

Aus der Klinik für Innere Medizin II mit den Schwerpunkten Hämatologie und Onkologie
(Direktorin: Prof. Dr. med. Claudia Baldus)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Untersuchung Freier Leichtketten
und Leichtketten-spezifischer Antikörper Konzentrationen als möglicher
Diagnostikparameter bei Patienten mit transplantationsassoziierten lymphoproliferativen
Erkrankungen

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

vorgelegt von
Annemarie Scheer, geb. Schult
aus Rostock

Kiel 2020

1. Berichterstatter/in: Prof. Dr. Ralf Ulrich Trappe

2. Berichterstatter/in: Prof. Dr. med. Christiane Pott

Tag der mündlichen Prüfung: 28.04.2022

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 12.01.2022

gez.: Prof. Dr. Franziska Theilig (Vorsitzende/r der Prüfungskommission)

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
1.1 PTLD	1
1.1.1 Epidemiologie	2
1.1.2 Risikofaktoren	2
1.1.3 Histologische Klassifikation und Stadieneinteilung	4
1.1.4 Klinik.....	7
1.1.5 Diagnostik und Prävention	8
1.1.6 Therapie.....	8
1.1.7 Prognose	9
1.2 Freie Leichtketten und Leichtkettenspezifische Immunglobuline.....	10
1.2.1 Aufbau und Stoffwechsel der Freien Leichtketten.....	10
1.2.2 Leichtketten-spezifischer Antikörper	12
1.2.3 Klinische Bedeutung FLK (Freelite® Assay) und HLC (Hevylite® Assay).....	13
1.3 PTLD und FLK/HLC aktueller Wissenstand zur Thematik.....	14
1.4 Ziel der Arbeit	15
2. Methoden und Material.....	16
2.1 Patientenkollektiv	16
2.2 Datenerhebung.....	16
2.3 Labordiagnostische Untersuchungen.....	17
2.3.1 Entwicklung des Freie Leichtketten Assays (Freelite®).....	17
2.3.2 Entwicklung der Leichtketten-spezifischen Immunglobulin Assays (Hevylite®).....	18
2.4 Geräte und Material	19
2.5 Referenzwerte FLK und Leichtketten-spezifische Immunglobuline.....	19
2.6 Statistik	20
3. Ergebnisse	22
3.1 Patientenkollektive	22
3.2 Freie Leichtketten	23

3.2.1	Polyklonale Veränderungen der FLK	24
3.2.2	Monoklonale Veränderungen der FLK	27
3.2.3	Kombination aus polyklonalen und monoklonalen Veränderungen	28
3.3	Leichtketten-spezifische Immunglobuline	28
3.3.1	Polyklonale Veränderungen der Leichtketten-spezifischen Immunglobuline ...	29
3.3.2	Monoklonale Veränderungen der Leichtketten-spezifischen Immunglobuline .	30
3.4	Therapie	30
3.4.1	Komplette Remission	31
3.4.2	SD/ PD Gruppe.....	32
3.4.3	Vergleich CR-Gruppe mit PD/SD-Gruppe.....	32
3.4.4	Therapieverlauf	33
4.	Diskussion.....	36
4.1	Freie Leichtketten bei Erstdiagnose	36
4.2	Leichtketten-spezifische Immunglobuline zum Zeitpunkt der Diagnose.....	39
4.3	Verlaufsparemeter	39
4.4	Ausblick.....	40
5.	Zusammenfassung.....	42
6.	Literaturverzeichnis	43
7.	Anhang.....	54
7.1	Tabellenverzeichnis	54
7.2	Abbildungsverzeichnis	55
7.3	Abkürzungsverzeichnis	56
8.	Danksagung.....	58

1. Einleitung

2017 wurden laut der deutschen Stiftung für Organtransplantation (DSO) 729 Organe in Deutschland transplantiert [1]. Mehr als 10.000 Menschen stehen aktuell auf der Warteliste. Die Transplantation ist dabei oft die letzte Möglichkeit um das Leben des Patienten zu retten. Allerdings ist die Transplantation weder als Heilung noch als Beendigung der Krankheitsgeschichte anzusehen. Denn um eine Abstoßung des Organs zu verhindern, ist eine lebenslange Immunsuppression notwendig. Durch die Einführung der neueren Immunsuppressiva haben sich die Überlebensraten nach solider Organtransplantation (SOT) deutlich verbessert. Damit müssen aber auch eine Reihe an Komplikationen in Kauf genommen werden. Durch die Herunterregulierung des Immunsystems ist sowohl das Risiko für Infektionen als auch für Tumorerkrankungen erhöht. Zusammen mit der Abstoßung bzw. dem Transplantatversagen stellen diese zwei Nebenwirkungen die Haupttodesursachen nach der Transplantation dar [2].

Transplantierte Patienten haben etwa ein zwei bis vierfach erhöhtes Risiko an Krebs zu erkranken im Vergleich zur Normalbevölkerung [3–5]. Allerdings ist das Risiko von mehreren Faktoren wie Alter, Dosis der Immunsuppression und dem transplantierten Organ abhängig [6]. So ist z.B. das Risiko nach einer Lungentransplantation am höchsten [6]. Auffällig dabei ist, dass nicht alle Krebsentitäten gleichermaßen vorkommen [4, 3], sondern vor allem diejenigen mit einer viralen Genese wie z.B. das Kaposi Sarkom (Herpes Virus 8) oder Hodgkin und Non-Hodgkin Lymphome (Epstein Barr Virus [EBV]) [5]. Am häufigsten treten Hauttumore auf - zu über 90% von Plattenepithel- und Basalzellkarzinome - gefolgt von den sogenannten Posttransplantationslymphomen (PTLD) [7, 8].

1.1 PTLD

1968 wurde PTLD erstmalig bei zwei nierentransplantierten Patienten beschrieben mit „Reticulum Cell Sarcoma“ [9]. Heute, 50 Jahre später, ist bekannt, dass die zu den Lymphomen gehörenden PTLD eine sowohl klinisch als auch histologisch heterogene Gruppe von Erkrankungen darstellt, die neben Ihrer lymphatischen Genese als Gemeinsamkeit die Assoziation zur soliden Organ- oder Stammzelltransplantation aufweist. In dieser Dissertation soll sich nur auf PTLD nach SOT konzentriert werden.

1.1.1 Epidemiologie

Die Zahlen, wie hoch das Risiko an PTLD zu erkranken ist, schwanken in der Literatur sehr, da es eine seltene Erkrankung ist und große Studien mit hohen Fallzahlen schwer zu realisieren sind. Je nach Studie liegt das Risiko an PTLD zu erkranken zwischen drei bis 21 mal höher als das Lymphomrisiko in der Normalpopulation [10, 5, 11–15]. Die Häufigkeitsverteilung von PTLD verhält sich annähernd U-förmig. Der erste Häufigkeitsgipfel findet sich innerhalb des ersten Jahres. Etwa 50% der PTLD Fälle treten hier auf. Der Zweite liegt etwa fünf bis zehn Jahre nach der Transplantation [16].

1.1.2 Risikofaktoren

Die Pathogenese von PTLD ist multifaktoriell und bis heute noch nicht ganz verstanden. Risikofaktoren die zur Entwicklung beitragen sind Art des transplantierten Organs, EBV Status, Dauer und Dosis der Immunsuppression.

1.1.2.1 Transplantiertes Organ

Das höchste Risiko mit sieben bis 30% an PTLD zu erkranken besteht nach einer Lungentransplantation, Dünndarmtransplantation und kombinierten Herz-/Lungentransplantation [17, 18, 15]. In der mittleren Risikogruppen befinden sich Patienten nach einer Herz- oder Lebertransplantation und das geringste Risiko mit ca. einem Prozent besteht nach einer Nierentransplantation [5, 17, 18].

Faktoren die zur Risikoerhöhung bei z.B. der Lungentransplantation beitragen sind zum einen die Notwendigkeit einer hohen Dosierung der Immunsuppression, zum anderen findet sich in diesem Organ viel lymphatisches Gewebe [5, 12].

