der Verumgruppe bei 41,4 % der untersuchten Personen um mindestens 4 Punkte gesenkt werden. Im Vergleich dazu wurde die gleiche Aktivitätsreduktion auch bei 33,8 % der untersuchten Personen in der Placebogruppe beobachtet (28).

## *Einleitung*

Subgruppenanalysen und Langzeitstudien legen nahe, dass der Nutzen von Belimumab u.a. von der Selektion geeigneter Patienten wie auch von der Dauer der Anwendung beeinflusst wird. Diese Hypothesen sind bislang wenig untersucht. Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, eine Langzeitstudie über den Einsatz von Belimumab an einer monozentrischen Therapiekohorte durchzuführen, um zusätzliche Informationen über eventuelle Prädiktoren eines therapeutischen Ansprechens zu erhalten.

### **1.3 Fragestellungen**

- Wie viele Patienten einer monozentrischen SLE-Kohorte erweisen sich als Kandidaten für eine Benlysta-Therapie?
- Was sind die klinischen und serologischen Charakteristika der Benlysta-behandelten Subkohorte?
- Kann die in den Zulassungsstudien belegte Wirksamkeit in der „real-life“-Kohorte bestätigt werden?
- Welchen Einfluss hat die Therapiedauer auf die therapeutische Wirksamkeit?
- Lassen sich prognostische Merkmale eines guten Ansprechens beschreiben?



## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Patientenkollektiv und Datenerhebung**

Für die vorliegende Studie wurden von November 2013 bis November 2015 die Daten von 27 an SLE erkrankten Patienten erfasst, die in der rheumatologischen Ambulanz am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (UKSH), Campus Kiel, mit dem monoklonalen Antikörper Belimumab therapiert wurden.

Die Benlysta-Therapie wurde bei 20 der 27 Patienten schon vor November 2013 begonnen. Es handelt sich bei der vorliegenden Studie somit um eine teilweise retrospektive, überwiegend prospektive, interventionelle, monozentrische, klinische Observation.

Folgende Daten wurden für jeden Patienten erfasst: Geschlecht, Alter, Ethnie, Jahr der Erstdiagnose des SLE, Dauer der Belimumab-Therapie, insgesamt erhaltene Belimumab-Zyklen, Lupus-relevante medikamentöse Vortherapien, rheumatologische Nebendiagnosen, klinisches Ansprechen nach interner Definition. Als klinische Parameter wurden der SLE Disease Activity Index (SLEDAI), Patienten- und Arzturteil (Global Assessment) sowie die therapiebegleitend erhaltene Glukokortikoiddosis dokumentiert. Als serologische Parameter wurden regelmäßig ANA, dsDNA-AK, Komplement C3 und C4, CRP, Hämoglobin und Thrombozyten erhoben.

Bei allen Patienten wurde anhand der Kriterien des American College of Rheumatology (ACR) bzw. der Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC)-Gruppe formal die Diagnose SLE gestellt (17). Folgende im Patientenkollektiv vorkommende Begleiterkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis wurden erfasst: sekundäres Antiphospholipidsyndrom, Polymyositis, Sjögren-Syndrom, seropositive Rheumatoide Arthritis (RA) und Sklerodermie. Alle verwendeten Daten wurden aus den elektronischen Patientenakten des Krankenhausinformationssystems *ORBIS* erhoben und in Übersichtstabellen verwaltet (Excel 2015, Microsoft® Corporation). Nicht eindeutige Angaben zu Patienten wurden mit dem behandelnden Rheumatologen besprochen.

Alle Maßnahmen wurden nach Einholung des schriftlichen Einverständnisses des Patienten durchgeführt. Die Zustimmungserklärung entspricht der Patientenaufklärung der Biodatenbank *popgen* des Institutes für Epidemiologie in

den Fassungen vom 5.12.2012 und 27.8.2013 (Version 2.3 und 2.4), genehmigt durch die Ethikkommission des UKSH Kiel.

## **2.2 ACR- und SLICC-Kriterien**

Als Klassifikationskriterien für den SLE gelten seit 1982 die Kriterien des American College of Rheumatology (ACR), die im Jahre 1997 letztmalig modifiziert wurden. Voraussetzung für die Diagnose eines SLE ist, dass mindestens 4 der 11 Kriterien erfüllt sind und entweder gleichzeitig oder zeitlich unabhängig voneinander mindestens einmal im Krankheitsverlauf dokumentiert wurden.

Tabelle 1: Die modifizierten ACR-Kriterien (1997)

- |     |  |
|-----|--|
| 1.  | Schmetterlingserythem  |
| 2.  | Diskoides Erythem  |
| 3.  | Photosensibilität  |
| 4.  | Oronasale Ulzerationen   |
| 5.  | Nichterosive Arthritis (mind. 2 betroffene periphere Gelenke)  |
| 6.  | Serositis (Pleuritis oder Perikarditis)  |
| 7.  | Renale Funktionsstörung (persistierende Proteinurie ( $> 0,5\text{g/Tag}$ ) oder zelluläre Zylinder)   |
| 8.  | Neurologische Störungen (Krampfanfälle oder Psychosen)   |
| 9.  | Hämatologische Störungen (hämolytische Anämie, Leukopenie ( $< 4000$ Leukozyten/ml), Lymphopenie ( $< 2000$ Lymphozyten/ml), Thrombozytopenie ( $< 100.000/\text{ml}$ )) |
| 10. | Immunologische Befunde (anti-DNA, anti-Sm, anti-Phospholipid-AK)   |
| 11. | Antinukleäre Antikörper (ANA)  |

Im Jahr 2012 wurden die ACR-Kriterien von der Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC)-Gruppe überarbeitet. Grund dafür war die Überrepräsentation der Hautsymptome in den ACR-Kriterien, wodurch sich das Risiko, fälschlicherweise einen SLE zu diagnostizieren, erhöhte. Die SLICC-Gruppe definierte 17 Klassifikationskriterien, wovon vier Kriterien zur Diagnose eines SLE erfüllt sein müssen (davon mindestens ein klinisches und ein immunologisches Kriterium oder bei histologischem Nachweis einer Lupusnephritis gleichzeitig vorliegende positive ANA bzw. positive dsDNA-AK) (22).

Im klinischen Alltag werden derzeit beide Klassifikationen parallel angewandt.

Tabelle 2: gekürzte Klassifikationskriterien der SLICC-Arbeitsgruppe (nach Petri, Orbai, Alarcon et al. (26))

<b>Klinische Kriterien</b>	
1.	Akuter kutaner Lupus
2.	Chronischer kutaner Lupus
3.	Orale oder nasale Ulcera
4.	Nicht vernarbende Alopezie
5.	Synovitis
6.	Serositis (Pleuritis, Perikarditis)
7.	Renale Manifestation
8.	Neurologische Manifestation
9.	Hämolytische Anämie
10.	Leukopenie / Lymphopenie
11.	Thrombozytopenie
<b>Immunologische Kriterien</b>	
1.	ANA
2.	dsDNA-AK
3.	Anti-Sm-AK
4.	Antiphospholipid-AK (Anticardiolipin AK, Anti-2-Glykoprotein-I)
5.	niedriges Komplement (C3, C4, CH 50)
6.	direkter Coombs Test

### 2.3 SLEDAI

Das therapeutische Vorgehen hängt von der Einschätzung der Aktivität und Schwere der Erkrankung ab. Dabei beschreibt der Begriff *Aktivität* vor allem die aktuelle Intensität des Autoimmunprozesses und die damit einhergehende Entzündung, wohingegen die Schwere der Erkrankung auch die Bedrohlichkeit der Organmanifestationen ausdrückt (10).

Zur standardisierten Erfassung der Krankheitsaktivität wurden über die letzten Jahrzehnte viele Aktivitätsindizes entwickelt. Dabei haben sich folgende Scores etabliert:

- Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI/SLEDAI-2K) und seine Modifikationen z.B. SELENA-SLEDAI
- Systemic Lupus Activity Measure Revised (SLAM-R)

## *Material und Methoden*

- European Consensus Lupus Activity Measurements (ECLAM)
- updated version of British Isles Lupus Assessment Group Index (BILAG 2004)
- SLICC/ACR Damage Index (SDI, Schadensindex)

All diese Indizes erheben im Wesentlichen die klinischen Befunde und Laborparameter. Ihr Ergebnis bildet oft die Grundlage für Therapieentscheidungen. Die Schwierigkeit, ein geeignetes Validierungsinstrument zu finden, beruht auf der Komplexität der Erkrankung und ihrem schubhaften Verlauf. Aus diesem Grund obliegt die Einschätzung der Krankheitsaktivität zusätzlich im großen Maße der klinischen Erfahrung des behandelnden Arztes.

Für die vorliegende Studie wurde der SLEDAI in seiner überarbeiteten Version (SLEDAI-2K) als Instrument zur Bestimmung der Krankheitsaktivität ausgewählt. Er ist ein weit verbreiteter, anerkannter Score, der aufgrund der relativ schnellen Bearbeitungszeit und hohen Validität und Reliabilität im klinischen Alltag oft zum Einsatz kommt. Insbesondere zur Verlaufsbeobachtung im Hinblick auf das Ansprechen auf eine Therapie ist er ein geeignetes Instrument. Er zeichnet sich zudem dadurch aus, dass er im Gegensatz zu vielen anderen Aktivitätsindizes nur objektive Parameter und keine subjektiven Einschätzungen (wie beispielsweise Müdigkeit) erfragt.

Der SLEDAI wurde im Jahre 1992 von Bombardier et al. in Toronto entwickelt und 2002 modifiziert (SLEDAI-2K). Er basiert auf den ACR-Kriterien und umfasst 24 Parameter. Es werden 1,2,4 oder 8 Punkte für lupusspezifische Symptome bzw. Laborwerte vergeben und dabei neun Organsysteme erfasst. Jeweils 8 Punkte für das ZNS und Gefäßsystem, 4 Punkte für renale und muskuloskelettale Symptome, 2 Punkte für Haut-/ Schleimhautbeteiligung bzw. für immunologische Laborparameter und 1 Punkt für konstitutionelle und hämatologische Veränderungen. Die Punkte werden zugewiesen, wenn der Deskriptor zur Zeit des Arztbesuchs oder während der zehn vorausgehenden Tage vorgelegen hat bzw. vorliegt. Mittels Addition wird ein Gesamtscore errechnet. Die maximal erreichbare Punktzahl beträgt 105 Punkte. Nur wenige Patienten erreichen Werte über 45 Punkte. Ein SLEDAI von > 10 Punkten entspricht einer hohen, ≤ 10 Punkte einer leichten bis mittleren Krankheitsaktivität (29).

Für die vorliegende Studie wurde der SLEDAI vor Beginn und im Verlauf der Therapie in regelmäßigen Abständen (mindestens einmal pro Quartal) bei jedem

eingeschlossenen Patienten erhoben. Nicht dokumentierte SLEDAI konnten teilweise retrospektiv aus den Patientenakten ermittelt werden.

## **2.4 Patienten- und Arzturteil (Global Assessment)**

Ein weiteres klinisch anerkanntes Instrument zur Ermittlung der Krankheitsaktivität des SLE ist das Erfassen des sogenannten „Patient Global Assessment“ (PtGA) und des „Physician Global Assessment“ (PhGA) mittels einer visuellen Analogskala (VAS).

Dabei wird zunächst der Patient darum gebeten, seine Krankheitsaktivität im vorangegangenen Monat auf einer Skala von 0 bis 10 einzuschätzen. Ein Wert von 0 entspricht einer klinischen Erscheinungsfreiheit, ein Wert von 10 wird der maximal möglichen Krankheitsaktivität gleichgesetzt.

Anschließend bewertet auch der behandelnde Arzt die Krankheitsaktivität anhand der VAS.

Der Vorteil dieses subjektiven Messinstrumentes ist, dass schon sehr geringe Veränderungen in der Krankheitsaktivität detektiert werden können. Im Gegensatz zum SLEDAI fließen hier auch Symptome wie Müdigkeit und reduzierte körperliche Leistungsfähigkeit ein.

Ebenso wie der SLEDAI wurden das Patienten- und Arzturteil vor Beginn und im Verlauf der Belimumab-Therapie regelmäßig (mindestens einmal pro Quartal) erfragt.

## **2.5 Glukokortikoide**

Glukokortikoide sind ein fester Bestandteil der Standardtherapie des SLE. Dabei ist die Höhe der Dosierung abhängig von der Krankheitsaktivität und der Organbeteiligung.

Der überwiegende Anteil der von mir untersuchten Patienten erhielt Prednisolon. Wurde ein anderes Steroid verordnet (z.B. Methylprednisolon), wurde die entsprechende Prednisolon-Äquivalenzdosis ermittelt. Die therapiebegleitend erhaltenen Glukokortikoiddosen wurden mindestens einmal pro Quartal erfasst.

## **2.6 Ansprechkriterien**

Für die Erfassung des Ansprechens auf die Belimumab-Therapie wurden vier Kriterien ausgewählt: der SLEDAI als spezieller Aktivitätsindex, das Patienten- und Arzturteil (PtGA und PhGA) sowie die tägliche Glukokortikoiddosis.

## Material und Methoden

Nach interner Definition entspricht ein Therapieansprechen der Reduktion des Aktivitätsindex SLEDAI um mindestens vier Punkte, eine Besserung im Arzt- und/oder Patientenurteil um mindestens zwei Punkte sowie die Reduktion der begleitenden GK-Therapie um mindestens 5 mg. Mindestens zwei dieser vier Kriterien müssen erfüllt sein, wobei eines die Reduktion der Glukokortikoiddosis oder die Verbesserung eines subjektiven Urteils sein muss.

Tabelle 3: Response Kriterien

SLEDAI	Reduktion um $\geq 4$ Punkte
Patient Global Assessment	Reduktion um $\geq 2$ Punkte
Physician Global Assessment	Reduktion um $\geq 2$ Punkte
GK-Dosis / d	Reduktion um $\geq 5$ mg

### 2.7 Laborparameter

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführte Labordiagnostik erfolgte durch das Institut für klinische Chemie (Zentrallabor) des UKSH Kiel/ Lübeck, Direktor Prof. Dr. med. Ralf Junker. Die Erläuterungen der verwendeten Methoden sind angelehnt an das offizielle Analyseverzeichnis des Zentrallabors, den Standard-Verfahrensanweisungen und Standard-Arbeitsanweisungen des Institutes für klinische Chemie des UKSH (Dokumenten-ID: 85614 und 82290, Stand: 10/2015) sowie den Benutzerhandbüchern des Herstellers Euroimmun AG („Hep-20-10 Euro Pattern - Anleitung für den indirekten Immunfluoreszenztest“, Dokument FC\_1522\_A\_DE\_C15, Stand: 10/2016 und „ANA-Diagnostik mittels indirekter Immunfluoreszenz“, Dokument FA\_1510\_I\_DE\_B03, Stand: 05/2013).

#### 2.7.1 ANA

Bei den antinukleären Antikörpern handelt es sich um die Gesamtheit aller Autoantikörper, die gegen Antigene des Zellkerns gerichtet sind.

Goldstandard für das Screening auf antinukleäre Antikörper ist der indirekte Immunfluoreszenztest (iIFT). Als Antigen-Substrate dienen hierbei u.a. humane Epithelzellen (HEp-2 bzw. Hep 20-10) und Primaten-Lebergewebe.

Für die vorliegende Studie wurden präparierte humane Hep-20-10 Zellen mit

## Material und Methoden

verdünnten Patientenproben inkubiert. Eine positive Reaktion lag vor, wenn die spezifischen Antikörper der Klassen IgA, IgG und IgM an die Antigene banden. In einem zweiten Inkubationsschritt wurden die gebundenen Antikörper mit Fluorescein-markierten Anti-Human-Antikörpern angefärbt und mithilfe eines Fluoreszenzmikroskops sichtbar gemacht.

Anhand des iIFT wurden so Autoantikörper-Titer und das Immunfluoreszenzmuster bestimmt, wodurch auf die Lokalisation des Zielantigens geschlossen werden konnte. Als Referenzwert gilt ein Titer von  $< 1:160$ . Eine sicher positive Reaktion ist jedoch erst ab einem Titer von  $1:320$  erkennbar.