1.1.2.2 Immunsuppression

Die Immunsuppression ist als eigenständiger Risikofaktor anzusehen. In den letzten Jahrzehnten ist durch die Einführung der „neueren“ Immunsuppressiva zu einer stetigen Verbesserung der Abstoßungsrate gekommen. Damit verbunden ist allerdings auch die Inzidenz der PTLD gestiegen [19]. Die Risikorate einzelner spezieller Medikamente ist sehr umstritten. So wurde bei einer Cyclosporin A Therapie ein vermehrtes Auftreten von PTLD festgestellt [20, 21]. Allerdings ließen sich diese Ergebnisse durch weitere Studien nicht bestätigen [15]. Für andere Medikamente wie z.B. Mycophenolate Mofetil wurde entweder eine gleichbleibende bzw. sogar eine erniedrigte Inzidenz für PTLD festgestellt [20, 21].

1.1.2.3 EBV

Die Pathogenese von PTLD ist eng mit EBV verbunden. Bei erwachsenen Patienten mit PTLD lässt sich in etwa 50% der Fälle EBV histologisch nachweisen [22, 23]. Das Virus wurde 1964 erstmalig an einer Burkittlymphomreihe entdeckt von Epstein et al [24]. Es gehört zu der Familie der Herpesviren und ist lympho- und epithelotrop. 1982 wurde bei HIV-positiven Patienten eine Verbindung zwischen Non-Hodgkin Lymphomen und EBV gefunden [25]. Mehr als 90% der Weltbevölkerung sind mit EBV infiziert [26]. Die Erstinfektion findet meist schon im Kindesalter oder frühen Erwachsenenalter statt. Der Hauptübertragungsweg ist das Küssen, weswegen die Mononukleose im amerikanischen Raum auch als „Kissing disease“ bezeichnet wird [27]. Zunächst infiziert EBV die oropharyngealen Epithelzellen um dann anschließend B-Zellen zu infizieren. Dies kann entweder asymptomatisch verlaufen oder als Mononukleose. Die primäre Infektion zieht eine massive Proliferation an spezifischen (z.B. EBV spezifische zytotoxische T-Zellen) und unspezifischen T-Zellen nach sich und führt zu einer weitgehenden Elimination der EBV-infizierten B-Zellen [28]. Ein Teil der infizierten B-Zellen kann sich allerdings der T-Zell-Antwort entziehen, in dem nur noch wenige virale Proteine exprimiert werden, und ist weiterhin im Blut nachweisbar [26, 29–31]. Bei immunsupprimierten Patienten ist die Immunkontrolle durch T-Zellen iatrogen herunterreguliert, sodass es zu einer vermehrten Virusreplikation kommt und vermehrt latent infizierte B-Zellen im Blut nachweisbar sind [32, 33]. Ein entscheidender Faktor für die Hyperproliferation ist das virale latente Membranprotein 1 (LMP-1), das als ein Onkogen anzusehen ist. Es wirkt analog wie der Tumornekrosefaktor (TNF) [34]. LMP-1 aktiviert intrazellulär die TNF-Rezeptor assoziierten Faktoren, die wiederum die sogenannten nukleären Faktoren der Kappa Leichtketten der aktivierten B-Zellen (NF- κ B) aktivieren, welches eine Proliferation induziert [35]. Die Hyperproliferation bildet häufig den Ausgangspunkt in der Entwicklung von PTLD, da eine unkontrollierte Vermehrung das Auftreten von z.B. Apoptoseresistenz vermittelnden Mutation fördert. Am Anfang findet sich häufig ein polymorphes Bild mit einem Pool aus verschiedenen EBV-infizierten B-Zell-Klonen. Im weiteren Verlauf bleiben durch Selektion immer weniger Subklone zurück und das histologische Bild wird zunehmend monomorph. Die hochmaligen monoklonalen PTLD's bilden praktisch das Endstadium des Selektionsweg, bei denen sich zahlreiche Mutationen akkumuliert haben [17].

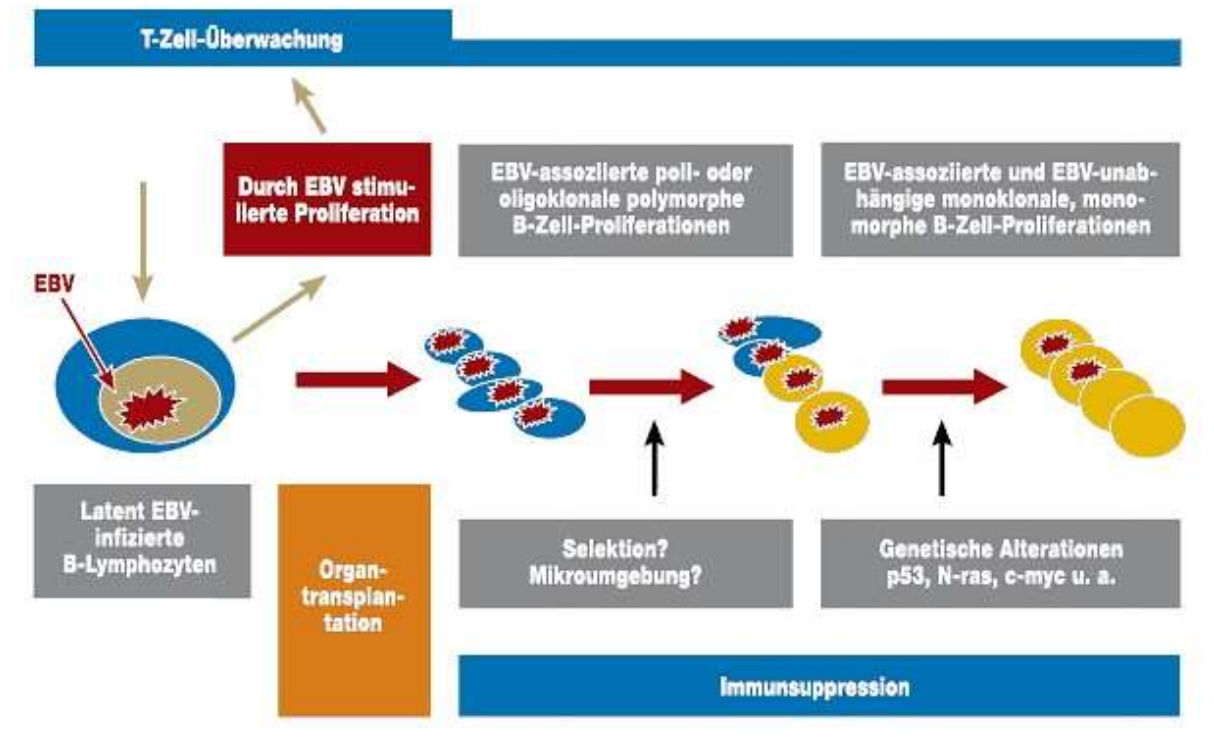


Abbildung 1: Vereinfachtes Modell zur Darstellung der Pathogenese EBV assoziierte PTLD mit freundlicher Genehmigung des deutschen Ärzteblatt [36]

Im gesunden Menschen gibt es einen Anteil latent EBV infizierter B-Lymphozyten. Die Proliferation wird durch zytotoxische T-Zellen reguliert. Unter Immunsuppression wird die T-Zellaktivität reduziert, wodurch das Pool an B-Zellen zunimmt und es teilweise auch zu Hyperproliferationen kommt und so polymorphe Frühformen der PTLD entstehen können. Im weiteren Verlauf entstehen durch weitere Mutationen dominante EBV Subklone und es bilden sich monomorphe Formen der PTLD.

Für das Überleben dieser Klone ist die Präsenz von EBV zum Teil nicht mehr erforderlich, und etwa 50% der Fälle sind letztlich negativ für das Virus [16, 37]. Neben dieser „Hit and Run“-Hypothese werden als Ursache EBV-negativer PTLD andere Risikofaktoren wie CMV-Infektionen oder lang andauernde Immunsuppression diskutiert [33].

EBV negative Patienten, die ein EBV positives Organ transplantiert bekommen, stellen aber ohne jeden Zweifel eine Hochrisikokonstellation dar, welches auch die hohe Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer PTLD bei Kindern erklärt [38–40].

1.1.3 Histologische Klassifikation und Stadieneinteilung

Mehr als 85% der PTLD-Fälle entstehen aus B-Zellen, zwischen 7-14% aus T-Zellen und ca. ein Prozent aus Natürlichen Killerzellen [41, 10]. Es finden sich innerhalb der PTLD Population alle Lymphomsubentitäten, die auch bei immunkompetenten Patienten

vorkommen. Allerdings ist die Häufigkeitsverteilung unterschiedlich. Dabei erfolgt die Differenzierung primär anhand der Morphologie mit den beiden Großgruppen „polymorph“ und „monomorph“. Die Verteilung auf diese beiden Gruppen innerhalb einer Patientenpopulation ist eng mit dem Zeitpunkt der Entstehung der PTLD verknüpft. Die sogenannten „frühen Läsionen“ und die polymorphen PTLD, sind meist auf eine Infektion durch EBV zurückzuführen sind und entstehen meistens im ersten Jahr nach Transplantation. „Frühen Läsionen“ sind nahezu ausschließlich polyklonal und das Virus ist in nahezu 100% der Fälle und Tumorzellen nachweisbar.

Die monomorphe PTLD tritt meistens jenseits des ersten Jahrs der Transplantation auf und ist im Erwachsenenalter mit 60-80% die häufigste Form der PTLD. Eine EBV Assoziation lässt sich in ca. 50% der Fälle nachweisen [22].

Das diffus großzellige B-Zell Lymphom (DLBCL) ist innerhalb der Gruppe der monomorphen PTLD die häufigste Subentität [10]. In der Normalbevölkerung ist es zwar auch der häufigste Lymphomsubtyp, macht hier aber nur einen Anteil von 25-30% aus [42]. Die Besonderheiten bei PTLD führten zu einer eigenständigen histologischen Einteilung durch die WHO (siehe Tabelle 1) [36].

Histologischer Subtyp	Häufigkeit
Frühe Läsionen	ca 5%
Plasmazellhyperplasie	
infektiöse Mononukleose-ähnliche PTLD	
Polymorphe PTLD	15-20%
Monomorphe B-Zell-PTLD	>60%
(Subklassifikation entsprechend der WHO Klassifikation der WHO-Klassifikation der B-Zell Lymphome)	
diffus großzellige Lymphome (imunoblastisch, zentroblastisch, anaplastisch)	
Burkitt/Burkitt ähnliches Lymphom	
Plasmazell-Myelom	
Plasmozytom-ähnliches Lymphom	
Monomorphe T-Zell PTLD	<5%
(Subklassifikation entsprechend der WHO Klassifikation der WHO-Klassifikation der T-Zell Lymphome)	
peripheres T-Zell Lymphom, nicht weiter spezifiziert	
andere Typen	
Hodgkin-Lymphom oder Hodgkin-ähnliche PTLD	<5%

Tabelle 1: WHO Klassifikation PTLD [36]

Die Stadieneinteilung erfolgt anhand der Ann-Arbor Klassifikation für NHL (siehe Tabelle 2). Im Vergleich zu der klassischen Einteilung der Lymphome erfolgt hierbei noch zusätzlich die Unterscheidung zwischen primär nodalem und extranodalem Befall.

Die meisten Patienten werden in einem fortgeschrittenen Stadium diagnostiziert (Stadium III/IV) [43, 44]. Ca. 80% der PTLD-Patienten weisen einen extranodalen Befall zum Zeitpunkt der Erstdiagnose auf [43, 22]. Am häufigsten sind der Gastrointestinaltrakt (20-25%) und die Lunge (15-20%) betroffen [45, 22, 16].

Stadium	primär nodaler Befall (30%)	Primär extranodaler Befall (70%)
I	Befall einer Lymphknotenregion	Befall eines extralymphatischen Organs (IE)
II1	Befall von zwei benachbarten Lymphknotenregionen auf einer Seite des Zwerchfells (II1) oder Befall einer Lymphknotenregion mit lokalisiertem Übergang auf ein Organ (II1E)	Befall eines extralymphatischen Organs einschließlich der regionalen Lymphknotenregionen oder eines weiteren extralymphatischen Organs auf einer Seite des Zwerchfells (II1E)
II2	Befall von zwei <u>nicht</u> benachbarten Lymphknotenregionen oder mehr als zwei benachbarten Lymphknotenregionen auf einer Seite des Zwerchfells (II2) einschließlich eines lokalisierten Befalls eines extralymphatischen Organs (II2E)	Befall eines extralymphatischen Organs, Lymphknotenbefall, der überregionalen Lymphknoten hinausgeht und auch einen weiteren lokalisierten Organbefall einschließen kann (II2E)
III	Befall von Lymphknotenregionen auf beiden Seiten des Zwerchfells (III) einschließlich eines lokalisierten Befalls eines extralymphatischen Organs (IIIE) oder der Milz (IIIS) oder von beidem (IIISE).	Befall eines extralymphatischen Organs und Lymphknotenbefall auf beiden Seiten des Zwerchfells einschließlich eines weiteren lokalisierten Befalls eines extralymphatischen Organs (IIIE) oder der Milz (IIIS) oder von beidem (IIISE)
IV	Lymphknotenbefall mit diffusem oder disseminiertem Befall der extralymphatischen Organe	Diffuser oder disseminierter Organbefall mit oder ohne Lymphknotenbefall

Tabelle 2: Ann Arbor Klassifikation

1.1.4 Klinik

Die klinische Bild von PTLD ist sehr heterogen und damit oft sehr schwierig zu diagnostizieren. Bei primärer EBV Infektion ähnelt das Bild einer Mononukleose mit B-Symptomatik (Fieber, Nachtschweiß, Gewichtsverlust) und Lymphadenopathie, die sich vor allem im Bereich des Waldeyerrachenrings und zervikalen Lymphknoten findet [16]. Häufig treten auch Symptome auf, die die PTLD verschleiern zumal Infektionen unbekannter Ursache und Transplantatversagen wichtige Differentialdiagnosen darstellen. [41]. Bei diffuser Organinfiltration kann PTLD auch fulminant mit Multiorganversagen verlaufen. Dann ist es differentialdiagnostisch nur sehr schwer von bakterieller Sepsis oder akuter Abstoßung zu unterscheiden.

Nicht selten wird die Diagnose auch nur als Zufallsbefund bei den Routineuntersuchungen gestellt bei sonst beschwerdefreiem Patienten. So kann z.B. ein suspekter Rundherd im Röntgenthorax auffallen oder eine Raumforderung in der Abdomensonographie [17].

1.1.5 Diagnostik und Prävention

Bei Verdacht auf (V. a.) PTLD ist zu nächst einer klinisch-körperlichen Untersuchung angezeigt. Sehr wichtig ist dabei eine PTLD spezifische Anamnese mit Fragen nach Art und Dauer der Immunsuppression, Rejektionskrisen und Infektionen. Außerdem sollte eine umfassende Labordiagnostik durchgeführt werden mit folgenden Parametern: Blutbild, Differentialblutbild, LDH, Blutsenkungsgeschwindigkeit, Immunfixation und Serumelektrophorese [17]. Weiterhin sind eine schnittbildgebende Untersuchung von Hals, Thorax und Abdomen notwendig. Wie bereits in 1.1.3 erwähnt, tritt PTLD sehr häufig im Gastrointestinaltrakt auf. Daher empfiehlt es sich auch eine Ösophagogastroduodenoskopie und bei V.a. einen Befall im Kolon auch eine Koloskopie. Auch sollte eine Abdomensonographie durchgeführt werden [46].

Eine der wichtigsten Untersuchung ist eine Gewebeprobeentnahme zur histopathologischen Beurteilung und eine Knochenmarksbiopsie [47]. Bei der Histologie sollten Spezialfärbungen zum Nachweis einer EBV Infektion durchgeführt werden. Zudem sollte eine Messung der EBV-Viruslast im Blut und ggf. Liquor erfolgen.

Wichtig in der Prävention von PTLD ist es, Risikopatienten zu identifizieren und gezielt zu überwachen. Dazu zählen Patienten mit einem negativen EBV-Status, die wie bereits in 1.1.2.3 erwähnt durch eine primäre EBV Infektion zu den Hochrisikopatienten zählen [47]. Weiterhin sollte in den Routineuntersuchungen gezielt auf Symptome, die auf eine PTLD hinweisen könnten, geachtet werden (siehe 1.1.4). Kontrovers diskutiert wird das Monitoring der EBV-Viruslast im Blut. In mehreren Studien konnte nachgewiesen werden, dass eine erhöhte Viruslast auch mit einem erhöhten Risiko für PTLD einhergeht [48, 49]. Allerdings ist der Parameter nicht in jedem Labor vorhanden und das Interpretieren einzelner Werte fällt oft sehr schwer. Entscheidend ist hier die Kinetik.