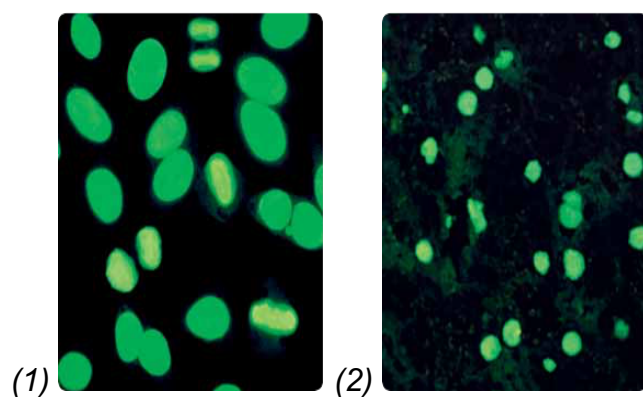


Abbildung 2: iIFT mit HEp-2-Zellen (1) und Primatenlebergewebe (2). Nachweis von Autoantikörpern gegen Zellkerne.

(aus: „ANA-Diagnostik mittels indirekter Immunfluoreszenz“, Dokument FA\_1510\_I\_DE\_B03, Stand: 05/2013)

Bei einem positiven Screening-Befund folgte zur Differenzierung der Einzelantigene ein Immunoblot oder Enzymimmunoassay. Der Immunoblot erfasst folgende nukleäre Autoantigene: Doppelstrang-DNA, Einzelstrang-DNA, Histone, Ribonukleoproteine (U1-RNP, Sm, SS-A(Ro), SS-B (La)), Zentromere, sowie nukleoläre Antigene und weitere Proteine wie beispielsweise Scl-70 und PCNA. Für diese Studie wurden folgende Multiplex-Testkits verwendet: *ANA-Screen 11-ELISA* und *Euroline ANA Profil et Mi-2 et Ku*. Die Untersuchungen erfolgten am *Euroimmun-Analyzer I* bzw. *Euroblot One* des Herstellers Euroimmun AG.

Bei allen eingeschlossenen Patienten wurde kurz vor oder am Tag des Therapiebeginns ein ANA-Screening durchgeführt und im Therapieverlauf wiederholt. 18 der 27 Patienten waren in das sogenannte „Biologika follow-up“(BFU)-Programm der Biobank *popgen* eingeschlossen. Von diesen Studienteilnehmern wurde zu definierten Zeitpunkten (Woche 0, 2, 6, 26, 52, 78 und 104) eine Serumprobe gewonnen und in der Biobank konserviert und gelagert. Um vorhandene Datenlücken zu schließen, konnte teilweise auf diese Proben zurückgegriffen werden. So konnten

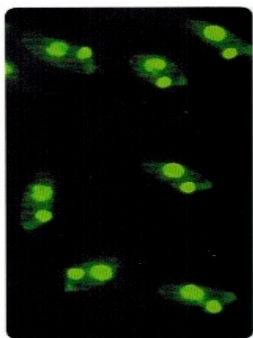
retrospektiv 14 ANA-Titer und 14 dsDNA-AK-Werte von insgesamt acht Patienten nachbestimmt werden.

Da es sich bei der Auswertung der ANA um Verdünnungsreihen handelte, wurden im Ergebnisteil keine Mittelwerte, sondern die Mediane angegeben.

### **2.7.2 dsDNA Antikörper**

Den doppelsträngigen DNA-Antikörpern wird eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese der Gewebeläsionen bei SLE zugeschrieben. Sie sind hochspezifisch für den SLE und somit das wichtigste serologische Diagnosekriterium.

Die zur Diagnostik des SLE relevanten DNA-Antikörper reagieren mit nativer doppelsträngiger (ds) DNA. DNA-Antikörper, die sich nur gegen die innenliegenden Purin- und Pyrimidinbasen von denaturierter DNA richten, d.h. Antikörper gegen einzelsträngige DNA, sind nicht Lupus-spezifisch. Beim Screening auf ANA ergibt sich ein Hinweis auf das Vorliegen von dsDNA-AK aus dem typischen homogenen Fluoreszenzmuster im iIFT. Standardsubstrat für die Immunfluoreszenz ist der Hämoflagellat *Crithidia luciliae*. Er besitzt ein dsDNA-haltiges Riesenmitochondrium (Kinetoplast), das im Wesentlichen keine anderen Antigene außer dsDNA aufweist.



AAk gegen dsDNS pos.  
(Kinetoplast)

Abbildung 3: Nachweis von Autoantikörpern gegen dsDNA.

(aus: „ANA-Diagnostik mittels indirekter Immunfluoreszenz“, Dokument FA\_1510\_I\_DE\_B03, Stand: 05/2013)

Die Wahrscheinlichkeit eines positiven Autoantigen-Nachweises hängt von der Höhe des ANA-Titers ab. Die weitere Stufendiagnostik nach einem positiven ANA-Screening sollte in der Regel erst ab einem ANA-Titer von 1:320 durchgeführt werden. Für den quantitativen Nachweis der IgG-Autoantikörper gegen dsDNA wurde für die vorliegende Studie ein indirekter Enzymimmunoassay (ELISA) durchgeführt (Testkit *REF ORG 604* des Herstellers Orgentec, vollautomatische Testung am *Euroimmun-Analyzer I*).



## Material und Methoden

Zunächst wurde verdünntes Patientenserum in die mit rekombinanter dsDNA beschichteten Kavitäten einer Mikrotiterplatte gegeben. Antikörper aus dem Serum banden so an immobilisierte Antigene. Nicht gebundene Serum-Antikörper wurden durch Waschen entfernt. Anschließend wurden enzymmarkierte Detektionsantikörper (HRP-konjugierte Anti-human IgG-Antikörper) hinzugefügt, welche sich an die oberflächengebundenen Autoantikörper hefteten. Nicht gebundene, überschüssige Detektionsantikörper wurden wiederum durch Waschen entfernt. Durch Zugabe eines Enzymsubstrates wurden die gebundenen Detektionsantikörper zu einem blauen Reaktionsprodukt hydrolysiert. Säurezugabe stoppte die Reaktion und das Reaktionsprodukt verfärbte sich gelb. Die Intensität der Färbung konnte anschließend photometrisch bestimmt werden und war direkt proportional zu der Autoantikörper-Konzentration. Ein negatives Testergebnis entsprach einem Referenzwert von unter 20 IU/ml.

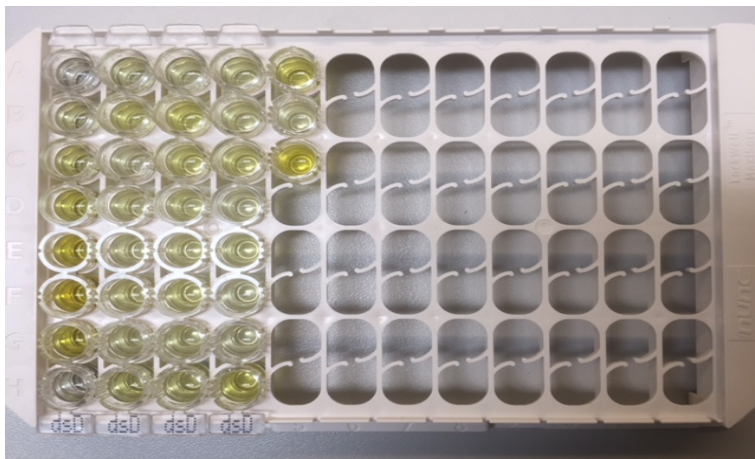


Abbildung 4: Eine dsDNA-Antigen beschichtete Mikrotiterplatte zur Detektion von Autoantikörpern im Patientenserum.

(Mit freundlicher Genehmigung des Instituts für klinische Chemie, Labor für Autoimmundiagnostik, UKSH Campus Lübeck)

Für die vorliegende Studie wurden die dsDNA Antikörper zur Überwachung der Krankheitsaktivität und der Therapie mindestens einmal pro Quartal bestimmt. Wie bereits oben beschrieben konnten fehlende Ausgangswerte nachträglich aus eingelagerten Serumproben ermittelt werden.

### 2.7.3 Komplementfaktoren C3 und C4

Die Bestimmung von C3 und C4 erfolgte regelmäßig alle vier Wochen bei Vorstellung zur Belimumab-Gabe. Von den Patienten wurde dafür je 5,5 ml Serum gewonnen

und ins Zentrallabor des UKSH versandt. Die Auswertung erfolgte vollautomatisch mittels Immun-Nephelometrie (*Dade Behring BN II*).

Der C3-Referenzbereich liegt zwischen 0,9-1,8 g/l, der C4-Referenzbereich zwischen 0,1-0,4 g/l.

### 2.7.4 CRP

Für diese Studie wurde das CRP monatlich vor jeder Belimumab-Gabe bestimmt. Dafür wurden 5,5 ml Vollblut in Lithium-Heparin-Monovetten gewonnen. Die Auswertung erfolgte im UKSH-Zentrallabor mittels Immunturbidimetrie (*Hitachi Modular, Roche*). Der CRP-Normwert liegt unter 5 mg/l.

### 2.7.5 Blutbild (Hämoglobin, Thrombozyten)

Bei allen Studienteilnehmern wurde vor jeder Belimumab-Gabe ein Blutbild bestimmt. Dafür wurden 2,7 ml Vollblut in EDTA-Monovetten gewonnen und im Zentrallabor absorptionsphotometrisch nach Reaktion mit Natriumlaurylsulfat (Hämoglobin) bzw. durch eine durchflusszytometrische Impedanzmessung (Thrombozyten) am *Sysmex XE2100* untersucht.

Als Hämoglobin-Referenzbereiche gelten für Frauen 12-16 g/dl, für Männer 13,5-17,5 g/dl. Der Normbereich der Thrombozyten liegt zwischen 160.000-370.000/ $\mu$ l.

## 2.8 Statistische Methodik

Bei den hier untersuchten Parametern handelte es sich um quantitative Größen, die in maximal 50 Zyklen erfasst wurden. Zur weiteren Analyse wurden vier charakteristische Zeitabschnitte (T) gebildet. T1 umfasst die Zyklen 7,8 und 9 und ist zeitlich etwa 6 Monate nach Therapiebeginn angesiedelt. T2 umfasst die Zyklen 14, 15 und 16 und ist zeitlich etwa 12 Monate nach Therapiebeginn angesiedelt. T3 umfasst die Zyklen 20, 21 und 22 und beschreibt den Zeitpunkt 1,5 Jahre nach Therapiebeginn. Der jeweils erste Zyklus bildete T0. Für die Zeitabschnitte T1, T2 und T3 wurden jeweils Durchschnitt, Minimum und Maximum ermittelt. Die Beschreibung der Verteilung erfolgte anhand von Mittelwert und Standardabweichung, Minimum und Maximum sowie der Quartile. Mittels Shapiro Wilk-Test wurden die Parameter in T0, T1, T2 und T3 auf Normalverteilung geprüft. Von den ursprünglich erfassten 27 Patienten konnten letztendlich die Daten von 21 Patienten mit in die statistische Auswertung einfließen. Sechs Patienten brachen die

## *Material und Methoden*

Therapie vor dem ersten Beobachtungszeitraum von etwa einem halben Jahr ab (= T1).

Zunächst wurde der Ausgangszeitpunkt T0 mit jeweils allen in T1, T2 und T3 vorhandenen Messungen verglichen. Bei signifikanter Abweichung von einer Normalverteilung erfolgte dieser Vergleich mit dem Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, anderenfalls konnte der t-Test für verbundene Stichproben eingesetzt werden. Anschließend wurden nochmals die Patienten ausgewählt, bei denen Messungen zu allen vier Zeitpunkten vorlagen. Es wurde für diese zunächst global geprüft, ob sich eine signifikante Veränderung im zeitlichen Verlauf nachweisen ließ, bei signifikantem Globaleffekt schlossen sich dann entsprechende Post-Hoc-Paarvergleiche an. Im parametrischen Fall war dies eine Varianzanalyse für Messwiederholungen mit multiplen t-Test-Post-Hoc-Paarvergleichen oder im nicht-parametrischen Fall (bei signifikanter Abweichung von einer Normalverteilung) der Friedman-Test mit nachfolgenden Wilcoxon-Tests für Paardifferenzen.

Weiterhin sollten für dsDNA AK, C3 und C4 in T0 Cut-Off-Werte ermittelt werden, die die Responder von den Non-Respondern (hinsichtlich eines Ansprechens auf die Therapie) trennen. Dazu wurden diese beiden Patientengruppen zunächst mittels U-Test auf signifikante Unterschiede geprüft. Folglich konnten für C3 und C4 im Anschluss mittels ROC-Analyse Cut-Off-Werte ermittelt werden, welche mit größtmöglicher Sensitivität und gleichzeitig höchster Spezifität die Gruppen der Responder und der Non-Responder voneinander unterscheiden.

Es wurde zweiseitig getestet und ein Signifikanzniveau von 5% zugrunde gelegt. Eine Alpha-Adjustierung für multiples Testen fand nicht statt, die Ergebnisse haben demnach explorativen und beschreibenden Charakter. Für die Durchführung der statistischen Berechnungen wurde IBM SPSS Statistics 25 (SPSS Inc. an IBM Company, Chicago, IL) eingesetzt.

Die klinischen und serologischen Daten wurden grafisch anhand von Box-Whisker-Plots dargestellt. So konnte der Bereich, über den sich die Daten verteilen, übersichtlich erfasst werden. Die Box (Kasten) wird durch das untere ( $\tilde{x}0.25$ ) und obere Quartil ( $\tilde{x}0.75$ ) begrenzt. Sie umfasst die mittleren 50% der Daten und entspricht dem Interquartilsabstand (IQR). Die durchgehend verlaufende Linie innerhalb der Box markiert den Median ( $\tilde{x}0.5$ ). Die Whisker (Antennen) umfassen die außerhalb der Box liegenden Daten. Die Begrenzung der Antennen zeigt die minimalen und maximalen Werte innerhalb des „inneren Zauns“ (erstes Quartil minus

## *Material und Methoden*

1,5-fachem IQR und drittes Quartil plus 1,5-fachem IQR) an. Milde Ausreißer, dargestellt als Kreis (°), sind Werte, die innerhalb des „äußeren Zauns“ (1,5- bis 3-fachem IQR) liegen (31,32). Werte, die über dem 3-fachen IQR liegen, gelten als extreme Ausreißer und sind als Stern (\*) gekennzeichnet (33).

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Patientenkollektiv

Zum Zeitpunkt der Studie wurden 196 SLE-Patienten am Zentrum betreut. Eine Behandlung von 27 Patienten mit Belimumab entsprach einer Versorgungsquote mit diesem Präparat von 13,8%. Von den in die Studie eingeschlossenen Patienten waren 24 Frauen (88,9 %) und 3 Männer (11,1 %). Die Altersverteilung lag zwischen 31 und 76 Jahren, der Altersmedian bei 49 Jahren (48,5 Jahre bei den Frauen, 56 Jahre bei den Männern), der Mittelwert bei 51,4 Jahren. Alle Patienten waren kaukasischer Herkunft.

#### 3.2 Manifestation

Die mittlere Erkrankungsdauer von dem Jahr der Erstdiagnose des SLE bis zum Therapiebeginn mit Belimumab lag bei 11,4 Jahren. Der mittlere SLEDAI Score vor Therapiestart betrug 9,3 Punkte. Zu diesem Zeitpunkt waren im Mittel 5,9 Klassifikationskriterien der ACR/SLICC-Klassifikation erfüllt. Die mittlere Therapiedauer lag bei 18 Monaten mit im Mittel 19,5 verabreichten Belimumab-Zyklen. Bei Therapiebeginn erhielten 25 der 27 Patienten begleitend Prednisolon oder ein vergleichbares Äquivalent, bei 14 Patienten war die Dosis  $\geq 7,5$  mg/d (51,9%). Dabei betrug die mittlere Prednisolon-Dosis 9,7 mg/d.

Verzeichnete Vortherapien umfassten folgende Wirkstoffe: Mycophenolat Mofetil, Hydroxychloroquin, Methotrexat, Azathioprin, Ciclosporin, Cyclophosphamid, Chloroquin, Mepacrine, Rituximab und Tacrolimus. Die am häufigsten verabreichten Substanzen waren Mycophenolat Mofetil (88,9%) und Hydroxychloroquin (74,1%). Durchschnittlich wurde jeder Proband vor der Belimumab-Gabe mit 3,5 der oben aufgeführten Medikamentengruppen therapiert.

Vor Therapiebeginn waren bei 26 der 27 Patienten (96,3%) die ANA-Titer erhöht (Median 1:2560). 18 Patienten (66,7%) wiesen positive dsDNA AK-Werte  $> 20$  U/ml auf (Mittelwert 102,68 U/ml  $\pm$  80,4). Ebenfalls bei 18 Patienten (66,7%) zeigten sich erniedrigte C3-Spiegel (Mittelwert 0,68  $\pm$  0,11). Bei 12 Patienten (44,4%) waren erniedrigte C4-Spiegel (Mittelwert 0,06  $\pm$  0,01) auffällig.