Insgesamt sind sowohl für Prävention als auch die Diagnostik eine Reihe von Untersuchungen sowie sehr erfahrenes Fachpersonal notwendig.

Wünschenswert wäre daher ein Laborparameter, der schnell verfügbar in nahezu jedem Krankenhaus eine Aussage zum Risikoprofil des Patienten liefert.

1.1.6 Therapie

Lange Zeit war die Reduktion der Immunsuppression die einzig anerkannte Therapie. Frühe Studien konnte hohe Ansprechraten nachweisen [50]. Allerdings waren diese Studien nicht repräsentativ, da der größte Anteil von Patienten mit „frühen Läsionen“ oder polymorphen PTLD gebildet wurde. Da diese Läsionen häufig mit EBV assoziiert sind, ist hier ein gutes

Ansprechen auf eine Immunsuppressionreduktion nicht verwunderlich und nach wie vor bei diesen speziellen Entitäten auch eine anerkannte Therapieform [51]. Die einzige prospektive Studie zur Reduktion der Immunsuppression als Therapie der PTLD zeigte, dass die Effektivität der Immunsuppressionreduktion eher überschätzt wurde [52]. Nicht zu unterschätzen ist dabei das Risiko möglicher Abstoßungsreaktionen.

Die Entwicklung des monoklonalen Anti-CD20-Antikörpers Rituximab führte in der Therapie der PTLD zu großen Fortschritten. In drei prospektiven Studien erreichten insgesamt 55% der Patienten eine komplette Remission [53, 23, 45]. Allerdings erhielten 57% eine Zweitlinientherapie aufgrund eines (späteren) Progresses [53, 45]. Eine große prospektive Studie mit 74 Patienten (PTLD-1 Studie) konnte sehr hohe Remissionsraten (90%) erzielen, indem nach vier Zyklen Rituximab noch vier Zyklen Chemotherapie nach dem CHOP-Schema (Cyclophosphamid, Doxorubicin, Vincristin, Prednisolon) gegeben wurden [22]. Durch Hinzufügen von Rituximab konnten noch bessere Ergebnisse erzielt werden [54]. Es gibt noch eine Reihe anderer Therapieoptionen, die allerdings bisher nur an sehr kleinen Patientengruppen erprobt worden. Dazu zählen Interferon- α , Anti-Interleukin-6-Antikörper und EBV-spezifische zytotoxische T-Zellen [16].

1.1.7 Prognose

Die Prognose hat sich in den letzten Jahrzehnten deutlich verbessert. In der PTLD-1 Studie lebten nach 3 Jahren noch 61% der Patienten und nach 5 Jahren noch 55% [22].

Prognosefaktoren wurden von einer Reihe von Studien identifiziert, allerdings meist immer unter unterschiedlichen Bedingungen. Trotzdem lässt sich ein Trend erkennen, da folgende Prognosefaktoren in mehreren Studien als negativ identifiziert werden konnte: schlechter ECOG Status, Alter, erhöhte LDH-Werte, extranodale und ZNS Beteiligung [55–58].

Es gibt bereits mehrere Versuche einen Prognoseindex für PTLD zu entwickeln. Der am häufigsten angewandte ist der für Non-Hodgkin-Lymphome (NHL) übliche „international prognostic index“ (IPI) [59], der folgende Faktoren beinhaltet:

- Alter >60 Jahre
- Stadium III oder IV der Ann-Arbor-Klassifikation
- extranodaler Herd > 1
- schlechter Allgemeinzustand ECOG-Score ≥ 2
- erhöhte LDH-Konzentration im Serum.

Der IPI war in einigen Studien ein signifikanter Vorhersagewert für die Überlebensrate [60, 43, 57]. Allerdings fließt in den Index nicht ein, dass PTLD eine Vielzahl von Entitäten mit unterschiedlich aggressiven Verhalten umfasst. Der Index scheint somit nicht vollständig geeignet zu sein. In neueren Studien konnten zu dem noch als Prognosefaktoren das Ansprechen auf Rituximab und, ob der Patient eine Transplantation im Bereich des Thorax erhalten, als relevante Prognosefaktoren identifiziert werden [43].

1.2 Freie Leichtketten und Leichtkettenspezifische Immunglobuline

Am 30. Oktober 1845 konsultierte Dr. William MacIntyre einen 45-jährigen Patienten mit Knochenschmerzen und Ödemen. Deswegen untersuchte er auch den Urin und stellte fest, dass sich schon ungewöhnlich früh ein Niederschlag beim Erhitzen bildet und dieser bereits bei 75°C wieder verschwand. Dieses und den Obduktionsbefund veröffentlichte MacIntyre 1850 [61]. Allerdings hatte er auch seinen Kollegen Henry Bence Jones zu Rate gezogen, der die Ergebnisse schon 1847 im Lancet veröffentlicht hatte und somit als Entdecker der nach ihm benannten „Bence-Jones Proteine“ geführt wird [62].

1922 konnten Bence-Jones und Wilson nachweisen, dass sich die Bence-Jones Proteine in zwei Gruppen unterteilen lassen. 1956 wurde dann erstmalig ein Zusammenhang zwischen dem Multiples Myelom und den Bence-Jones Proteinen hergestellt durch Korngold und Lapiri hergestellt [63]. Im Gedenken an sie wurden die zwei Gruppen von Proteinen Kappa (κ) und Lambda (λ) genannt. Allerdings sollte es noch 41 weitere Jahre dauern um die Konzentrationen von Freien Leicht Ketten (FLK) im Serum bestimmen zu können [64].

1.2.1 Aufbau und Stoffwechsel der Freien Leichtketten

Die Produktion von Antikörper, die auch als Immunglobuline bezeichnet werden, findet in Plasmazellen statt. Diese bestehen aus jeweils zwei identischen Schwer- und Leichtketten, die über Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Es gibt insgesamt fünf verschiedene Isotypen A, D, E, G und M. Die Plasmazellen produzieren einen der fünf Typen, können aber durch einen Klassenwechsel auch andere Isotypen produzieren. Von den Leichtketten gibt es wie bereits in 1.2 beschrieben zwei verschiedene Klassen: κ und λ . Die Leichtkette Kappa wird aus nur einem Molekül (Gewicht: 25 kDalton [Da]) gebildet. Hingegen λ (Gewicht: 50 kDa) aus 2 Molekülen, die über eine Disulfidbrücke verbunden sind, besteht.

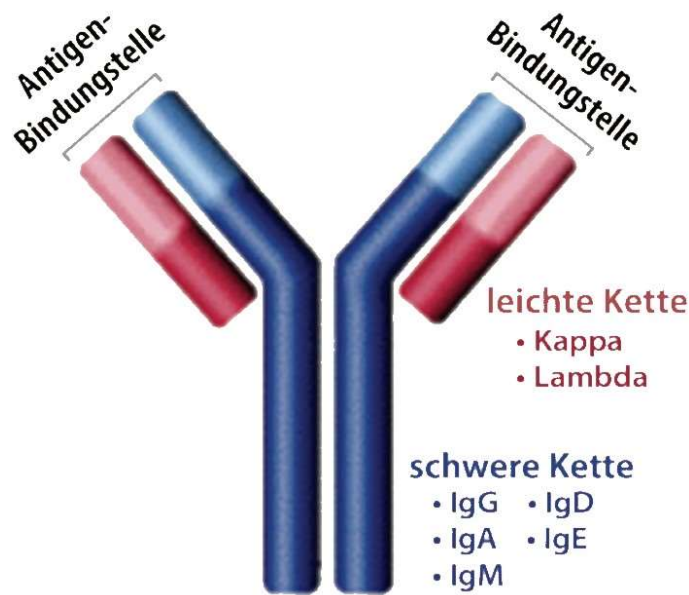


Abbildung 2: Aufbau und Struktur eines Antikörpers mit freundlicher Genehmigung von The Binding Site [65]

Es werden etwa 40% mehr Leicht- als Schwerketten produziert [66]. Die überzähligen Leichtketten werden ins Blut sezerniert und daher auch als freie Leichtketten bezeichnet. Es gibt etwa doppelt so viele Kappa produzierende Plasmazellen wie Lambda produzierenden Zellen, sodass das Produktionsverhältnis (Quotient κ/λ) bei ca. 2:1 liegt.