Als rheumatologische Nebendiagnosen wurden bei fünf Patienten ein sekundäres Antiphospholipidsyndrom (18,5%), bei zwei Patienten eine Polymyositis (7,4%) sowie – im Sinne eines Overlap-Syndroms – bei jeweils einem der Studienteilnehmer ein

## Ergebnisse

Sjögren-Syndrom, eine seropositive Rheumatoide Arthritis (RA) und eine Sklerodermie (je 3,7%) verzeichnet.

Tabelle 4: demografische Basisdaten, Krankheitscharakteristika und Biomarker der Kohorte

<b>Demografische Daten</b>	n	%	MW ± SD	Range
weibliches Geschlecht	24/27	88,9		32 – 76 y
männliches Geschlecht	3/27	11,1		31 – 64 y
mittleres Alter ± SD, y			51,4 ± 12,3	
Ethnie, %				
Kaukasier	27/27	100		
<b>Krankheitscharakteristika</b>			MW ± SD	
mittlere Krankheitsdauer vor Therapiestart ± SD, y			11,4 ± 8,5	0,5 – 30 y
mittlerer SLEDAI score ± SD			9,3 ± 4,2	2 – 18
mittlere Anzahl an erfüllten SLICC-Kriterien ± SD			5,9 ± 1,8	3 – 9
<b>Medikation</b>	n	%	MW ± SD	
Belimumab				
mittlere Therapiedauer ± SD, m			18 ± 15,5	1 – 47 m
Mittel der erhaltenen Zyklen ± SD			19,5 ± 15,4	2 – 50
Prednisolon oder Äquivalent	25/27	92,6		
Prednisolon oder Äquivalent > 7,5 mg/d	14/27	51,9		
mittlere Prednisolondosis ± SD, mg/d			9,7 ± 9,1	0 – 40
mittlere Anzahl an erhaltenen Vortherapien			3,5 ± 1,7	1 – 8
andere Immunsuppressiva (Vortherapien)				
Mycophenolat Mofetil	24/27	88,9		
Hydroxychloroquin	20/27	74,1		
Methotrexat	10/27	37,0		
Azathioprin	11/27	40,7		
Ciclosporin	4/27	14,8		
Cyclophosphamid	10/27	37,0		
Chloroquin	3/27	11,1		
Mepacrine	3/27	11,1		
Rituximab	3/27	11,1		
Tacrolimus	1/27	3,7		
<b>Biomarker</b>	n	%	MW ± SD	Median
hoher ANA – Titer (≥ 1:160)	26/27	96,3		1:2560
hohe anti-dsDNA-AK (> 20 U/ml)	18/27	66,7	102,68 ± 80,4	
niedriges C3 (< 0,9 g/l)	18/27	66,7	0,68 ± 0,11	
niedriges C4 (< 0,1 g/l)	12/27	44,4	0,06 ± 0,01	

### 3.3 Klinisches Ansprechen

Für alle 27 Studienteilnehmer wurden SLEDAI, Patient- und Arzturteil, Glukokortikoiddosis sowie sieben serologische Parameter bei der letzten vortherapeutischen Visite (T0) erfasst. Die Werte wurden verglichen mit den Visiten nach sechs Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3). 21 Probanden erreichten den Zeitpunkt T1. Bei 6 Teilnehmern wurde die Therapie vorzeitig unterbrochen, weil entweder bei hoher Krankheitsaktivität ein unzureichender Effekt zu verzeichnen war (n=3), oder weil Nebenwirkungen unter der Behandlung auftraten (n=2). Zudem kam es zu einem Todesfall ungeklärter Ursache (n=1). Zum Abbruch führende Nebenwirkungen waren starke Kopfschmerzen (n=1) und nicht näher charakterisierte psychologische Irritationen (n=1). Zum Zeitpunkt T2 standen noch 18 Patienten unter Therapie. Den Zeitpunkt T3 erreichten 11 Patienten.

Nach den o.g. (s. 2.6) definierten klinischen Ansprechkriterien konnten 19 der 27 Patienten (70,4%) als Responder eingestuft werden. Acht Patienten (29,6%) profitierten nach diesen Kriterien nicht von einer Belimumab-Therapie.

Die mittlere Therapiedauer der Responder lag bei  $23,2 \pm 15,8$  Monaten. Dabei erhielten sie im Mittel  $24,3 \pm 16$  Zyklen Benlysta®. Die mittlere Therapiedauer der Non-Responder betrug  $5,75 \pm 3,6$  Monate, im Mittel wurden ihnen  $8,25 \pm 3,4$  Zyklen Benlysta® verabreicht.

Im Einzelnen verbesserte sich bei 16 der 19 Responder (84,2 %) nach im Mittel  $6,4 \pm 3,1$  Therapiezyklen der SLEDAI um  $\geq 4$  Punkte. 17 der 19 Patienten (89,5 %) gaben im PtGA nach im Mittel  $11,6 \pm 8$  Zyklen eine Verbesserung ihres subjektiven Befindens um  $\geq 2$  Punkte an. Ebenfalls bei 17 der 19 Patienten (89,5 %) registrierte der behandelnde Arzt nach im Mittel  $12 \pm 8$  Zyklen eine Verbesserung um  $\geq 2$  Punkte im PhGA. Eine Reduktion der initial bestehenden Glukokortikoiddosis um mindestens 5mg/Tag konnte bei 8 Patienten (47 %) über im Mittel  $16,6 \pm 12,6$  Belimumab-Zyklen verzeichnet werden. Dabei gilt es zu beachten, dass nicht alle Responder (17 aus 19) initial ein Glukokortikoid als Begleittherapie erhielten. Zudem lag die verabreichte Glukokortikoiddosis zu Therapiebeginn bei 8 der 17 Patienten (47,1%) unter der Schwellendosis von 7,5 mg/Tag.

Um Aussagen über die zeitliche Entwicklung der einzelnen Parameter, die das klinische Ansprechen repräsentieren, tätigen zu können, wurden für die weitere

## Ergebnisse

Ergebnisdarstellung nur die Patienten untersucht, für die neben den Ausgangswerten (T0) mindestens zu einem weiteren Vergleichszeitpunkt Verlaufsdaten erhoben worden sind (n=21). Aufgrund organisatorischer Gegebenheiten sowie teilweise fehlender Compliance der Probanden wurden nicht alle Parameter an jedem Untersuchungszeitpunkt lückenlos erfasst. So entspricht die Anzahl der ausgewerteten Datensätze mitunter nicht der Anzahl der zu diesem Zeitpunkt noch eingeschlossenen Probanden.

### 3.3.1 SLEDAI

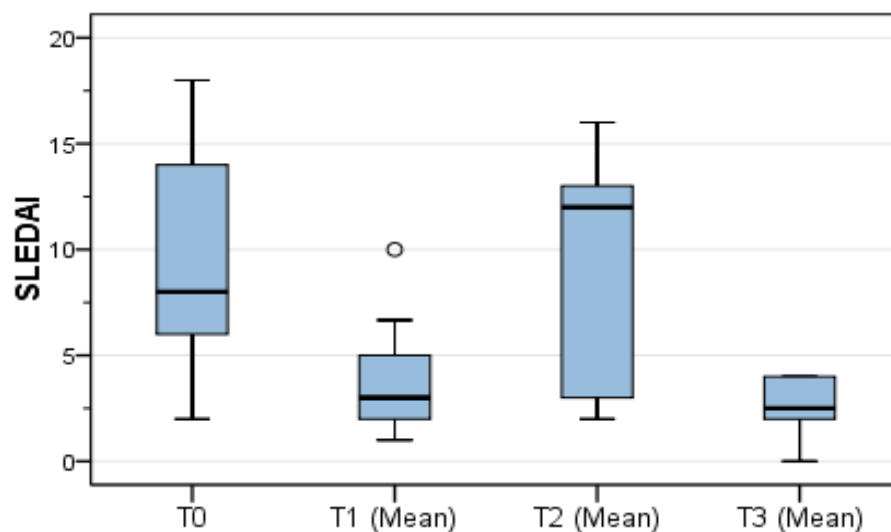


Abbildung 5: Krankheitsaktivität (SLEDAI) vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3). Abgebildet ist eine *Box-Whisker-Darstellung*: Median: T0: 8 Punkte, T1: 3 Punkte, T2: 12 Punkte, T3: 2,5 Punkte.

Anzahl der auswertbaren Individuen: T0: n= 21, T1: n= 11, T2: n= 7, T3: n= 6.

Insgesamt kam es unter der Therapie zu einem deutlichen Absinken des Aktivitätsindex. Der SLEDAI fiel im Mittel von 9,5 ( $\pm$  4,6) auf 3,8 Punkte ( $\pm$  2,8) nach 6 Monaten ( $p < 0,01$ ) und auf einen Wert von 2,5 ( $\pm$  1,5) nach 18 Monaten ( $p < 0,001$ ).

Abweichend davon war der SLEDAI nach 12 Monaten im Mittel nicht abgefallen, für diesen Zeitpunkt wurde ein Wert von 8,9 ( $\pm$  5,9) ermittelt. Formal sind diese Werte mit einem Krankheitsschub gleichzusetzen. Der Wert wird vor allem durch Scores dreier individueller Patienten beeinflusst.

Betrachtet man den Verlauf des SLEDAI über die gesamte Beobachtungszeit, konnte die Krankheitsaktivität durch eine Therapie mit Belimumab deutlich gesenkt werden.



### 3.3.2 Patienten- und Arzturteil (Global Assessment)

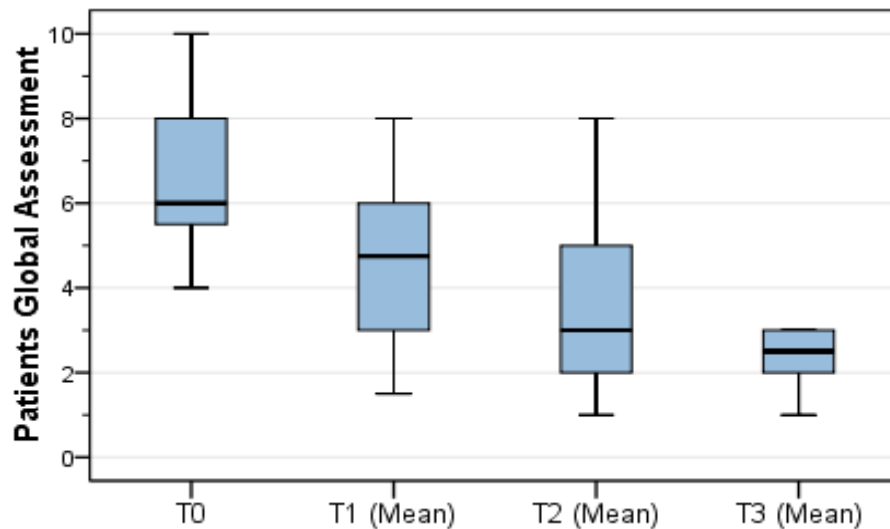


Abbildung 6: Krankheitsaktivität in der Patientenselbsteinschätzung (PtGA) vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3).

*Box-Whisker-Darstellung:* Median: T0: 6 Punkte, T1: 4,75 Punkte, T2: 3 Punkte, T3: 2,5 Punkte.

Anzahl der auswertbaren Individuen: T0: n= 21, T1: n= 13, T2: n= 6, T3: n= 6.

Auch die Werte des Patients und Physicians Global Assessment als subjektive Parameter zur Einschätzung der Krankheitsaktivität wurden vor Therapiebeginn (T0) dokumentiert und mit den Visiten nach sechs (T1), nach 12 (T2) und nach 18 Monaten (T3) verglichen.

Insgesamt konnte über die 18 Monate eine stetige Verringerung der von den Probanden empfundenen Krankheitsaktivität beobachtet werden. Im Mittel fielen die Werte von T0 = 6,8 ( $\pm$  1,7) Punkte auf 4,6 ( $\pm$  2,0) Punkte nach 6 Monaten (T1) und auf 3,7 ( $\pm$  2,5) Punkte nach 12 Monaten (T2). Nach 18 Monaten wurde ein signifikanter Abfall auf 2,3 ( $\pm$  0,8) Punkte ( $p \leq 0,01$ ) verzeichnet.

## Ergebnisse

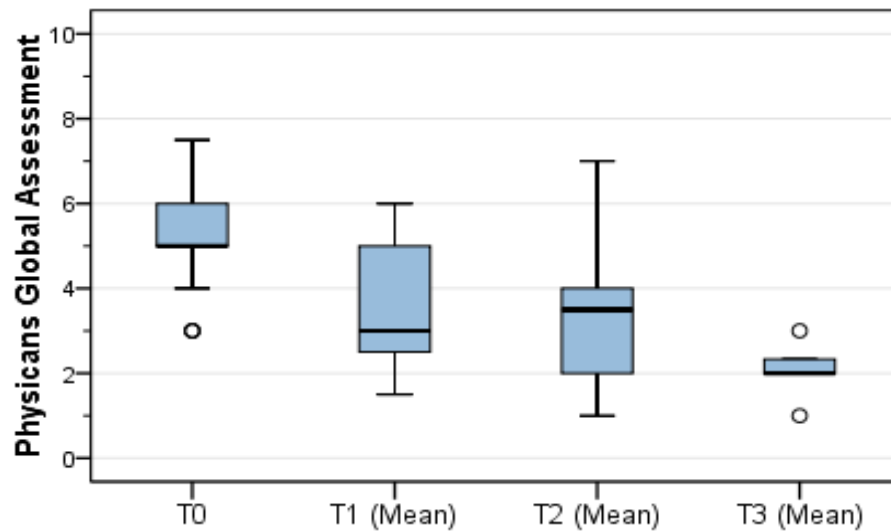


Abbildung 7: Krankheitsaktivität in der Arztfremdeinschätzung (PhGA) vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3).

*Box-Whisker-Darstellung:* Median: T0: 5 Punkte, T1: 3 Punkte, T2: 3,5 Punkte, T3: 2 Punkte.

Anzahl der auswertbaren Individuen: T0: n= 21, T1: n= 12, T2: n= 6, T3: n= 6.

Die Auswertung des Physicians Global Assessment zeigte ebenfalls einen Abfall der erhobenen Werte von im Mittel initial 5,3 ( $\pm$  1,3) Punkte auf T1 = 3,5 ( $\pm$  1,4) Punkte ( $p \leq 0,01$ ), T2 = 3,5 ( $\pm$  2,0) Punkte und T3 = 2,0 ( $\pm$  0,6) Punkte ( $p \leq 0,001$ ). Sowohl T1 als auch T3 unterschieden sich signifikant vom Ausgangswert.

### 3.3.3 Glukokortikoiddosis

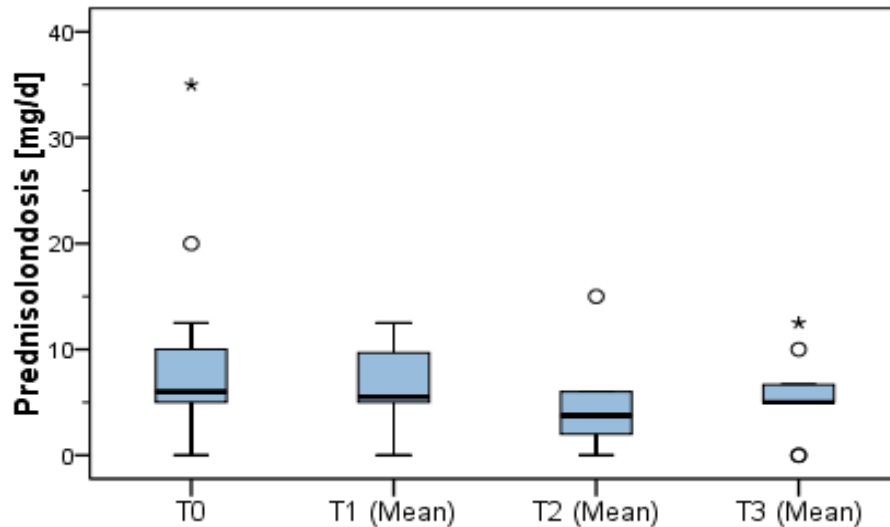


Abbildung 8: Glukokortikoiddosis vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3).

*Box-Whisker-Darstellung:* Median: T0: 6 mg/d, T1: 5,5 mg/d, T2: 3,75 mg/d, T3: 5 mg/d.

Anzahl der auswertbaren Individuen: T0: n= 21, T1: n= 14, T2: n= 6, T3: n= 9.

Die Auswertung der therapiebegleitend erhaltenen Glukokortikoiddosen zeigte, dass über die 18 Monate insgesamt Glukokortikoide eingespart werden konnten.

Nur für den Zeitpunkt T1 wurde eine signifikante Reduktion des mittleren Ausgangswertes auf  $6,4 (\pm 3,4)$  mg/d ( $p < 0,05$ ) nachgewiesen. Die mittlere initiale GK-Dosis von  $8,7 (\pm 7,6)$  mg/d zum Zeitpunkt T0 konnte zum Zeitpunkt T2 auf  $5,0 (\pm 5,3)$  mg/d und zum Zeitpunkt T3 auf  $5,5 (\pm 4,0)$  mg/d gesenkt werden.

Zu allen drei Auswertungszeitpunkten lag die mittlere GK-Dosis unter der Cushing-Schwellendosis von 7,5 mg Prednisolon/Tag.

### 3.4 Serologisches Ansprechen

#### 3.4.1 ANA

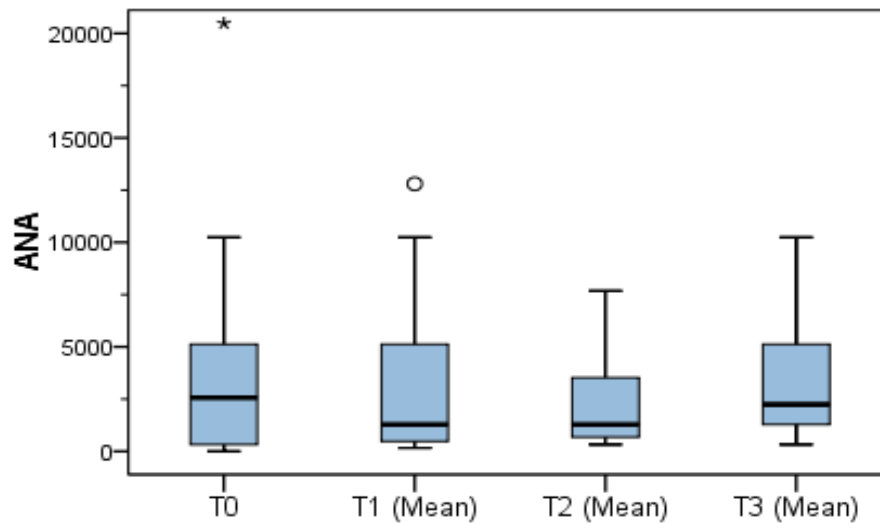


Abbildung 9: ANA Titer vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3).

*Box-Whisker-Darstellung:* Median: T0: 1:2560, T1: 1:1280, T2: 1:1280, T3: 1:2240  
Anzahl der auswertbaren Individuen: T0: n= 21, T1: n= 17, T2: n= 11, T3: n= 10.

20 von 21 Patienten (95,2%) wiesen zu Therapiebeginn einen erhöhten ANA-Titer auf ( $\geq 1:160$ ). Der Ausgangsmedian vor Therapiebeginn lag bei 1:2560. Zu den Folgezeitpunkten T1 und T2 wurde ein Median von 1:1280 ermittelt. Nach 18 Monaten (T3) stieg dieser auf 1:2240. Es bestand zu allen drei Zeitpunkten kein signifikanter Unterschied zum Ausgangswert.

### 3.4.2 dsDNA Antikörper

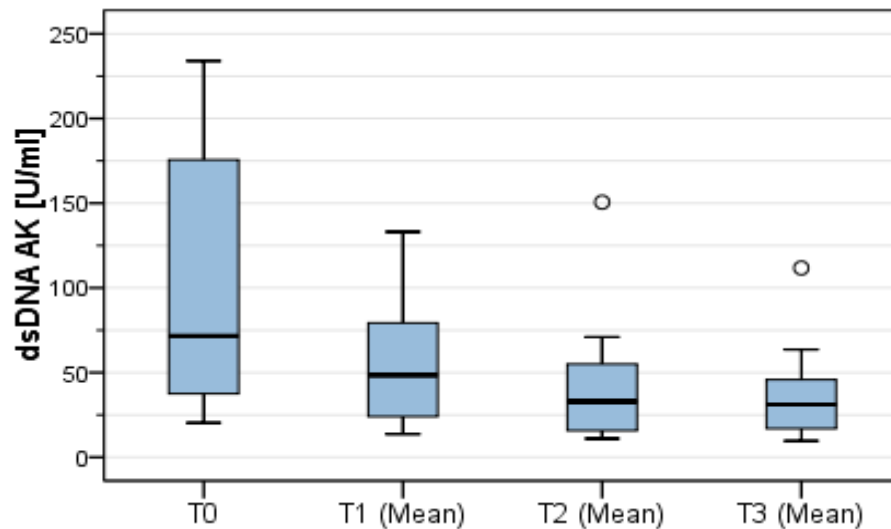


Abbildung 10: dsDNA Antikörper vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3).

*Box-Whisker-Darstellung:* Median: T0: 71,6 U/ml, T1: 48,5 U/ml, T2: 33 U/ml, T3: 31,2 U/ml

Anzahl der auswertbaren Individuen: T0: n= 14, T1: n= 14, T2: n= 11, T3: n= 11.

Näher betrachtet wurden die Patienten, die zu Therapiebeginn erhöhte dsDNA-AK ( $\geq 20$ U/ml) aufwiesen. Das arithmetische Mittel der dsDNA Antikörper lag zum Anfangszeitpunkt (T0) bei 102,2 U/ml ( $\pm 77,6$  U/ml). Über die Beobachtungszeit von 18 Monaten kam es zu einem kontinuierlichen Abfall der dsDNA-AK. Folgende Mittelwerte ( $\pm$  SD) wurden nach 6, 12 und 18 Monaten ermittelt:

T1: 57,2 ( $\pm 38,2$ ) U/ml, T2: MW: 43,5 ( $\pm 40,9$ ) U/ml, T3: MW: 37,0 ( $\pm 29,9$ ) U/ml.

Alle Folgezeitpunkte unterschieden sich signifikant vom Ausgangswert ( $p < 0,01$ ). Kontrastierend zu den ANA Titern kam es bei den dsDNA Antikörpern zu einem deutlichen Abfall. Diese Beobachtung ist nicht nur im Mittel auffallend, sondern konnte bei der gesamten Kohorte nachgewiesen werden. Um dies zu illustrieren, sind die individuellen Verläufe von 14 Patienten in Abbildung 11 dargestellt.

## Ergebnisse

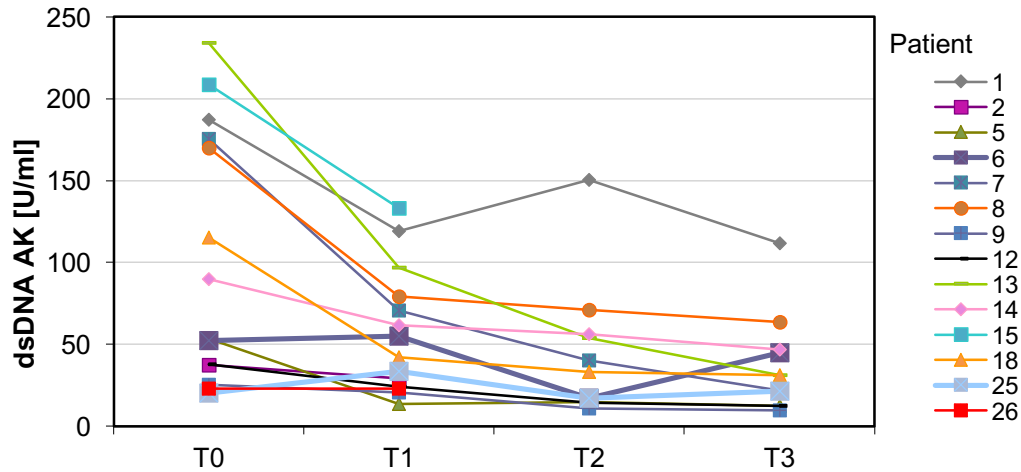


Abbildung 11: dsDNA AK - individuelle Verläufe über 18 Monate

### 3.4.3 C3

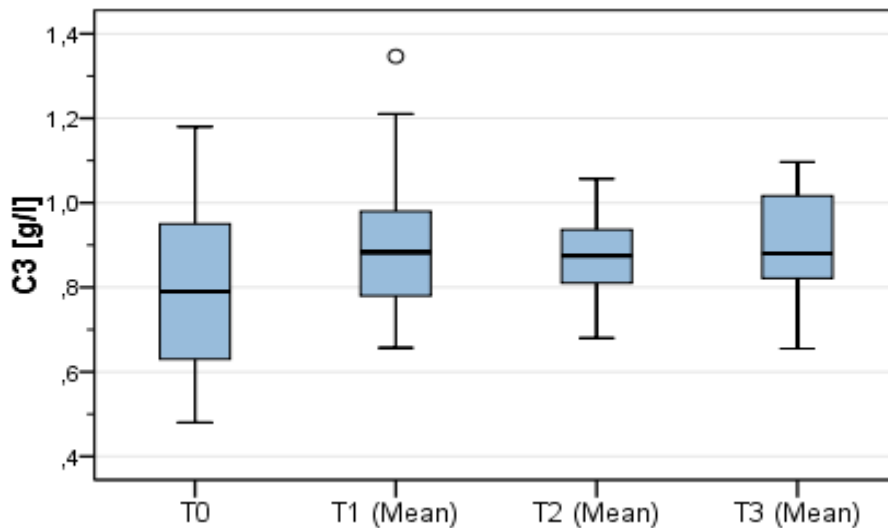


Abbildung 12: C3 vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3).

*Box-Whisker-Darstellung:* Median: T0: 0,79 g/l, T1: 0,88 g/l, T2: 0,87 g/l, T3: 0,88 g/l  
Anzahl der auswertbaren Individuen: T0: n= 21, T1: n= 21, T2: n= 13, T3: n= 11.

Für die gesamte Kohorte lag eine lückenlose Dokumentation der C3 Werte vor. Zum Ausgangszeitpunkt T0 lagen 16 der 21 statistisch ausgewerteten Patienten unterhalb des Normbereiches ( $< 0,9$  g/l). Somit waren 76,2% dieser Gruppe hypokomplementämisch. Im Mittel lag der Komplementfaktor C3 vor Therapiebeginn bei  $0,8 (\pm 0,2)$  g/l. Unter der Therapie mit Belimumab kam es schon nach 6 Monaten (T1) zu einem Anstieg des C3 Wertes auf im Mittel  $0,9 (\pm 0,17)$  g/l. Nach 12 Monaten (T2) war ein leichter Abfall des Mittelwertes auf  $0,87 (\pm 0,09)$  g/l zu

## Ergebnisse

verzeichnen, welcher nach 18 Monaten (T3) wieder auf  $0,9 (\pm 0,14)$  g/l anstieg. Alle drei Folgezeitpunkte unterschieden sich signifikant vom Ausgangswert ( $p < 0,01$ ). Zum Studienende wiesen 6 der 11 Patienten (55%) Werte im normokomplementämischen Bereich auf.

### 3.4.4 C4

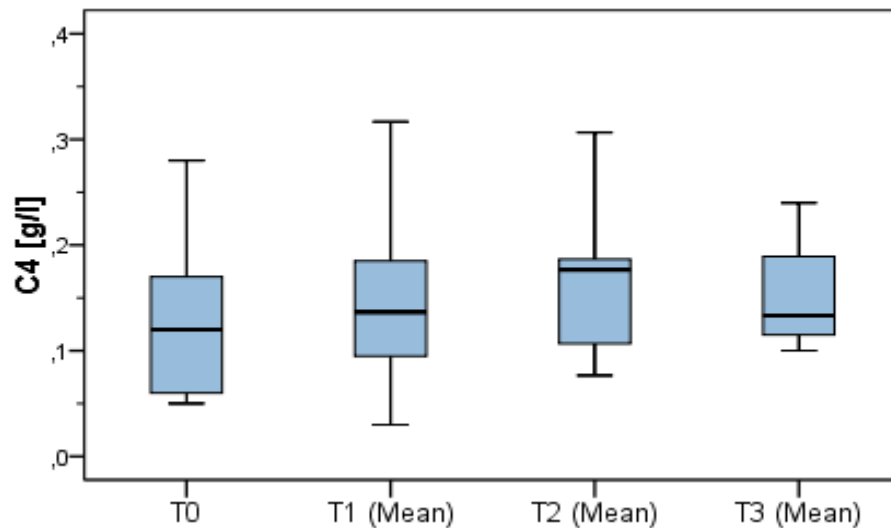


Abbildung 13: C4 vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3).

*Box-Whisker-Darstellung:* Median: T0: 0,12 g/l, T1: 0,14 g/l, T2: 0,18 g/l, T3: 0,13 g/l  
Anzahl der auswertbaren Individuen: T0: n= 21, T1: n= 21, T2: n= 13, T3: n= 11.

Auch beim Komplementfaktor C4 konnte im Verlauf der Therapie ein Anstieg der Werte beobachtet werden. Zum Ausgangszeitpunkt (T0) waren 9 der 21 Patienten (42,9%) hypokomplementämisch. Nach 18 Monaten (T3) lagen bei 10 der 11 noch adhären Patienten (90,9%) die C4-Werte im Normbereich (0,1-0,4 g/l).

Das arithmetische Mittel zum Zeitpunkt T0 betrug  $0,12 (\pm 0,06)$  g/l. Im Verlauf lagen die Mittelwerte zu den Zeitpunkten T1 bei  $0,15 (\pm 0,08)$  g/l, T2 bei  $0,16 (\pm 0,06)$  g/l und T3 bei  $0,15 (\pm 0,04)$  g/l. Alle Folgezeitpunkte unterschieden sich statistisch signifikant vom Ausgangswert ( $p < 0,01$ ).

### 3.4.5 CRP

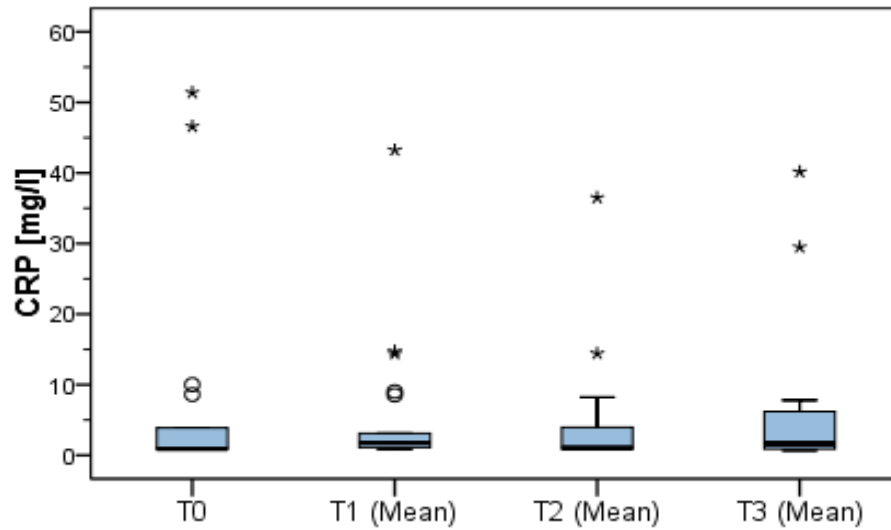


Abbildung 14: CRP vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3).

*Box-Whisker-Darstellung:* Median: T0: 0,9 mg/l, T1: 1,75 mg/l, T2: 1,03 mg/l, T3: 1,63 mg/l

Anzahl der auswertbaren Individuen: T0: n= 21, T1: n= 21, T2: n= 13, T3: n= 11.

Die Auswertung der CRP-Werte ergab, dass die Mediane zu allen ausgewählten Beobachtungszeitpunkten im Normbereich (< 5 mg/l) lagen. Ein gegensätzliches Ergebnis erbrachte die Analyse der Mittelwerte. Bedingt durch mehrere Ausreißer lagen diese zu allen Zeitpunkten oberhalb des CRP- Referenzwertes (T0: 6,9 ( $\pm 14,2$ ) mg/l; T1: 5,4 ( $\pm 9,7$ ) mg/l; T2: 5,7 ( $\pm 10,0$ ) mg/l; T3: 8,3 ( $\pm 13,5$ ) mg/l).

Insgesamt konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede zum Ausgangswert nachgewiesen werden ( $p \geq 0,05$ ).