Aufgrund ihres geringen Molekulargewichtes werden die FLK von der Niere gefiltert. Da Kappa etwa nur halb so groß ist wie Lambda, wird sie doppelt so schnell filtriert. Die Konzentration von Lambda ist dadurch im Blut höher und das Verhältnis κ/λ kehrt sich um und liegt bei ca. 1:2 (Normwert 0,26-1,65) [67]. Die Verweildauer beider FLK im Blut ist sehr kurz. Bei Kappa beträgt sie etwa zwei bis vier Stunden und bei Lambda drei bis sechs Stunden.

Nachdem die FLK die Glomeruli passiert haben, werden sie von den Zellen im proximalen Tubulus durch den Megalin/Cubulin Komplex aufgenommen um dann in den Zellen metabolisiert und anschließend sezerniert zu werden. Dadurch wird der Verlust von Proteinen minimiert [68]. Im Gesunden werden ca. 500 mg pro Tag an FLK produziert [69], sodass alle Leichtketten komplett zurück resorbiert werden können. Übersteigt die Produktion aber einen bestimmten Grenzwert von ca. zehn bis 30 g pro Tag wie z.B. bei Leichtketten-Multiplen Myelom (LKMM), kann der proximale Tubulus nicht mehr alles rückresorbieren und es kommt zu einer sogenannten Überlaufproteinurie [70]. Dadurch werden erstmalig größere Mengen im Urin nachweisbar. Im Gesunden liegt die Konzentration an FLK im Urin zwischen einem und zehn Gramm, die genaue Herkunft ist allerdings noch nicht geklärt.

Vermutet wird, dass sie ähnlich wie IgA von der Mukosa des distalen Anteils des harnableitenden Systems sezerniert werden.

Um zwischen monoklonaler und polyklonaler Erhöhung zu unterscheiden, bildet man das Verhältnis aus Kappa und Lambda. Liegt das Verhältnis aufgrund einer Mehrproduktion einer oder beider FLK nicht mehr im Referenzbereich spricht das für eine monoklonale Erhöhung. Liegt das Verhältnis im Normbereich und sind eine oder beide FLK trotzdem erhöht, so besteht eine polyklonale Ursache.

Es sei hier nochmal betont, dass die Konzentration von FLK im Blut zum einem von der Produktion und zum anderen aber auch von der Nierenfunktion abhängig ist. Bei Patienten mit chronischem Nierenversagen werden deshalb viel höhere Konzentrationen im Vergleich zur Normalbevölkerung festgestellt [70]. Im Moment gibt es noch keine standardisierten Referenzwerte oder Normierung für Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion.

Hutchinson et al empfehlen die Bildung des Verhältnisses zwischen der FLK und Cystatin C [70].

1.2.2 Leichtketten-spezifischer Antikörper

Wie bereits in 1.2.1 erwähnt besteht ein intakter Antikörper aus jeweils zwei identischen Schwer- und Leichtketten (siehe Abbildung 2). Beide bestehen jeweils aus einer variablen und konstanten Region. Die variablen Regionen bilden zusammen die Antigenbindungsstelle. Zwischen den konstanten Regionen der Schwer- und Leichtkette befindet sich ein spezielles Epitop, welches das Ziel der Antikörper vom Hevylite ®-Assay bildet [71].

Dadurch kann zwischen den Leichtkettentypen der jeweiligen Immunoglobulinklasse unterschieden werden z.B. IgA κ oder IgA λ (Abbildung 3).

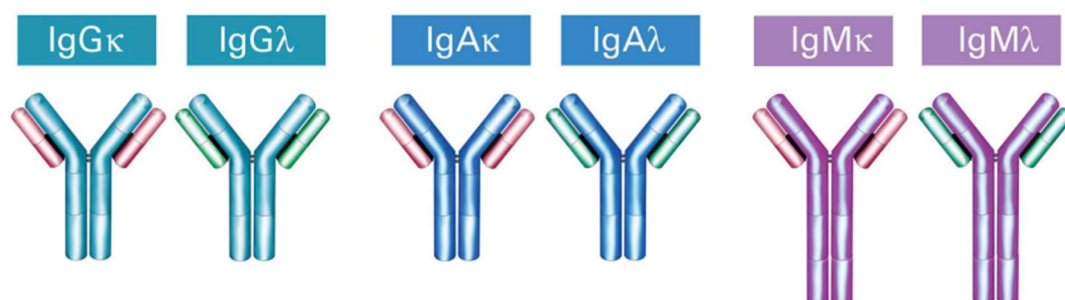


Abbildung 3: Unterscheidung des Leichtkettentyps der jeweiligen Immunoglobulinklasse Antikörpers mit freundlicher Genehmigung von The Binding Site [72]

Um zwischen monoklonalen und polyklonalen Erhöhungen unterscheiden zu können, bildet man das Verhältnis z.B. IgG κ /IgG λ . Ist eine oder sind beide Isotypen der Antikörperklasse erhöht und das Verhältnis nicht mehr im Referenzbereich spricht das für eine monoklonale

Ursache. Liegt das Verhältnis allerdings im Normbereich und sind eine oder beide Schwer-/Leichtkette Paare (HLC) trotzdem erhöht, so kann von einer polyklonalen Ursache ausgegangen werden.

Die Konzentrationen der HLC sind nicht von der Nierenfunktion abhängig, da intakte Immunglobuline nicht von der Niere filtriert werden.

1.2.3 Klinische Bedeutung FLK (Freelite® Assay) und HLC (Hevylite® Assay)

Seit der Entwicklung beider Assays zur Bestimmung der FLK und HCL ist es zu einer rasanten Entwicklung nicht nur im Bereich der Hämatologie gekommen.

Führend sind dabei vor allem Krankheitsbilder mit monoklonaler Gammopathie. Davon sind ca. 18% Multiple Myelome (MM), 11% AL Amyloidose und 51% Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS) [73].

Schwierig fiel häufig die Diagnose des LKMM. Die Vorstellung der Patienten erfolgt teilweise mit eher atypischen Beschwerden und der Nachweis der monoklonalen Gammopathie gelingt in nur 50% der Fälle mit Hilfe von Serumproteinelektrophorese, so dass es häufig zu einer deutlich späteren Diagnosestellung mit damit verbundenen Auswirkungen auf die Prognose kam [74–76]. Mit Hilfe des Freelite® Assay konnten in mehreren Studien alle Patienten mit Diagnose LKMM identifiziert werden [77, 78]. Klar im Vorteil zeigt sich der Assay auch im Therapieverlauf und der Einschätzung des Remissionsstatus. Durch Messung der Konzentration von FLK im Urin erreichten 32% (26/82) der Patienten eine komplette Remission. Hingegen bei Messung der FLK im Serum nur 11% (9/829) [77]. Eine seltene Subentität der MM bilden die nicht sekretorischen Multiplen Myelome (NSMM). Sie machen etwa 1-5% der MM aus [79]. In neueren Studien konnten mit Hilfe des FreeLite® Assays allerdings doch monoklonale Proteine identifiziert werden, sodass die Inzidenz der NSMM deutlich gesunken ist [80, 81].

2009 wurde daher die Messung der FLK zum Diagnosezeitpunkt und auch im Verlauf in die Leitlinien des MM aufgenommen [82]. Vor allem wegen ihrer kurzen Halbwertszeit im Serum sind die FLK ein idealer Verlaufsparemeter [83].