### 3.4.6 Hämoglobin

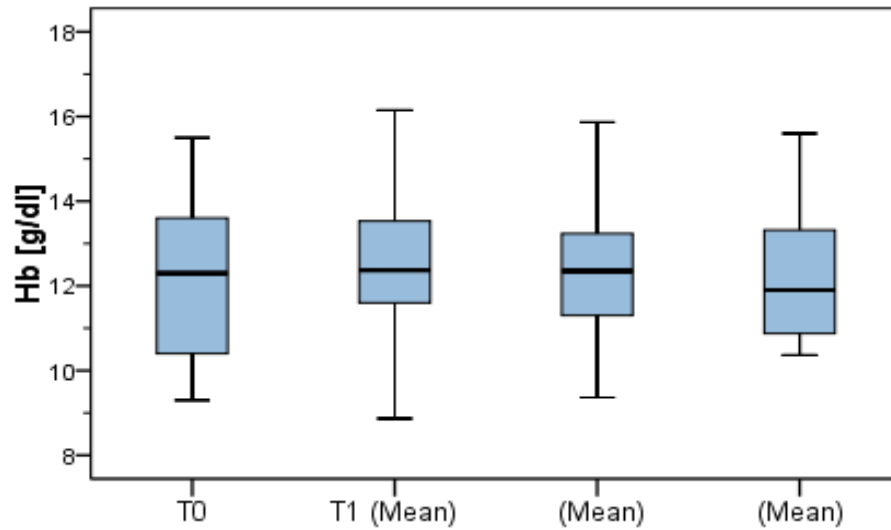


Abbildung 15: Hämoglobin vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3).

*Box-Whisker-Darstellung:* Median: T0: 12,3 g/dl, T1: 12,4 g/dl, T2: 12,4 g/dl, T3: 11,9 g/dl

Anzahl der auswertbaren Individuen: T0: n= 21, T1: n= 21, T2: n= 13, T3: n= 11.

Insgesamt zeigte sich bei nur wenigen Probanden eine Anämie. Die Hb-Werte lagen zu allen Beobachtungszeitpunkten im Mittel innerhalb des Normbereiches (Frauen: 12-16 g/dl, Männer 13,5-17,5 g/dl).

Der mittlere Ausgangswert von 12,2 g/dl ( $\pm 1,7$ ) stieg nach 6 Monaten (T1) auf 12,6 g/dl ( $\pm 1,8$ ), lag nach 12 Monaten (T2) bei 12,4 g/dl ( $\pm 1,7$ ) und nach 18 Monaten (T3) bei 12,2 g/dl ( $\pm 1,7$ ). Nach Therapieeinleitung und bis zum Studienende konnte somit kein Effekt von Belimumab auf den Hb-Wert nachgewiesen werden.

### 3.4.7 Thrombozyten

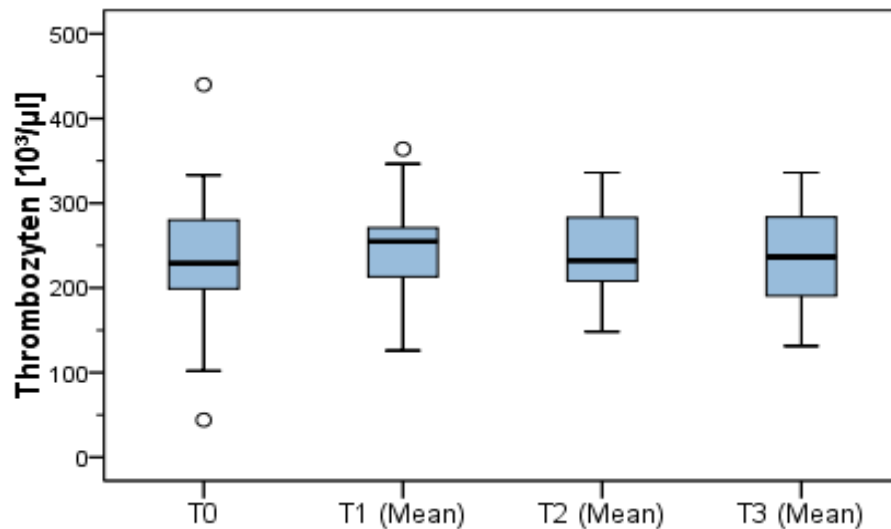


Abbildung 16: Thrombozyten vor Therapie (T0) und unter Belimumab-Therapie nach 6 Monaten (T1), nach 12 Monaten (T2) und nach 18 Monaten (T3).

*Box-Whisker-Darstellung:* Median: T0: 229x10<sup>3</sup>/µl, T1: 255x10<sup>3</sup>/µl, T2: 232x10<sup>3</sup>/µl, T3: 237x10<sup>3</sup>/µl

Anzahl der auswertbaren Individuen: T0: n= 21, T1: n= 21, T2: n= 13, T3: n= 11.

Nur wenige Individuen des Kollektivs wiesen Thrombozytopenien auf. Im Mittel lagen alle Werte innerhalb des Referenzbereiches (160.000-370.000/ µl). Die mittlere Thrombozytenzahl lag vor Therapiebeginn (T0) bei 232,1 (± 88,1) x10<sup>3</sup>/µl, nach 6 Monaten (T1) bei 246,6 (± 66,9) x10<sup>3</sup>/µl, nach 12 Monaten (T2) bei 236,3 (± 59,6) x10<sup>3</sup>/µl und veränderte sich auch nach 18 Monaten (T3) nur minimal auf 236,6 (± 64,0) x10<sup>3</sup>/µl. Es konnte zu keinem Folgezeitpunkt ein signifikanter Unterschied zum Ausgangswert nachgewiesen werden (p ≥0,05).

Es zeigte sich kein Effekt von Belimumab auf die Thrombozytenzahlen.

### 3.4.8 Prädiktive Faktoren des Therapieansprechens

Es wurde untersucht, ob sich eine Korrelation zwischen den klassischen Lupus-Laborparametern und einem späteren klinischen Ansprechen auf die Therapie mit Belimumab nachweisen lässt. Hierfür wurden die Ausgangswerte der Patienten betrachtet, die mindestens 6 Monate eine Belimumab-Therapie erhalten haben (n=21). Von den 21 Patienten wurden 5 als Non-Responder (23,8%) und 16 als Responder (76,2%) eingestuft.

Die Ergebnisse für dsDNA AK, C3 und C4 sind in Abbildung 17 bis 19 dargestellt.

## Ergebnisse

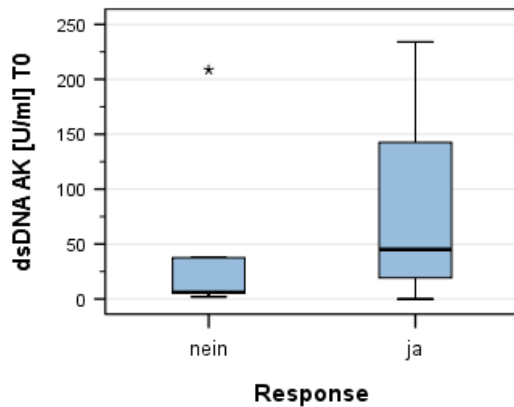


Abbildung 17: dsDNA-AK vor Therapie - Vergleich Non-Responder (NR, n=5) und Responder (R, n=16)

Box-Whisker-Darstellung: Median (NR): 6,1 U/ml; Median (R): 45,15 U/ml

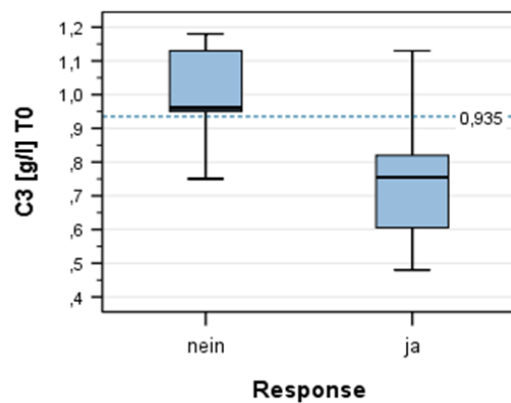


Abbildung 18: C3 vor Therapie - Vergleich Non-Responder (NR, n=5) und Responder (R, n=16)

Box Whisker-Darstellung: Median (NR):0,96 g/l; Median (R): 0,76g/l

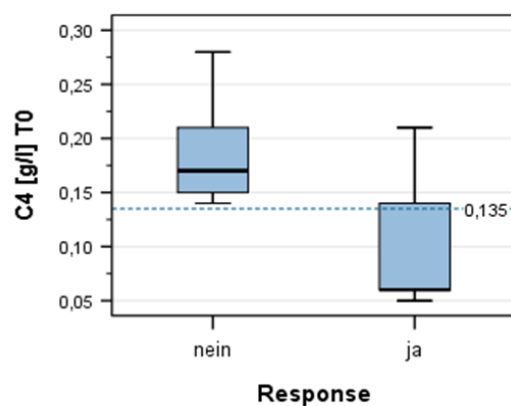


Abbildung 19: C4 vor Therapie - Vergleich Non-Responder (NR, n=5) und Responder (R, n=16)

Box-Whisker-Darstellung: Median (NR): 0,17g/l; Median (R):0,06 g/l

## Ergebnisse

Im Mittel lagen die initialen dsDNA-AK-Werte für die Responder bei 76,7 ( $\pm$  75,6) U/ml, für die Non-Responder bei 51,92 ( $\pm$  88,8) U/ml. Für den Komplementfaktor C3 ergab sich im Mittel ein Ausgangswert von 0,74 ( $\pm$  0,18) g/l bei den Respondern und 0,99 ( $\pm$  0,17) g/l bei den Non-Respondern. Der mittlere Ausgangswert des Komplementfaktors C4 betrug für die Gruppe der Responder 0,10 ( $\pm$  0,05) g/l und für die Non-Responder 0,19 ( $\pm$  0,06) g/l.

Ein signifikanter Unterschied zwischen Non-Respondern und Respondern ergab sich nur für C3 und C4 ( $p < 0,05$ ). Für beide Parameter ließ sich zeigen, dass niedrige Ausgangswerte, die als Indikator eines Komplementverbrauches und damit eines aktiven Lupus angesehen werden, ein späteres Ansprechen auf die Therapie vorhersagten.

Anhand von Receiver-Operating-Characteristic (ROC)-Kurven wurden für diese beiden Parameter Cut-Off Werte ermittelt, welche hinsichtlich des Therapieansprechens die Non-Responder von den Respondern trennen. Der Cut-Off Wert für C3 lag bei 0,935 g/l (maximale Sensitivität 87,5% bei gleichzeitig höchster Spezifität von 80%), für C4 lag dieser bei 0,135 g/l (maximale Sensitivität 75% bei gleichzeitig höchster Spezifität von 100%). Beide Trennwerte lagen somit im jeweiligen unteren Referenzbereich.

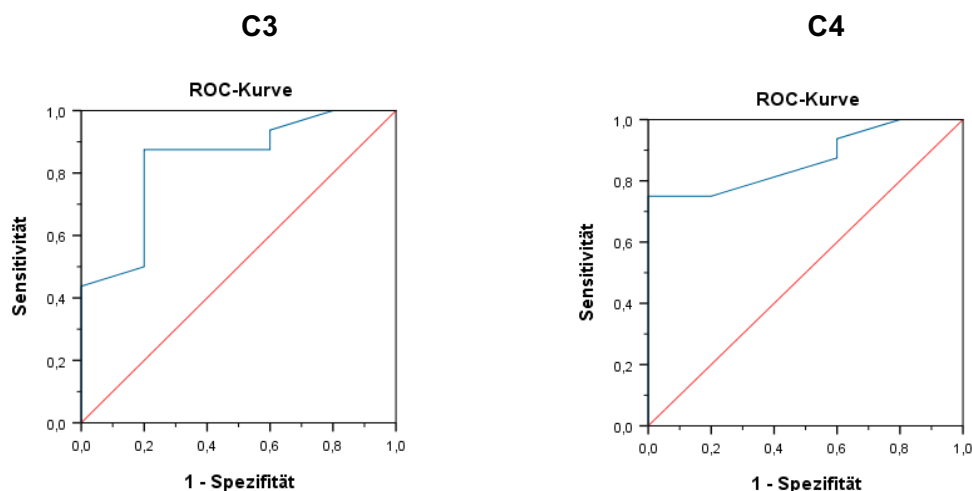


Abbildung 20: ROC-Kurven für C3 (blau) und C4 (blau).

Die rote Diagonale stellt jeweils die ROC-Kurve für einen uninformativen Test dar (Ergebnis des reinen Zufalls).

## **4. Diskussion**

Der systemische Lupus gilt als Prototyp einer Autoimmunerkrankung. Dies ist zum einen der Tatsache geschuldet, dass der SLE durch das Auftreten einer Reihe charakteristischer Autoimmunphänomene gekennzeichnet ist, und zum anderen dem Umstand, dass die für die Krankheit typischen Autoantikörper und Immunkomplexe nicht nur als labormedizinische Marker gut fassbar sind, sondern dass auch ihre pathogenetische Bedeutung gut belegt ist.

Wie andere Autoimmunerkrankungen wird der Lupus immundämpfend therapiert. Bemerkenswert ist, dass sich Therapieansätze wie die Gabe des bei rheumatoider Arthritis oder Psoriasis erfolgreichen Methotrexat oder auch die Blockade von proinflammatorischen Zytokinen wie TNF- $\alpha$ , IL-1 oder IL-6 bei SLE sämtlich nicht bewährt haben. Auch der B-Zell-depletierende Antikörper Rituximab hat in mehreren Studien keine überzeugende Wirkung zeigen können (34,35).

Die Einführung des BLYS-Inhibitors Belimumab als ein ebenfalls B-Zell-gerichteter Antikörper war daher eine Entwicklung von großer Bedeutung. Es handelte sich um das erste zugelassene Biologikum bei Lupus und die erste Zulassung einer Lupusmedikation seit über 50 Jahren.

Trotz einer für die Zulassung durch die FDA (Food and Drug Administration) und durch die EMA (European Medicines Agency) ausreichenden Datenlage ist der Stellenwert von Belimumab im klinischen Alltag nach wie vor umstritten. Der Anteil der von Belimumab profitierenden Patienten wird je nach Expertenstatement zwischen 30% und 80% beziffert (36,37).

Vor diesem Hintergrund verfolgte die hier vorgelegte Arbeit zwei Ziele. Das erste Ziel war es, in einer monozentrischen Kohorte die klinischen und serologischen Effekte von Belimumab nachzuvollziehen. Das zweite Ziel galt der Identifizierung möglicher Prädiktoren für ein Ansprechen auf die Therapie und damit für eine Steigerung der Ansprechrate.

Es wurden 27 Lupus-Patienten der Sektion Rheumatologie der 1. Medizinischen Klinik am UKSH Campus Kiel in die vorliegende Beobachtungsstudie eingeschlossen. Die Patienten konnten im Mittel über 18 Monate (Range: 1-47 Monate) beobachtet werden.

Bezogen auf das an der Klinik betreute Lupuskollektiv von 196 Individuen ergibt sich eine Quote für die Versorgung mit Belimumab in Höhe von 13,8 %. Damit bewegt

## *Diskussion*

sich der Einsatz dieser Substanz 4 Jahre nach ihrer Zulassung in einer Größenordnung, wie sie von anderen entzündlichen rheumatischen Erkrankungen bekannt ist (38).

11 der 27 Patienten blieben über mindestens 18 Monate unter Therapie. Dies entspricht einer Therapieadhärenz von 40%. Sechs Patienten brachen die Therapie vor dem ersten Beobachtungszeitpunkt (T1) ab. Weitere drei fielen vor dem zweiten Beobachtungszeitpunkt (T2) und sieben vor dem letzten Beobachtungszeitpunkt (T3) aus der Studie. Überwiegender Grund für den Therapieabbruch vor T1 war ein unzureichendes Ansprechen (n=3). Weitere Ursachen waren Nebenwirkungen (postinfusioneller Kopfschmerz (n=1), psychische Irritationen (n=1)) sowie ein Todesfall ungeklärter Ursache. Die verstorbene Patientin litt zusätzlich an einem Typ I Diabetes, einer chronischen Bronchitis und einer langjährig bestehenden Depression. Eine ursächliche Verbindung zwischen der Belimumab-Therapie und dem unerwarteten Tod der Patientin wurde von den behandelnden Ärzten nicht vermutet. Sichere Hinweise auf einen Suizid der Patientin hatten nicht vorgelegen. Dennoch sei erwähnt, dass Suizidalität ein klinisch relevantes Thema bei SLE darstellt und sich damit bei Vorliegen eines fraglichen Suizides zumindest prinzipiell die Frage nach dem ursächlichen Einfluss des SLE und der medikamentösen Therapie ergibt. Die Manifestation von Depressionen bei SLE Patienten ist häufig. Laut Literatur treten depressive Symptome bei 17-75% und Suizidgedanken bei etwa 14% der Betroffenen auf (39,40). In den Zulassungsstudien für Belimumab wurden bei 6-7% (Belimumab) versus 4% (Placebo) schwere psychiatrische Ereignisse bzw. Depressionen beschrieben. Zu Suiziden oder Suizidversuchen kam es in keiner der Studiengruppen (28). Zusammenfassend erscheint somit im Nachhinein ein Belimumab-assoziiertes Suizid unwahrscheinlich.