Auch die Messung der Leichtketten-spezifischen Immunglobuline bringt sowohl in der Diagnostik als auch im Monitoring klare Vorteile. Vor allem im Vergleich zur Bestimmung der Gesamtkonzentration des jeweiligen Antikörpers zeigen sich die HLC klar im Vorteil. Die Messung der Gesamtkonzentration ist abhängig vom Plasmavolumen, Hämatokrit und bei sehr hohen Konzentrationen der Immunglobuline weisen diese aufgrund eines erhöhten

Stoffwechsel eine kürzere Halbwertszeit auf [71]. Ludwig et. al konnten zudem bei Patienten, die laut der konventionellen Tests (Serumelektrophorese, Immunfixation, Nephelometrie) in komplette Remission (CR) waren, teilweise immer noch eine veränderte HLC Ratio nachweisen. Es wird daher vermutet, dass sich die HLC Ratio als guter Parameter zur Detektion einer minimalen Resterkrankung eignet [84]. Außerdem konnte die HLC Ratio als prognostischer Marker identifiziert werden. Dabei waren extreme HLC Ratios ($<0,001$ oder $>200,0$) zusammen mit dem β_2 -Mikroglobulin dem internationalen Staging System (ISS) deutlich überlegen [85, 86].

Im Bereich der Lymphome wurde sich vor allem auf die häufigste Subentität der NHL's, die DLBCLs konzentriert. Zwischen 19%-50% der DLBCL Patienten weisen erhöhte Konzentration einer oder beider FLK auf [87, 88]. 8%-14% haben ein verändertes κ/λ Verhältnis [87]. Patienten mit erhöhten Konzentration an FLK haben eine signifikant schlechtere Prognose hinsichtlich des „Event free survival“ (EFS) und „Overall survival“ (OS) [87–89]. Weiterhin konnte festgestellt werden, dass erhöhte Konzentration an FLK mit einem erhöhten Risiko für NHL bei HIV-Patienten einhergehen [90]. Jardin et al. konnte veränderte HLC Ratios unter DLBCL Patienten feststellen. Am häufigsten traten mit 19,1% veränderte IgM κ /IgM λ Ratios auf. Außerdem konnte die HLC Ratio als negativer Prognosemarker hinsichtlich des OS identifiziert werden [91].

Im Bereich der Autoimmunerkrankungen wie z.B. der rheumatoiden Arthritis oder dem primären Sjögren Syndrom konnte ebenfalls eine polyklonale Erhöhung der FLK nachgewiesen werden, was auch mit der Krankheitsaktivität korrelierte. Es wird angenommen, dass die Ursache in einer chronischen (polyklonalen) B-Zellaktivierung liegt [92].

1.3 PTLD und FLK/HLC aktueller Wissenstand zur Thematik

Bis dato gibt es zwei Studien zu FLK bei PTLD Patienten nach solider Organtransplantation [93, 94]. In einer Fall/Kontrollstudie mit 29 Serumproben von PTLD Patienten konnten Engels et al. nachweisen, dass Patienten mit einer monoklonalen Erhöhung der FLK vor Erstdiagnose ein erhöhtes Risiko haben, eine PTLD zu entwickeln [93]. Außerdem waren polyklonale Erhöhungen der FLK unter den PTLD Patienten häufiger als in der Kontrollgruppe und waren ebenfalls mit einem erhöhten Risiko für Entwicklung von PTLD assoziiert. Engels et al. treffen allerdings keine Aussage zur Nierenfunktion der Patienten, sodass die Konzentration der FLK nur schwer einzuschätzen sind, da bei schlechter Nierenfunktion die Konzentration der FLK ansteigt. In der Studie von Fernando et al. konnten

diese Ergebnisse nicht bestätigt werden. Allerdings war diese Studie mit nur zehn PTLD Patienten sehr klein [94].

Zum Thema HLC bei PTLD Patienten und FLK/ HLC als mögliche Parameter für die Verlaufskontrolle sind keine Studien vorhanden.

1.4 Ziel der Arbeit

Eine PTLD ist nach wie vor eine schwerwiegende Komplikation nach SOT. Aufgrund der stark variierenden klinischen Präsentation ist die Diagnosestellung sehr anspruchsvoll und wird z.T. dadurch verzögert. Daher ist das Interesse an einem schnell verfügbaren und nicht-invasivem diagnostischem Test groß.

Das Ziel dieser Arbeit ist in einer Fall/Kontrollstudie den Wert von FLK und HLC Messung in Diagnose und Verlaufskontrolle bei Patienten mit PTLD zu evaluieren. Folgende Fragen sollen dabei beantwortet werden:

1. Besteht eine Korrelation zwischen FLK Konzentration und dem Auftreten von PTLD?
2. Ist eine Normierung der FLK Konzentration hinsichtlich der Nierenfunktion sinnvoll?
3. Besteht ein Zusammenhang zwischen der HLC und PTLD?
4. Eignen sich FLK und HLC Messung zur Verlaufskontrolle bei PTLD?

2. Methoden und Material

2.1 Patientenkollektiv

Es lagen 20 Serumproben von Patienten mit bestätigter Diagnose eines B-Zell PTLDs von der deutschen PTLD-Studiengruppe vor. Die Proben wurden zwischen 1998 und 2011 gewonnen und anschließend in 1ml Behältnisse bei -20°C aufbewahrt. Die Probengewinnung erfolgte innerhalb von sieben Tagen nach Diagnosestellung und vor Therapiestart. Bei 14 der 20 Patienten sind zudem Proben zum Zeitpunkt des Restagings vorhanden. Die Patienten waren entweder in der PTLD-1 Studie [22] eingeschlossen (siehe dazu 1.1.6) oder wurden entsprechend der Empfehlungen der Studiengruppe zu seltener PTLD-Entitäten behandelt [46].

Zwei Patienten wurden mit einem Plasmazytom-ähnlichen PTLD diagnostiziert, allerdings waren bei keinem von beiden eine Knochenmarkbeteiligung oder osteolytischen Läsionen nachweisbar. Einer der beiden Patienten gehörte zu einer publizierten Serie Plasmazytom-ähnlicher PTLDs, die aufzeigte, dass sich Plasmazytom-ähnliche PTLD von Multiplen Myelomen in nicht immunsupprimierten Patienten unterscheiden und dass eine überschießende Produktion von Paraproteinen bei diesen Patienten selten ist [95].

Als Kontrollen wurden transplantierte Patienten ausgewählt, die ähnliche Krankheitsverläufe und Komorbiditäten im Vergleich zu den PTLD Patienten aufwiesen. Sie wurden aus einem Pool von Leber- und Nieren-transplantierten Patienten des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (Campus Kiel) und dem Queen Elizabeth Hospital Birmingham (Großbritannien) bereitgestellt. Zum Zeitpunkt der Probengewinnung waren bei keinem Patienten Hinweise für das Vorliegen einer PTLD vorhanden. Die Kontrollpatienten wurden individuell nach Geschlecht, Zeit bis zur Transplantation und Alter zum Zeitpunkt der Transplantation ausgewählt. Es ergaben sich insgesamt 90 Kontrollpatienten. Aufgrund von Materialmangel konnten aber nur bei 64 Patienten die Leichtketten-spezifischen Immunglobuline gemessen werden.

2.2 Datenerhebung

Die Datenerhebung erfolgte mit Hilfe der Datenbank der PTLD Studiengruppe.

2.3 Labordiagnostische Untersuchungen

2.3.1 Entwicklung des Freie Leichtketten Assays (Freelite®)

2001 wurde von Bradwell et al. [96] ein ausreichend spezifischer Test für den Nachweis von freien Leichtketten entwickelt.

Die Herausforderung ist dabei einen Antikörper (AK) zu entwickeln, der eine hohe Spezifität und Affinität besitzt. Als Ziel für den AK wurden Epitope auf den FLK ausgewählt, die normalerweise „versteckt“ an der Bindungsstelle zwischen den Leicht- und Schwerketten sich befinden und nur frei liegen, wenn die Leichtketten ungebunden sind (siehe Abbildung 4).

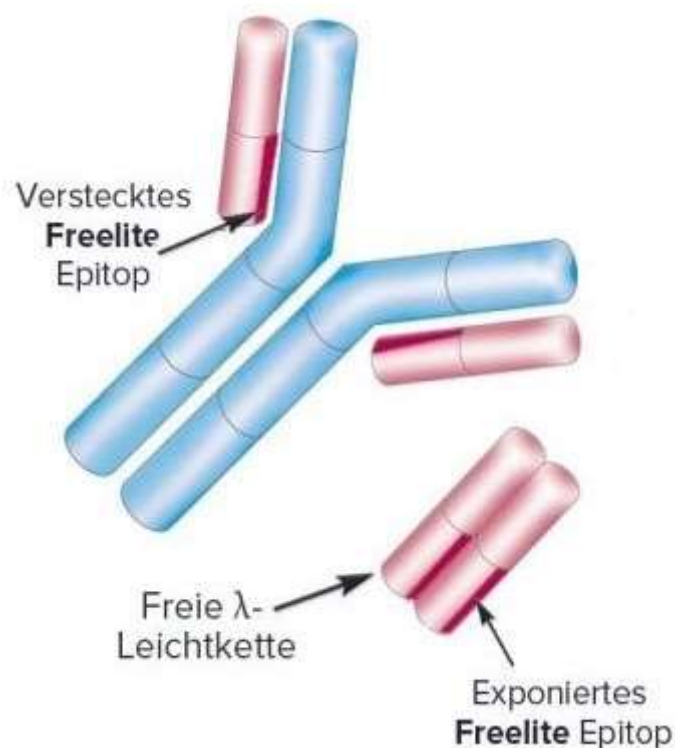


Abbildung 4: Zielepitope der Freien Leichtkette Antikörpers mit freundlicher Genehmigung von The Binding Site [97]

In früheren Versuchen wurden häufig monoklonale AK verwendet, allerdings waren diese häufig zu spezifisch und konnte somit nicht die gesamte Breite, insbesondere von häufig pathologisch veränderten monoklonalen FLK, erfassen. Daher entwickelten Bradwell et al. einen Assay der auf polyklonalen Antiseren beruht.

Dafür wurden Schafe mit einer der beiden FLK immunisiert, die vorher aus aufbereitetem Urin mit Bence Jones Proteinurie gewonnen worden waren. Um eine Kreuzreaktion mit intakten Immunglobulinen und der alternierenden freien Leichtkette zu vermeiden, wurden die

gewonnen Antiseren mit Hilfe von Myelomimmunglobulinen IgA, IgG, IgM und monoklonalen Proteinen aufgereinigt. Eine hohe Spezifität des Assays wird durch folgende Tests erreicht:

1. Immunelektrophorese zum Ausschluss von Kreuzreaktionen gegen die intakte Immunglobuline und die alternierende FLK. Hämagglutinationsassay mit Schafserythrozyten, die mit einzelnen FLK, aufgereinigten polyklonalen IgG, monoklonalen IgA oder monoklonalen IgM sensibilisiert waren.
2. Western Blot Analysen zum Vergleich der Färbung von Serum- und Urinblots, die durch Reaktion der polyklonalen FLK-Antiseren mit monoklonalen Antikörpern, die freie und gebundene κ - und λ -Moleküle erkennen, entstanden.

Die so hergestellten polyklonalen Antiseren können durch die Bildung von Präzipitaten mit den FLK nephelometrisch gemessen werden und so die Menge und den Typ des Proteins bestimmt werden.

2.3.2 Entwicklung der Leichtketten-spezifischen Immunglobulin Assays (Hevylite®)

Wie bereits in 1.2.2 erwähnt, liegt bei intakten Immunglobulinen an der Verbindungsstelle zwischen der konstanten Region der FLK bzw. Schwereketten ein spezielles Epitop, dass als Zielstruktur im Hevyliteassay benutzt wird (siehe Abbildung 5).

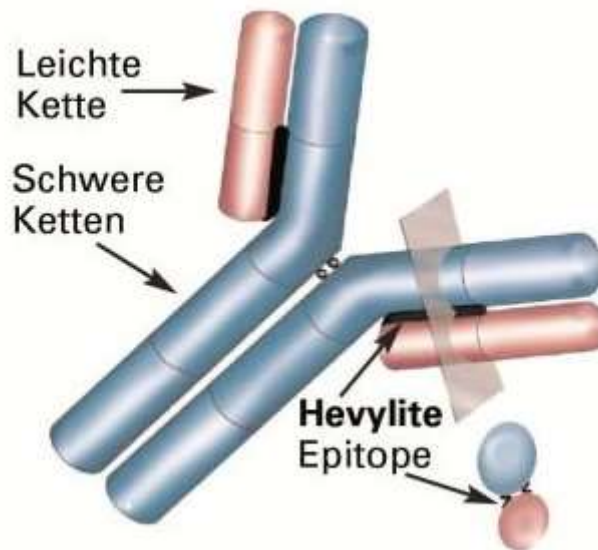


Abbildung 5: Epitope an der Verbindungsstelle zwischen den konstanten Regionen der schweren und der leichten Kette, welche von den Antikörpern gebunden werden. Antikörper mit freundlicher Genehmigung von The Binding Site [72]

Dafür werden ebenfalls wie bei Freeliteassay polyklonale Antikörper, die aus Schafen gewonnen wurden, verwendet. Die weitere Entwicklung des Assays entspricht dem von Freelite (siehe 2.3.1), um so das Auftreten von Kreuzreaktionen zu verhindern. Der Antikörper gegen IgA κ reagiert z. B. nicht gegen freies oder an anderen Immunglobulinklassen gebundenes Kappa.

2.4 Geräte und Material

Zur Bestimmung der Laborparameter wurden Serumproben der PTLD-Patienten und Kontrollpatienten verwendet. Die Proben wurden mit dem SPAPlus® analysiert, der von der Firma „The Binding Site“ Großbritannien bereitgestellt wurde. Das Gerät kann die Konzentration von Proteinen mit Hilfe von Turbidometrie messen, indem eine durch die Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen hervorgerufenen Trübung photometrisch gemessen wird.

Zur Bestimmung der Parameter FLK, Leichtketten-spezifische Immunglobuline und Cystatin C wurden der Freelite®-Assay, Hevylite®-Assay und das Cystatin C Kit verwandt (alle The Binding Site, Großbritannien).

2.5 Referenzwerte FLK und Leichtketten-spezifische Immunglobuline

Es liegen mehrere Studien zu den normalen Referenzbereichen der FLK vor. Von der Binding Site empfohlen ist der Referenzbereich von Katzmann et al. [67]. Hier wurden die Serumkonzentrationen von 127 gesunden Probanden im Alter von 21 bis 62 Jahren und von

155 älteren Patienten (51-90 Jahre) mit polyklonalen Antiseren gemessen. Daraus ergeben sich folgenden Referenzwerte (siehe Tabelle 3), auf die sich auch in dieser Doktorarbeit bezogen wird. Für das κ/λ -Verhältnis sind zwei Referenzbereiche vorhanden.

	Referenzintervall	Nierenfunktion angepasstes Referenzintervall
Freie Leichtketten in mg/l		
Kappa	3,30-19,40	
Lambda	5,71-26,30	
kFLK	9,01-45,70	
Kappa/Lambda	0,26-1,65	0,37-3,10
Leichtketten spezifische Immunglobuline in g/l		
IgA Kappa	0,57-2,08	
IgA Lambda	0,44-2,04	
IgA κ /IgA λ	0,78-1,94	
IgG Kappa	3,84-12,7	
IgG Lambda	1,91-6,74	
IgG κ /IgG λ	1,12-3,21	
IgM Kappa	0,19-1,63	
IgM Lambda	0,12-1,01	
IgM κ /IgM λ	1,18-2,74	

Tabelle 3: Referenzwerte Freie Leichtketten und Leichtketten-spezifische Immunglobuline

Eine polyklonale Erhöhung der FLK liegt vor, wenn die Konzentration der Summe aus beiden Leichtketten Kappa und Lambda (kombinierte FLK, kFLK) über dem oberen Referenzwert liegt. Eine monoklonale Veränderung der FLK setzt ein κ/λ -Verhältnis außerhalb des Referenzbereichs voraus und die Tatsache, dass eine oder beide FLK-Konzentrationen über dem oberen Referenzbereich liegen.

Aufgrund der bereits in der Einleitung beschriebenen Abhängigkeit der FLK Konzentration von der Nierenfunktion erfolgt eine Normierung der FLK Konzentration, in dem der Quotient aus FLK und Cystatin C gebildet wird.

Als Referenzwerte der Leichtketten-spezifischen Immunglobuline wurden die für das SpaPlus Gerät empfohlenen und beiliegenden Referenzwerte benutzt (Tabelle 3).