Unerwünschte Arzneimittelwirkungen wie virale und bakterielle Infektionen sowie weitere bereits in der Einleitung erwähnte potentielle Nebenwirkungen wurden in unserer Kohorte nicht beobachtet. Insgesamt gilt Belimumab als besonders gut verträgliches Biologikum (41). Diese Aussage kann im Prinzip bestätigt werden. Zusammenfassend lagen die Abbruchquoten in der Größenordnung anderer bei rheumatischen Erkrankungen eingesetzter Biologika und entsprachen den Beobachtungen des Post-Marketings nach der Zulassung von Belimumab (42). Für die Therapie-adhärenz Population lässt sich mehrheitlich ein Nutzen der Therapie beschreiben. Dieser zeigte sich bei der Betrachtung der Einzelparameter wie auch

## *Diskussion*

der Globalparameter, die für die Beurteilung des Therapieverlaufs herangezogen wurden.

Der wichtigste Globalparameter ist der Aktivitätsindex SLEDAI. Auch die Belimumab-Zulassungs- und Folgestudien bedienten sich dieses zentralen Instruments zur Erfassung der Krankheitsaktivität. Er umfasst insgesamt 24 Kriterien. Die maximal erreichbare Punktzahl beträgt 105 Punkte. Liegt keine Krankheitsaktivität vor, entspricht dies einem Punktwert von null. Die Ergebnisse zeigen einen deutlichen Abfall des Aktivitätsindex über den gesamten Zeitraum. Im Mittel lag dieser vor Beginn der Therapie bei 9,5 ( $\pm$  4,6) Punkten (Spannweite: 2-18) und fiel nach sechs Monaten um 60% auf im Mittel 3,8 ( $\pm$  2,8) Punkte (1-10) ab.

Eine weitere Reduktion auf im Mittel 2,5 ( $\pm$  1,5) Punkte (0-4) konnte nach 18 Monaten beobachtet werden. Ähnlich eindeutige Ergebnisse dokumentierten auch die in den letzten Jahren durchgeführten großen Verlaufsuntersuchungen (43). Als weitere klinische Kriterien wurden Patienten (PtGA)- und Arzturteil (PhGA) erfasst. Auch diese Globalparameter wurden in den Sponsor-gestützten Belimumab-Studien als analoge Skalen zur Erfassung der subjektiven Krankheitsaktivität durch den Patienten und behandelnden Therapeuten eingesetzt. In den Phase III-Zulassungsstudien, wie auch in den post-hoc Analysen und späteren Beobachtungsstudien, wurden PtGA und PhGA mit dem SLEDAI und/oder anderen Aktivitätscores kombiniert, um ein Therapieansprechen besser definieren zu können (sog. SLE-Responder-Index [SRI]).

In unserer Studie zeigten sich sowohl für PtGA als auch für PhGA signifikante Unterschiede zu den Ausgangswerten. Diese Beobachtungen decken sich weitestgehend mit den vorbeschriebenen Ergebnissen, auch wenn in den Studien die Werte für PtGA und PhGA nur als Teil des Responder-Index vorkommen und nicht im Detail dargestellt werden. Die deutsche Observe-Studie, eine multizentrische Postmarketinganalyse (37), dokumentierte für den PhGA nach sechs Monaten eine Reduktion auf etwa 65%, für den PtGA sogar auf 35% des Ausgangswertes. Auch in der von uns durchgeführten Studie wurde eine Reduktion des PhGA auf 65% verzeichnet. Eine Reduktion auf etwa 35% des Ausgangswertes des PtGA hingegen dokumentierten wir erst nach 18 Monaten.

Während sich die klinischen Erfolgsparameter dieser Studie weitgehend gleichsinnig verhielten, zeigte sich bei der Auswertung des SLEDAI ein unerwarteter Anstieg zum Zeitpunkt T2. Dieser relativ hohe und damit einen Krankheitsschub anzeigende Wert

## *Diskussion*

widerspricht nicht nur der davor und danach bestehenden Tendenz zu einer klinischen Besserung, er ist auch diskordant zur Patienten- und Arzteinschätzung zum selben Zeitpunkt. Konkret verzeichneten wir beim SLEDAI einen Anstieg von im Mittel  $3,8 (\pm 2,8)$  (T1) auf  $8,9 (\pm 5,9)$  (T2) Punkte. PtGA und PhGA fielen bei diesen Visiten von  $4,6 (\pm 2,0)$  bzw.  $3,5 (\pm 1,4)$  (T1) auf  $3,7 (\pm 2,5)$  bzw.  $3,5 (\pm 2,0)$  (T2) ab. Nachuntersuchungen der Dokumentation haben ergeben, dass der Anstieg im SLEDAI wesentlich durch die hohen Scores dreier Patienten beeinflusst wurden, bei denen es in diesem Zeitraum zu einem Untersucherwechsel kam. Es fiel auf, dass der Interimsuntersucher den SLEDAI anders als der vorher und nachher untersuchende Therapeut einstufte. Das Besondere an dieser Differenz zwischen den Untersuchern ist im vorliegenden Fall ihre deutliche Ausprägung. Die sogenannte Untersucherübereinstimmung (Interrater-Reliabilität) ist bei Indizes, die auf subjektiven Untersucherurteilen basieren, im Allgemeinen nie vollständig. Sie erreicht bei verschiedenen Indizes zur Aktivität des SLE Werte zwischen ca. 60% und 75% (44). Neben dem abweichenden subjektiven Urteil dürfte die hier vorliegende unterschiedliche Einstufung des SLEDAI durch den Hauptuntersucher und den Interimsuntersucher auch auf das Messinstrument SLEDAI an sich zurückzuführen sein. Dieses listet 24 Manifestationen des SLE auf, denen eine unterschiedliche Wertung zugeordnet wird. So wird z.B. das Vorliegen einer Vaskulitis mit 8 Punkten gewichtet, das Vorliegen einer Pleuritis nur mit 2 Punkten. Zugleich ist aber eine Graduierung der jeweiligen Manifestation nicht vorgesehen, eine Manifestation ist entweder gegeben oder nicht gegeben (Ja/Nein). Entsprechend wurden in der vorliegenden Studie diskrete Hautrötungen als Zeichen einer noch gegebenen Vaskulitis vom Interimsuntersucher mit 8 Punkten bewertet, während die Veränderungen vom Hauptuntersucher als nicht sicher vorliegend eingeschätzt und somit mit 0 Punkten bewertet wurden. Der SLEDAI gilt auf Grund der fehlenden Möglichkeit, die Ausprägung einer Manifestation abgestuft zu beschreiben, als wenig sensitiv für Veränderungen (44). Dennoch wird er derzeit noch in vielen Studien eingesetzt, weil er die wesentlichen Organsysteme erfasst und zudem Vergleiche zwischen verschiedenen Lupus-Studien ermöglicht. Diese Ausführung zur Untersucherabhängigkeit erscheint erforderlich, um die Inkonstanz der klinischen Beurteilung zu verstehen.



## *Diskussion*

Erschwert wurde die Auswertung der von uns erhobenen Daten durch den Umstand, dass die klinische Dokumentation zu den retrospektiv festgelegten Beobachtungszeitpunkten (T1, T2, T3) mitunter lückenhaft war. Diese Tatsache führt in Teilen zu einer verzerrten Abbildung der tatsächlichen Verläufe, spiegelt jedoch die realen Bedingungen der vorliegenden Studie wider.

Insgesamt kann festgehalten werden, dass in der Gesamteinschätzung unter der Therapie mit Belimumab die Krankheitsaktivität deutlich abgesenkt werden konnte. Dies wird auch gestützt durch die Auswertung des Glukokortikoidbedarfs sowie den Verlauf der serologischen Parameter.

Die bei SLE Patienten häufig notwendige längerfristige Einnahme von hochdosierten Glukokortikoiden führt nicht selten zu schwerwiegenden Nebenwirkungen. Eine möglichst frühzeitige Dosisreduktion ist stets anzustreben. Studien belegen, dass Glukokortikoide unter der Therapie mit Belimumab eingespart oder gar abgesetzt werden können (30,45). Dieser Effekt konnte auch in der vorliegenden Arbeit zu allen drei Auswertungszeitpunkten nachgewiesen werden. Über 18 Monate konnte insgesamt eine Reduktion um etwa 40 % verzeichnet werden. Zu allen Beobachtungszeitpunkten lag die eingesetzte Glukokortikoiddosis unter der Cushing-Schwelle (7,5 mg Prednisolon/d). In diesem Bereich ist das Risiko für das Auftreten von schweren Nebenwirkungen deutlich reduziert. Der Glukokortikoid-sparende Effekt von Belimumab wird als eine der Indikationen für den Einsatz dieser Substanz diskutiert (37).

Die Auswertung der serologischen Parameter ergab für die Lupus-spezifischen Marker (dsDNA-Antikörper, C3 und C4) eindeutige und signifikante Ergebnisse über alle Beobachtungszeitpunkte. Die Einzelverläufe der Individuen (vgl. Abb. 9) stellen besonders deutlich den Effekt von Belimumab auf die dsDNA AK-Produktion dar. Hingegen weisen die Verläufe der ANA-Titer sowie die der hämatologischen Parameter nicht auf eine Beeinflussung durch Belimumab hin. Die Wirksamkeit von Benlysta® zeigt sich in der Reduktion der dsDNA-AK und einem Anstieg der Komplementfaktoren C3 und C4. Ein Effekt auf die ANA, Hb und Thrombozytenzahlen ist auch in der vorliegenden Literatur nicht dokumentiert und war somit nach der derzeitigen Studienlage nicht zu erwarten (46).

Bei Betrachtung der Grafik zur Auswertung der CRP-Werte (s. Abb. 12) fallen mehrere Ausreißer auf. Die extremen Ausreißer sind im Wesentlichen zwei Patienten zuzuordnen. Die Ursache der erhöhten Werte kann nicht eindeutig bestimmt werden.

## *Diskussion*

Zwar ist ein erhöhtes CRP für den aktiven SLE beschrieben, insbesondere bei Serositiden und Arthritiden, die Spezifität des CRP als Aktivitätsparameter des SLE gilt aber als gering, insbesondere im Vergleich zu den Autoantikörpern und den Komplementproteinen. Unspezifisch erhöhte CRP-Werte finden sich z.B. bei ausgeprägter Adipositas oder bei chronischer Bronchitis infolge des Nikotinkonsums (47). In diesen Fällen finden sich im Allgemeinen CRP-Werte, die konstant oberhalb der Norm liegen, weil sie nicht durch einen aktiven SLE hervorgerufen wurden und daher auch nicht auf eine Therapie des SLE ansprechen. Eine solche Konstellation könnte auch bei den hier dokumentierten Patienten vorliegen.

Insgesamt bestätigen die klinischen wie die labormedizinischen Parameter dieser Kohortenstudie, dass es sich bei Belimumab um ein wirksames Therapieprinzip handelt. Der Vergleich der vor- und nachtherapeutischen Parameter ließ auch bei einer relativ kleinen Fallzahl signifikante Effekte erkennen.

Hervorgehoben sei, dass die Hinweise auf den therapeutischen Nutzen von Belimumab über die gesamte Beobachtungsdauer hinweg kontinuierlich zunahmen. Diese Beobachtung unterstützt die Einschätzung zahlreicher Anwender (35), dass trotz eines fehlenden Wirkeintritts von Belimumab innerhalb von 6 Monaten eine Behandlungsdauer von bis zu 12 Monaten, im Einzelfall evtl. auch darüber hinaus, durchaus vertretbar ist.

Eine wichtige Ergänzung dieser Beobachtungen ergibt sich aus der Analyse des prädiktiven Wertes einzelner Laborparameter für ein therapeutisches Ansprechen. Indikatoren eines aktiven SLE waren deutlich mit einem Ansprechen auf Belimumab assoziiert. Dies gilt für die dsDNA-Antikörper (Abb. 16), bei denen allerdings die Signifikanz knapp verfehlt wurde, und dies gilt für einen aktiven Komplementverbrauch, sei er durch die Erniedrigung von C3, C4, oder beiden Proteinen angezeigt. Auch diese Resultate stehen im Einklang mit der vorliegenden Literatur. Ihre praktische Bedeutung könnte darin bestehen, die Patientenauswahl vor einer anstehenden Therapie mit Belimumab zu verbessern, somit die Effizienz im Einsatz dieser Substanz zu erhöhen und auf diesem Wege auch Ressourcen zu sparen.

## 5. Zusammenfassung

Gegenstand dieser Arbeit ist die Therapie des SLE mit dem ersten für diese Erkrankung zugelassenen Biologikum, dem monoklonalen Antikörper Belimumab. Das Hauptaugenmerk der Untersuchung richtet sich auf das therapeutische Ansprechen, den Einfluss der Therapiedauer und mögliche prädiktive Faktoren für einen Therapieerfolg.

Als Untersuchungsmaterial dienten alle am UKSH/Campus Kiel betreuten Lupuspatienten, die mindestens einen Zyklus Belimumab erhalten hatten. Als klinische Parameter wurden ein etablierter Aktivitätsindex (SLEDAI), das Patienten- und Arzturnteil auf einer visuellen Analogskala (1-10) sowie die Änderung der Prednisolondosis herangezogen. Zusätzlich wurden 5 immunologische und 2 hämatologische Laborparameter ausgewertet.

Zwischen Dezember 2011 und November 2015 wurden 27 Patienten mit Belimumab behandelt. Bei 14 Patienten konnte die Therapie über 1 Jahr, bei 4 Patienten über 2 Jahre und bei 9 Patienten über 3 Jahre durchgeführt werden.

19 von 27 Patienten, entsprechend 70,4% der Behandelten, konnten bei mindestens einer Visite als Responder klassifiziert werden. In einem Teil der Fälle war eine Therapiedauer von mehr als 12 Monaten erforderlich, um ein relevantes Ansprechen zu erreichen. Als prädiktive Marker für ein positives Ansprechen ließen sich erniedrigte Serumkonzentrationen der Komplementproteine C3 und C4 identifizieren. Die Verträglichkeit der Therapie war sehr gut, speziell schwere Infektionen oder Malignome konnten unter der Therapie mit Belimumab nicht registriert werden. Diese Ergebnisse stehen zunächst im Einklang mit den Zulassungsstudien für Belimumab, in denen ein klinischer Nutzen für diese Substanz aufgezeigt werden konnte. Sie zeigen aber darüber hinaus in zweifacher Hinsicht, dass der Nutzen für dieses Präparat noch größer sein kann, als aus den Zulassungsstudien abzuleiten war. Zum einen wurde in dieser mehrjährigen klinischen Beobachtung demonstriert, dass die Therapie auch ohne klinisches Ansprechen nicht frühzeitig beendet werden sollte, weil sich der Nutzen im Einzelfall auch nach 12 Monaten noch zeigen kann. Zum anderen zeigen überdurchschnittlich hohe Ansprechraten bei Patienten mit aktivem Komplementverbrauch, dass der Einsatz der Substanz bei geeigneter Patientenauswahl optimiert werden kann. Insgesamt kann diese monozentrische Langzeitbeobachtung somit dazu beitragen, den Stellenwert von Belimumab zu unterstreichen und seine Handhabung im klinischen Alltag zu verbessern.

### III. Literaturverzeichnis

1. Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo JL, u. a., Herausgeber. *Harrisons Innere Medizin*. Reg: Register. 19. Auflage. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2016. S.2107-2214
2. Herold G. *Innere Medizin* 2016. Köln: Selbstverl; 2016. S.680-683
3. Uribe AG, McGwin Jr. G, Reveille JD, Alarcón GS. What have we learned from a 10-year experience with the lumina (Lupus in Minorities; Nature vs. nurture) cohort? Where are we heading? *Autoimmunity Reviews*. Juni 2004;3(4):321–9.
4. Chehab G, Fischer-Betz R, Schneider M. Changes in mortality and morbidity in systemic lupus erythematosus. *Zeitschrift für Rheumatologie*. 2011;70(6):480–5.
5. Gottschalk TA, Tsantikos E, Hibbs ML. Pathogenic Inflammation and Its Therapeutic Targeting in Systemic Lupus Erythematosus. *Frontiers in Immunology* [Internet]. 28. Oktober 2015 [zitiert 22. September 2016];6. Verfügbar unter: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fimmu.2015.00550/abstract>
6. Rönnblom L, Alm GV. Systemic lupus erythematosus and the type I interferon system. *Arthritis Research & Therapy*. 2003;5(2):68–75.
7. Günther C, Schmidt F, König N, Lee-Kirsch MA. Type I interferonopathies. *Zeitschrift für Rheumatologie*. 2016;75(2):134–40.
8. Luo S, Wang Y, Zhao M, Lu Q. The important roles of type I interferon and interferon-inducible genes in systemic lupus erythematosus. *Int Immunopharmacol*. November 2016;40:542–9.
9. Crow MK. Type I Interferon in the Pathogenesis of Lupus. *Journal of immunology* (Baltimore, Md : 1950). 15. Juni 2014;192(12):5459–68.
10. Miehle W, Albrecht HJ, Herausgeber. *Rheumatologie in Praxis und Klinik: 631 Tabellen*. 2. völlig neu bearb. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2000. S.909-943
11. Gressner AM, Arndt T, Herausgeber. *Lexikon der medizinischen Laboratoriumsdiagnostik: mit 434 Tabellen*. 2. überarb. Aufl., Berlin: Springer Medizin; 2013. S. 217-221
12. Pan N, Amigues I, Lyman S, Duculan R, Aziz F, Crow MK, u. a. A surge in anti-dsDNA titer predicts a severe lupus flare within six months. *Lupus*. März 2014;23(3):293–8.
13. Hartung K, Seelig H-P. Labordiagnostik der systemischen Autoimmunerkrankungen. *Zeitschrift für Rheumatologie*. 2006;65(8):709–24.
14. Groß U. *Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie: + campus.thieme.de*. 3. vollst. überarb. und aktualisierte Aufl. Stuttgart: Thieme; 2013. S.24-25
15. Mosca M, Tani C, Aringer M, Bombardieri S, Boumpas D, Brey R, u. a. European League Against Rheumatism recommendations for monitoring patients with systemic lupus erythematosus in clinical practice and in observational studies. *Annals of the rheumatic*

diseases. Juli 2010;69(7):1269–74.

16. Pons-Estel GJ, Andreoli L, Scanzi F, Cervera R, Tincani A. The antiphospholipid syndrome in patients with systemic lupus erythematosus. *Journal of Autoimmunity*. Januar 2017;76:10–20.

17. Systemischer Lupus (SLE) [Internet]. [zitiert 1. Oktober 2016]. Verfügbar unter: <http://dgrh.de/qualitaetsmanual5510.html>

18. Zonana-Nacach A, Barr SG, Magder LS, Petri M. Damage in systemic lupus erythematosus and its association with corticosteroids. *Arthritis Rheum*. August 2000;43(8):1801–8.

19. Herdegen T, Böhm R. *Kurzlehrbuch Pharmakologie und Toxikologie: 328 Tabellen*. 2. aktualisierte Aufl. Stuttgart: Thieme; 2010. S.291-294

20. Petri M, Purvey S, Fang H, Magder LS. Predictors of organ damage in systemic lupus erythematosus: the Hopkins Lupus Cohort. *Arthritis Rheum*. Dezember 2012;64(12):4021–8.

21. Apostolopoulos D, Morand EF. It hasn't gone away: the problem of glucocorticoid use in lupus remains. *Rheumatology (Oxford)*. 24. Dezember 2016;

22. Kuhn A, Bonsmann G, Anders H-J, Herzer P, Tenbrock K, Schneider M. Diagnostik und Therapie des systemischen Lupus erythematosus. *Dtsch Arztebl International*. 19. Juni 2015;112(25):423–32.

23. Hoyer BF, Dörner T. Biologics therapy for systemic lupus erythematosus. *Zeitschrift für Rheumatologie*. 2015;74(3):206–14.

24. Stohl W. Therapeutic targeting of the BAFF/APRIL axis in systemic lupus erythematosus. *Expert Opin Ther Targets*. April 2014;18(4):473–89.

25. Roth DA, Thompson A, Tang Y, Hammer AE, Molta CT, Gordon D. Elevated BLyS levels in patients with systemic lupus erythematosus: Associated factors and responses to belimumab. *Lupus*. April 2016;25(4):346–54.

26. DJ Wallace, S Navarra, MA Petri, A Gallacher, M Thomas, R Furie, u. a. Safety profile of belimumab: pooled data from placebo-controlled phase 2 and 3 studies in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 4. Dezember 2012;22(2):144–54.

27. Kamal A, Khamashta M. The efficacy of novel B cell biologics as the future of SLE treatment: A review. *Autoimmunity Reviews*. November 2014;13(11):1094–101.

28. Furie R, Petri M, Zamani O, Cervera R, Wallace DJ, Tegzová D, u. a. A phase III, randomized, placebo-controlled study of belimumab, a monoclonal antibody that inhibits B lymphocyte stimulator, in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. Dezember 2011;63(12):3918–30.

29. Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH, Austin A, u. a. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. *Arthritis & Rheumatism*. Juni 1992;35(6):630–40.

30. Touma Z, Sayani A, Pineau CA, Fortin I, Matsos M, Ecker GA, u. a. Belimumab use, clinical outcomes and glucocorticoid reduction in patients with systemic lupus erythematosus receiving belimumab in clinical practice settings: results from the OBSErve Canada Study. *Rheumatology International* [Internet]. 9. März 2017 [zitiert 12. März 2017]; Verfügbar unter: <http://link.springer.com/10.1007/s00296-017-3682-9>
31. Caliebe A, Hedderich J, Krawczak M. *Methodik des wissenschaftlichen Arbeitens - Vorlesungsskript*. 9. Kiel; 2012.
32. Weiß C. *Basiswissen Medizinische Statistik: mit 20 Tabellen*. 6. überarbeitete Auflage. Berlin Heidelberg: Springer; 2013. S. 68-70
33. Boxplot. In: Wikipedia [Internet]. 2017 [zitiert 20. Februar 2018]. Verfügbar unter: <https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Boxplot&oldid=170750578>
34. JT Merrill, JP Buyon, RA Furie, KM Latinis, C Gordon, H-J Hsieh, u. a. Assessment of flares in lupus patients enrolled in a phase II/III study of rituximab (EXPLORER). *Lupus*. 8. April 2011;20(7):709–16.
35. Merrill JT, Neuwelt CM, Wallace DJ, Shanahan JC, Latinis KM, Oates JC, u. a. Efficacy and Safety of Rituximab in Moderately-to-Severely Active Systemic Lupus Erythematosus: The Randomized, Double-Blind, Phase II/III Systemic Lupus Erythematosus Evaluation of Rituximab Trial. *Arthritis and rheumatism*. Januar 2010;62(1):222–33.
36. Hahn BH. Belimumab for Systemic Lupus Erythematosus. *N Engl J Med*. 17. April 2013;368(16):1528–35.
37. Schwarting A, Schroeder JO, Alexander T, Schmalzing M, Fiehn C, Specker C, u. a. First Real-World Insights into Belimumab Use and Outcomes in Routine Clinical Care of Systemic Lupus Erythematosus in Germany: Results from the OBSErve Germany Study. *Rheumatol Ther*. Dezember 2016;3(2):271–90.
38. Versorgungsforschung | DRFZ [Internet]. [zitiert 5. März 2018]. Verfügbar unter: <http://www.drfz.de/versorgungsforschung/>
39. L Palagini, M Mosca, C Tani, A Gemignani, M Mauri, S Bombardieri. Depression and systemic lupus erythematosus: a systematic review. *Lupus*. 20. Februar 2013;22(5):409–16.
40. Mok CC, Chan KL, Cheung EFC, Yip PSF. Suicidal ideation in patients with systemic lupus erythematosus: incidence and risk factors. *Rheumatology (Oxford)*. April 2014;53(4):714–21.
41. Iaccarino L, Andreoli L, Bocci EB, Bortoluzzi A, Ceccarelli F, Conti F, u. a. Clinical predictors of response and discontinuation of belimumab in patients with systemic lupus erythematosus in real life setting. Results of a large, multicentric, nationwide study. *Journal of Autoimmunity*. 1. Januar 2018;86:1–8.
42. Ginzler EM, Wallace DJ, Merrill JT, Furie RA, Stohl W, Chatham WW, u. a. Disease Control and Safety of Belimumab Plus Standard Therapy Over 7 Years in Patients with

- Systemic Lupus Erythematosus. *The Journal of Rheumatology*. 1. Februar 2014;41(2):300–9.
43. Guerreiro Castro S, Isenberg DA. Belimumab in systemic lupus erythematosus (SLE): evidence-to-date and clinical usefulness. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*. März 2017;9(3):75–85.
44. Petri M, Orbai A-M, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, u. a. Derivation and Validation of Systemic Lupus International Collaborating Clinics Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis and rheumatism*. August 2012;64(8):2677–86.
45. Collins CE, Dall’Era M, Kan H, Macahilig C, Molta C, Koscielny V, u. a. Response to belimumab among patients with systemic lupus erythematosus in clinical practice settings: 24-month results from the OBSERVE study in the USA. *Lupus Science & Medicine*. 2016;3(1):e000118.
46. Manzi S, Sánchez-Guerrero J, Merrill JT, Furie R, Gladman D, Navarra SV, u. a. Effects of belimumab, a B lymphocyte stimulator-specific inhibitor, on disease activity across multiple organ domains in patients with systemic lupus erythematosus: combined results from two phase III trials. *Annals of the Rheumatic Diseases*. November 2012;71(11):1833–8.
47. Kopp HP, Kopp CW, Festa A, Krzyzanowska K, Kriwanek S, Minar E, u. a. Impact of weight loss on inflammatory proteins and their association with the insulin resistance syndrome in morbidly obese patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1. Juni 2003;23(6):1042–7.

## Anhang

Tabelle 5: SLEDAI (gekürzt) nach der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie e.V.

	Kriterium	Definition	Punkte
1.	Anfall	Beginn vor kurzem, metabolische oder medikamentöse Ursachen müssen ausgeschlossen werden	8
2.	Psychose		8
3.	Psychoorganisches Syndrom		8
4.	Sehstörung	retinale Veränderungen	8
5.	Hirnnervenstörung	neu beginnende sensorische oder motorische Neuropathie	8
6.	Lupus-Kopfschmerz	schwerer, anhaltender Kopfschmerz; kann migräneartig sein, darf aber nicht auf Analgetika ansprechen	8
7.	Zerebrovaskulärer Insult	neu beginnend; Ausschluss einer Arteriosklerose	8
8.	Vaskulitis	Ulzeration; Gangrän; schmerzhafte Fingerknötchen; periungualer Infarkt; Splitterblutungen oder Nachweis einer Vaskulitis durch Biopsie oder Angiogramm	8
9.	Arthritis	mehr als 2 Gelenke mit Schmerz und Entzündungszeichen	4
10.	Myositis	Schwäche oder Schmerzen proximaler Muskeln, einhergehend mit erhöhter Kreatin-Phosphokinase oder Aldolase oder Nachweis einer Myositis mittels Veränderungen im EMG oder Biopsie	4
11.	Harnzylinder	granuläre Zylinder oder Erythrozyten-Zylinder	4
12.	Hämaturie	> 5 Erythrozyten im Mikroskopierfeld bei 400facher Vergrößerung	4
13.	Proteinurie	> 0,5g/24 Stunden; neu beginnend oder Steigerung in jüngster Zeit um mehr als 0,5g/24 Stunden	4
14.	Pyurie	> 5 Leukozyten im Mikroskopierfeld bei 400facher Vergrößerung; Ausschluss einer Infektion	4
15.	Erythem	Neubeginn oder erneutes Auftreten eines Erythems	2
16.	Alopezie	Neubeginn oder erneutes Auftreten von pathologischem Haarausfall, diffus oder als Alopezia areata	2
17.	Schleimhaut-Ulzera	Neubeginn oder erneutes Auftreten oraler oder nasaler Ulzerationen	2
18.	Pleuritis	pleuritischer Schmerz im Brustkorb, mit Pleurareiben oder Erguss oder Verdickung der Pleura	2
19.	Perikarditis	perikardialer Schmerz mit mindestens einem der folgenden Merkmale: Reiben, Erguss oder Bestätigung durch EKG oder Echokardiogramm	2
20.	Komplementverminderung	verringerte Werte von CH50, C3 oder C4	2
21.	Erhöhte dsDNA-Antikörper	im Labortest oberhalb des Normbereichs	2
22.	Fieber	> 38°C	1
23.	Thrombozytopenie	< 100.000 Thrombozyten pro µl	1
24.	Leukopenie	< 3000 Leukozyten pro µl	1





**POPGEN-STUDIE:  
Genetische Ursachen komplexer entzündlicher  
Erkrankungen**

**UNIVERSITÄTSKLINIKUM  
Schleswig-Holstein**

Campus Kiel  
Institut für Klinische Molekularbiologie  
Klinik für Innere Medizin I  
Direktor: Prof. Dr. Stefan Schreiber  
Exzellenzzentrum Entzündungsmedizin  
Institut für Epidemiologie  
Biobank **popgen**  
Arnold-Heller-Str. 3, Haus 1  
24105 Kiel  
Studienzentrale: 0431/500-30212  
[info@popgen.de](mailto:info@popgen.de)  
[www.popgen.de](http://www.popgen.de)

**STUDIENAUFKLÄRUNG (Kopie zum Verbleib bei Ihnen)**

Wir führen am Institut für Klinische Molekularbiologie gemeinsam mit dem Exzellenzzentrum Entzündungsmedizin und der Biobank **popgen** am Universitätsklinikums Schleswig-Holstein in Kiel ein Forschungsvorhaben zur genetischen Veranlagung von weit verbreiteten Krankheiten durch. Untersucht werden dabei entzündliche Krankheitsbilder, die miteinander zusammenhängen. Dies sind u.a. *chronisch entzündliche Darmerkrankungen wie Morbus Crohn und Colitis Ulcerosa, Sarcoidosis, Psoriasis (Schuppenflechte), Rheumatoide Arthritis, Autoimmunerkrankungen der Haut, Erkrankungen der Herzkranzgefäße (KHK), entzündliche Erkrankungen des Zahnfleisches und des Zahnhalteapparates* und einige *neurologische Erkrankungen wie Krampfleiden und Morbus Parkinson (Schüttellähmung)*. Die Biobank **popgen** besteht bereits seit 2003 am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein in Kiel und hat seitdem mehr als 75.000 Studienteilnehmer gewinnen können. **popgen** sammelt biologische Proben für epidemiologische sowie krankheitsbezogene Studien. Die erhobenen und aus den Proben gewonnenen Daten wurden bisher in über 250 Forschungsprojekten in vielen verschiedenen Wissensbereichen der Klinischen Genomforschung genutzt. Die Internetseite [www.popgen.de](http://www.popgen.de) und die **popgen**-Informationsbroschüre geben den jeweils aktuellen Überblick über die untersuchten Krankheiten. Ein Exemplar der aktuellen Informationsbroschüre erhalten Sie zusammen mit dieser Patientenaufklärung. Um unsere Forschungserkenntnisse überprüfen und weiterentwickeln zu können, bitten wir Sie um die Einwilligung, Ihnen

**ca. 40 ml peripher venöses Blut**

entnehmen zu dürfen und die daran gewonnenen genetischen Daten ebenso wie zusätzliche Angaben zu Ihrem Krankheitsgeschehen ausschließlich zu den oben genannten Forschungszwecken zu speichern. In einigen Fällen ist eine wiederholte Blutentnahme (bis zu 7x) über einen Zeitraum von ca. 2 Jahre erforderlich, um Einflussfaktoren auf Erkrankungsverläufe untersuchen zu können. Wir beabsichtigen, aus Ihrem Blut DNA (Erbsubstanz) zu gewinnen, um die genetische Veranlagung zu einer der oben genannten Erkrankungen zu überprüfen. Die dafür verantwortlichen Gene können sich überall im

gesamten Erbgut befinden. Dabei werden sowohl bestimmte genetische Merkmale als u.U. auch Ihr gesamtes Erbgut untersucht und in diesem Fall Ihre komplette DNA-Sequenz ermittelt. Da jedoch die medizinische Bedeutung der allermeisten dabei zu Tage tretenden genetischen Eigenschaften derzeit noch völlig unklar ist, wird sich daraus kein unmittelbarer persönlicher Nutzen für Sie ergeben. Zu den untersuchten Merkmalen gehören auch chemische Veränderungen (Methylierungen), die durch Umwelteinflüsse und den normalen Alterungsprozeß der DNA ausgelöst werden können. Da Ihre Probe für mindestens 20 Jahre zu Forschungszwecken verwendet werden soll, steht zum momentanen Zeitpunkt noch nicht fest, um welche Merkmale es sich dabei im Einzelnen handeln wird. Weiterhin wird in vielen Fällen auch eine Serumprobe aus dem Blut hergestellt, in der biochemische Messungen durchgeführt werden sollen.

#### Risiken der Blutentnahme:

Wie zu einer Routineblutentnahme werden Ihnen unter sterilen Bedingungen 40 ml Blut aus einer peripheren Vene entnommen. Dazu ist die Punktion einer Vene notwendig. Die Risiken einer Blutentnahme sind: Lokale Infektion ("bakterielle Entzündung, Vereiterung"), Fehlpunktion der Vene und anschließende Ausbildung eines Blutergusses (Hämatom), sehr selten Fehlpunktion einer Schlagader, Schädigung eines Hautnervs mit der möglichen Folge dauerhafter Schmerzen und/oder bleibenden Funktionseinschränkungen. Alle oben genannten Risiken sind bei sachgemäßer Durchführung extrem selten.

Außerdem führen wir molekulargenetische und biochemische Untersuchungen an Stuhlproben durch. Die Zusammensetzung der Darmflora als wichtiger Bestandteil des menschlichen Organismus kann bei verschiedenen entzündlichen Erkrankungen des Darmes, aber auch systemischen Erkrankungen verändert sein. Zudem wurden bereits unterschiedliche Proteine identifiziert, die als diagnostische Marker für entzündliche Darmerkrankungen bestimmt werden können. Mit der Bereitstellung von insgesamt

#### **ca. 2 g Stuhl (1 gut gefülltes Stuhlprobenröhrchen)**

helfen Sie uns, bestimmte Merkmale der Darmflora und diagnostische Marker im Hinblick auf mögliche Krankheitsfrüherkennung und Prävention, aber auch Therapie zu untersuchen. In einigen Fällen ist eine wiederholte Stuhlprobennahme (bis zu 7x) über einen Zeitraum von ca. 2 Jahre erforderlich, um Einflussfaktoren auf Erkrankungsverläufe untersuchen zu können.

#### Speicherung von Daten:

Ihre persönlichen Daten (Name, Vorname, Adresse, Geburtsdatum) werden getrennt von den Probanden gespeichert. Die Proben werden durch eine fortlaufende Strichkodierung pseudonymisiert. Die mit der Probe verbundenen Informationen (d.h. Angaben zu Ihrer Erkrankung, Genotypen) sind nur über diese Kodierung abrufbar. Um unsere Forschungen durchführen zu können, bitten wir Sie auch um die Genehmigung, bei Ihrem Arzt vorhandene Patientenunterlagen einsehen zu dürfen und forschungsrelevante Daten zum Krankheitsverlauf in die Forschungsdatenbank zu übernehmen. Für diese spezielle Situation entbinden Sie den behandelnden Arzt gegenüber verantwortlichen ärztlichen

Mitarbeitern des Forschungsvorhabens von seiner Schweigepflicht. Um eine Doppeleingabe klinischer Daten zu vermeiden, werden wir diejenigen Daten zum Krankheitsverlauf, die wir für die Forschung brauchen, aus dem klinischen Informationssystem automatisch kopieren. Bei diesem Vorgang werden die klinischen Daten und die Forschungsdaten streng getrennt. Es handelt sich um eine elektronische Kopie, die früher über Papierfragebögen und eine erneute Eingabe abgewickelt wurde.

#### Weitergabe von Daten:

Auf die Daten haben nur autorisierte Mitarbeiter des Forschungsprojektes Zugriff. Da das Projekt unter ärztlicher Leitung steht, unterliegen alle Mitarbeiter der ärztlichen Schweigepflicht. Eine Weitergabe Ihrer Daten an unberechtigte Dritte (insbesondere Arbeitgeber, Versicherungen) ist ausgeschlossen. Die Weitergabe von Proben und Informationen an wissenschaftliche Kooperationspartner erfolgt ausschließlich in anonymisierter Form, d.h. ohne Angaben zu Ihrer Person. Bei Beendigung der Forschungsaktivitäten (frühestens nach 20 Jahren) werden die Proben und die dazu gehörenden Daten vernichtet. Das Konzept zur Sammlung und Speicherung aller Daten wurde vom Unabhängigen Landeszentrum für Datenschutz (AZ: LD4-16.1/03.001) und der Medizinischen Ethikkommission der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (AZ: A156/03) geprüft und positiv bewertet. Auf Ihren Wunsch erhalten Sie gerne eine Kopie mit ausführlicher Darstellung des Datenmanagements bei **popgen**.

Im Rahmen dieser Untersuchungen wird eine Vielzahl von genetischen Merkmalen getestet. Der Zweck der Untersuchungen ist es, auf Basis genetischer Forschungserkenntnisse eine Risikoabschätzung für bestimmte Erkrankungen in der „Durchschnittsbevölkerung“ zu erstellen. Dieses schließt eine persönliche Risikobewertung nicht ein. Es ist nicht zu erwarten, dass sich durch die Untersuchungen persönlichkeitsrelevante Erkenntnisse ergeben. Die Herausgabe einzelner persönlicher genetischer Forschungsergebnisse ist aus methodischen Gründen nicht möglich. **Die Daten dienen nur Forschungszwecken. Sie liefern zum aktuellen Zeitpunkt nur in seltenen Fällen Informationen, die für Ihre persönliche Diagnose oder Behandlung medizinisch verwertbar wären.** Von diesen Forschungsdaten muss angenommen werden, dass sie nur unvollständig sind und nach dem aktuellen Stand der Wissenschaft schon bald wieder überholt sein können.

#### Veröffentlichung von Daten:

Es ist möglich, dass Ihre anonymisierten Forschungsdaten inkl. der kompletten DNA-Sequenz zusammen mit weiteren Gesundheitsdaten in wissenschaftlichen Zeitschriften, die einem Fachpublikum auch über das Internet zugänglich sind, veröffentlicht werden. Diese Forschungsdaten werden in anonymisierter Form, d.h. ohne eine Verbindung zu identifizierenden Daten zur Verfügung gestellt. Genetische Daten lassen Rückschlüsse auf die genetischen Eigenschaften enger Blutsverwandter zu. Vollgeschwister weisen im Durchschnitt 50% derselben genetischen Eigenschaften auf, eineiige Zwillinge nahezu 100%. Wir empfehlen Ihnen daher im Falle einer Zustimmung zur Veröffentlichung Ihrer Daten, die damit verbundenen Risiken mit Ihrer Familie und einem Arzt Ihres Vertrauens zu besprechen. Falls Sie als eineiiger Zwilling geboren sind, sollte auch Ihr noch lebender Zwilling der Veröffentlichung zustimmen.

Im Folgenden finden Sie eine Auswahl denkbarer Risiken, die sich für Sie und Ihre Familie aus der Veröffentlichung Ihrer genetischen Daten ergeben könnten:

- Ihre Daten könnten - trotz der strikten Trennung der Forschungsdaten von Ihren identifizierenden Daten (Name, Adresse, Geburtsdatum) - benutzt werden, um deren Identität zu entschlüsseln, etwa durch Vergleiche mit einer anderen identifizierbaren DNA-Probe von Ihnen.
- Personen mit ausreichendem Fachwissen, denen außerdem die hierfür notwendigen technischen Möglichkeiten zur Verfügung stehen, könnten dann Ihre DNA-Sequenz verwenden, um z.B.:
  - eine Vaterschaft oder andere Verwandtschaftsbeziehungen abzuleiten,
  - statistische Befunde herzuleiten, welche Einfluss auf Anstellung oder/und (Kranken-) Versicherung haben könnten,
  - Verwandtschaftsbeziehungen nachzuweisen, die eine Nähe zu Straftätern, belastenden Zeugen oder andere möglicherweise nachteilige Beziehungen herstellen,
  - synthetisch eine identische DNA-Sequenz auf Basis der veröffentlichten Sequenz herzustellen, um diese zur Konstruktion einer falschen Identität (z.B. durch Zurücklassen an einem Tatort) zu nutzen,
  - genetische Prädispositionen für Erkrankungen aufzudecken, sowohl für solche, die zum gegenwärtigen Zeitpunkt bereits therapierbar sind, als auch für solche, für die es noch keine Therapien gibt und
  - Ihre veröffentlichte DNA-Sequenz zu verändern, so dass Sie oder andere Personen falsche Schlüsse aus der Information ziehen.
- Wenn Sie bereits genetische Daten in einem vertraulichen Zusammenhang - etwa für eine andere Studie - zur Verfügung gestellt haben oder dieses in Zukunft planen, könnten Ihre veröffentlichten Daten benutzt werden, um Sie als Teilnehmer der vertraulichen Studie zu identifizieren. Dies bedeutet, dass jede Information, die Sie in diesem speziellen vertraulichen Kontext gegeben haben, möglicherweise öffentlich bekannt werden könnte.
- Durch zukünftige wissenschaftliche Entwicklungen könnte Ihre genetische Information eine Bedeutung erlangen, deren Reichweite heute noch nicht absehbar ist.

#### Patentrechte

Es kann sein, dass im Rahmen zukünftiger Forschungsergebnisse Patente entstehen, die auf Erkenntnissen basieren, die aus Ihren Proben gewonnen wurden. Solche Patente sind die Voraussetzung für die Entwicklung neuer Medikamente. In diesem Fall besteht kein individueller Patentanspruch, basierend auf Ihrem individuellen biologischen oder genetischen Material.

#### Widerruf

**Die Teilnahme an diesen wissenschaftlichen Untersuchungen ist absolut freiwillig.** Solange Ihre persönlichen Daten nicht gelöscht sind, kann Ihre Zustimmung jederzeit widerrufen werden. Daraus entstehen Ihnen keinerlei Nachteile. Gegebenenfalls bereits entnommene Proben werden dann unverzüglich vernichtet, und Ihre Daten werden umgehend gelöscht. Einen etwaigen Widerruf Ihrer Zustimmung richten Sie bitte schriftlich an die Projektleitung **popgen**, Institut für Epidemiologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Arnold-Heller-Str. 3, Haus 1, D-24105 Kiel.

Weitere Fragen

Wünschen Sie ein weitergehendes, ausführliches Arztgespräch, wenden Sie sich bitte zur Terminabsprache an die **popgen**-Studienzentrale unter 0431/500-30212.

Verantwortliche ärztliche Leitung  
Prof. Dr. med. Johann O. Schröder  
PD Dr. med. Susanna Nikolaus

Admin. Projektleitung popgen  
Dr. Gunnar Jacobs

## EINWILLIGUNGSERKLÄRUNG

Name:	_____
Vorname:	_____
ggfs. Geburtsname:	_____
Geburtsdatum:	_____ (tt.mm.jjjj)
Straße:	_____
PLZ Wohnort:	_____
Geburtsort:	_____
Geburtsland:	_____

Bitte lesen Sie folgenden Text aufmerksam und unterschreiben Sie bitte anschließend am Ende der Seite. Sollten einzelne Passagen nicht zu treffen, streichen Sie diese bitte.

- Ich habe die Studienaufklärung zu dieser Einwilligungserklärung erhalten, und mir wurde eine Kopie beider Dokumente zum Verbleib bei mir ausgehändigt. Ich habe beide Dokumente gelesen und verstanden. Ich wurde ausführlich über das Ziel und den Verlauf der Studie, Chancen und Risiken meiner Teilnahme und meine Rechte und Pflichten in diesem Zusammenhang aufgeklärt.
- Ich nehme an der Studie: „*Genetische Ursachen komplexer entzündlicher Erkrankungen*“ teil.
- Ich willige in die Entnahme von 40 ml Blut und die Speicherung der in diesem Zusammenhang gewonnenen Daten ein, die ggf. auch bei wiederholten Besuchen erfolgt. Außerdem stelle ich ca. 2 g Stuhl zu den oben genannten Forschungszwecken zur Verfügung. Das Eigentum an diesem Material geht damit an das Universitätsklinikum Schleswig-Holstein über.
- Ich erteile die Genehmigung zur Einsicht in vorhandene Patientenunterlagen des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel durch den/die verantwortliche Studienarzt/-ärztin.
- **Ich stimme der Erhebung, Verarbeitung, Speicherung und Übermittlung der in diesem Zusammenhang gewonnenen Daten bei der Biobank popgen zu. Ich willige ein, dass meine anonymisierten oder pseudonymisierten Materialien und Daten allgemein zum Zwecke der medizinischen Forschung genutzt werden können. Ich bin mir darüber klar, dass meine Materialien und Daten damit für viele verschiedene medizinische Forschungszwecke verwendet werden dürfen.**
- Ich erteile die Genehmigung zur Weitergabe meiner anonymisierten genetischen und medizinischen Daten an wissenschaftliche Kooperationspartner der Medizinischen Klinik I/Biobank **popgen**.
- Ich erteile die Genehmigung zur Veröffentlichung meiner anonymisierten genetischen und medizinischen Daten zu wissenschaftlichen Zwecken.

Ich hatte ausreichend Zeit und Gelegenheit zur Entscheidung. Mir ist bekannt, dass durch eine Nicht-Teilnahme keinerlei Nachteile für mich entstehen können. Ich weiß, dass ich meine Zustimmung jederzeit widerrufen kann, ohne dass mir daraus Nachteile entstehen. Eventuelle zusätzliche Fragen sind mir ausreichend beantwortet worden, denn ich hatte die Gelegenheit, mit einem/-r Arzt/Ärztin alle wichtigen Fragen zu diskutieren.

Kiel, den ..... 2017

Unterschrift: .....

Aufklärende/-r Ärztin/Arzt: .....

Unterschrift aufklärende/r Ärztin/Arzt: .....

**Bitte beachten Sie auch die folgende Seite!**

Diese Studie wird in Zukunft fortgesetzt werden. Um Sie erneut kontaktieren zu können, werden Ihr Name und Ihre Adresse selbstverständlich getrennt von Ihren persönlichen Forschungsdaten gespeichert.

- Ja, ich stimme einer erneuten Kontaktierung und der datenschutzgerechten Speicherung meiner Kontaktdaten zu.

Wünschen Sie auch Kontakt per E-Mail, geben Sie bitte Ihre E-Mail-Adresse an:

.....

- Nein, ich möchte nicht wieder kontaktiert werden.

Haben Sie Fragen zur erneuten Kontaktierung, wenden Sie sich bitte an das **popgen**-Studienbüro (Tel.: 0431/500-30212).

Gerne können Sie uns auch eine E-mail senden an: [info@popgen.de](mailto:info@popgen.de).

## IV. Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Johann Oltmann Schröder, ehemaliger Leiter der Sektion für Rheumatologie des UKSH Kiel, danke ich herzlich für die Ermöglichung dieser Arbeit, die ausgezeichnete fachliche Unterstützung sowie die sehr engagierte Betreuung.

Den Mitarbeitern der rheumatologischen Abteilung, insbesondere Frau Prof. Dr. Bimba Franziska Hoyer, PD Dr. Rainald Zeuner, Andrea Steinbach und Meike Zahnen danke ich sehr für die vielen Hilfestellungen, wertvollen Anregungen und die offene Aufnahme ins Team. Die freundliche und motivierende Atmosphäre habe ich sehr geschätzt.

Der Biobank *popgen*, unter der Leitung von Dr. Gunnar Jacobs, danke ich für die Bereitstellung der RNA- und Serumproben. Ebenso danke ich Jana Eicke-Metzenthin, leitende MTA des Zentrallabors des UKSH Kiel, für die Zurverfügungstellung von Bildmaterial zur Autoimmundiagnostik.

Für ihre Hilfe bei der statistischen Auswertung danke ich Ulrike von Hehn.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, meinen Geschwistern Franziska und Lucas, sowie Catharina, die mich auf meinem langen Ausbildungsweg begleitet haben, immer hinter mir standen und mich unermüdlich unterstützt haben.

Martin und unserem Sohn Michel danke ich von Herzen für so manche Aufheiterung, die Ermutigungen und den liebevollen Rückhalt.