2.6 Statistik

Für die statistische Datenauswertung wurde IBM SPSS Statistics Version 22.0 verwendet. Die Daten für die FLK und Leichtketten-spezifische Immunglobuline sind nicht normal verteilt. Deswegen erfolgt die Präsentation der Daten mit Hilfe von Median, Minimum und Maximum. Nicht parametrische Analysen von unabhängigen Stichproben werden mittels des Mann-

Whitney Test durchgeführt, indem die Mediane der zwei unabhängigen Gruppen miteinander verglichen werden. Stichproben, die miteinander verbunden sind, werden anhand des Wilcoxon-Tests analysiert. Kategorisierbare Daten werden durch den Fischer Exakt Test verglichen.

Zur Ermittlung von Grenzwerten wird die „Receiver Operating Characteristic“ Kurve (ROC) verwendet. Der optimale Grenzwert ist definiert als der maximale Wert aus der Summe von Spezifität und Sensitivität.

Um eine Assoziation zwischen dem Auftreten von PTLD und den gemessenen Parametern nachzuweisen, wird eine logistische Regression durchgeführt. Dabei wurden die Analysen hinsichtlich Alter, Geschlecht und Zeit nach der Transplantation angepasst.

Für alle Analysen wurde ein p-Wert $<0,05$ als statistisch signifikant angenommen.

3. Ergebnisse

3.1 Patientenkollektive

Charakteristik	PTLD Patienten, N=20	Kontrollpatienten, N=90	p-Wert
Geschlecht weiblich, n (%)	5 (25)	26 (29)	
Alter zum Zeitpunkt der Transplantation, Median (Range)	43 (14-67)	48 (14-71)	0,727
Zeit bis zur Erstdiagnose PTLD/Entnahme Blutprobe, median (Range)	3,9 (0.2-18.2)	4,1 (0,1-17,9)	0,904
Organtransplantat, n (%)			
Niere	8 (40)	45 (50)	
Leber	8 (40)	45 (50)	
Herz	4 (20)	0 (0)	
PTLD Befallsmuster, n(%)			
nodal	3 (15)	-	
extranodal	7 (35)	-	
nodal+extranodal	10 (50)	-	
Ann Arbor Stadium, n (%)			
Stadium I	3 (15)	-	
Stadium II	0 (0)	-	
Stadium III	4 (20)	-	
Stadium IV	13 (65)	-	
PTLD Histologie, n (%)			
Polymorph	1 (5)	-	
DLBCL	11 (55)	-	
Burkitt Lymphom	2 (10)	-	
Hodgkin/Hodgkin-like Lymphom	2 (10)	-	
Plasmozytom	2 (10)	-	
MALT	2 (10)	-	
PTLD EBV-Status, n (%)			
positiv	11 (55)	-	
negative	8 (40)	-	
nicht durchgeführt	1 (5)	-	

Tabelle 4: Charakteristika der Patientenkollektive

Wie in Tabelle 4 dargestellt, waren die PTLD Patienten zum Zeitpunkt der Transplantation im Median 43 Jahre alt, die Kontrollpatienten 48 Jahre. 25 % der PTLD Patienten und 29% der Kontrollpatienten waren Frauen. Jeweils acht PTLD Patienten (40%) erhielten eine Niere

bzw. Leber. Bei vier Patienten wurde eine Herztransplantation durchgeführt. Je 45 Kontrollpatienten (50%) erhielten eine Niere oder Leber. Nach der Transplantation vergingen im Median 3,9 Jahre bis zur Erkrankung an PTLN. Die Proben der Kontrollpatienten wurden im Median 4,1 Jahren nach Transplantation abgenommen.

PTLN wurde bei 65% Patienten als Stadium IV nach Ann Arbor klassifiziert. Mit 55% wurde die Mehrzahl der Fälle histologisch mit einem DLBCL diagnostiziert. Die weiteren Entitäten Hodgkin Lymphom, Burkitt Lymphom, Plasmozytom und MALT Lymphom zeigten sich bei jeweils zwei Patienten. Bei einem Fall wurde ein polymorphes PTLN diagnostiziert. Bei 11 Patienten (55%) konnte histologisch eine EBV-Infektion nachgewiesen werden, bei 8 Patienten (40%) war histologisch keine Infektion nachweisbar und bei einem Patienten fehlten die Daten dafür.

3.2 Freie Leichtketten

In der Auswertung der FLK zum Zeitpunkt Diagnosestellung wird in beiden Gruppen eine Erhöhung der Freien Leichtketten über dem oberen Referenzwert festgestellt.

	PTLN-Patienten, mg/l	Kontrollpatienten mg/l	p- Wert	Referenzbereich mg/l
	N=20	N=90		
Kappa, Median (Bereich)	41.69 (2.47-2053.31)	22.05 (5.45-161.44)	0,015	3.30-19.40
Lambda, Median (Bereich)	32.06 (2.14-2304.00)	20.78 (5.20-128.00)	0,107	5.71-26.30
Ratio κ/λ, Median (Bereich)	1.20 (0.20-277.94)	1.00 (0.27-4.85)	0,218	0.26-1.65
kombinierte FLK, Median (Bereich)	69.94 (4.60-2774.44)	43.65 (10.65-272.97)	0,013	9.01-45.70
Cystatin C, Median (Bereich)	1.91 (0.83-11.19)	1.74 (0.62-5.74)	0,086	0.56-0.99

Tabelle 5: Freie Leichtketten PTLN-Patienten/Kontrollpatienten

Dabei zeigen PTLN Patienten durchgehend höhere Konzentrationen als Kontrollpatienten, wobei signifikante Unterschiede nur bei FLK Kappa und kFLK festgestellt werden konnten (siehe Tabelle 5). 15 PTLN Patienten (75%) und 50 Kontrollpatienten 56% wiesen Konzentrationen oberhalb des konventionellen Grenzwerts der FLK Kappa auf (Fischer Exakt Test: $p=0,135$). Die FLK Lambda waren bei zwölf Patienten der PTLN-Gruppe (60%) und bei 30 Patienten der Kontrollgruppe (34%) erhöht (Fischer Exakt Test: $p=0,040$). Hinsichtlich der kFLK ließ sich der deutlichste Unterschied zwischen PTLN- und Kontrollgruppe feststellen (75% vs. 44%, Fischer Exakt Test: $p=0,024$).

Wie bereits in der Einleitung erwähnt (1.2.1) ist die Konzentration der FLK von der Nierenfunktion abhängig. In beiden Patientengruppen liegen die Mediane des Cystatin C außerhalb des Referenzbereiches, allerdings ist zwischen beiden Gruppen kein signifikanter

Unterschied detektierbar. Trotzdem erfolgt eine Normierung der Werte, indem der Quotient aus FLK und dem dazugehörigen Cystatin C gebildet wird. Die sich daraus ergebenden Werte sind in Tabelle 6 dargestellt.

	PTLD-Patienten	Kontrollpatienten	p-Wert
	N=20	N=90	
Kappa, Median (Bereich)	21,86 (1,63-690,89)	12,13 (4,06-55,38)	0,067
Lambda, Median (Bereich)	16,25 (1,26-205,91)	12,43 (4,00-63,34)	0,180
kFLK, Median (Bereich)	35,74 (2,88-693,37)	24,80 (8,85-100,91)	0,020

Tabelle 6: Normierte FLK PTLD-/Kontrollpatienten

Demnach sind weiterhin Unterschiede zwischen den Gruppen feststellbar, vor allem bei Kappa und den kFLK. Allerdings ist der Unterschied für Kappa nicht mehr signifikant.

3.2.1 Polyklonale Veränderungen der FLK

Wie später noch in 3.2.2 beschrieben wird, weisen drei PTLD Patienten und zwei Kontrollpatienten monoklonale FLK Erhöhungen auf (κ/λ Verhältnis außerhalb des Referenzbereiches 0,37-3,1). Da sich die folgenden Analysen auf polyklonale Veränderungen konzentrieren, wurden diese Patienten ausgeschlossen und es ergibt sich folgende Gruppencharakteristik:

	PTLD-Patienten	Kontrollpatienten	p-Wert	Referenzbereich
	mg/l	mg/l		mg/l
	N=17	N=88		
Kappa, Median (Bereich)	38,21 (2,47-110,23)	21,90 (5,45-161,44)	0,030	3.30-19.40
Lambda, Median (Bereich)	30,20 (2,14-124,49)	20,78 (5,20-128,00)	0,126	5.71-26.30
kFLK, Median (Bereich)	69,52 (4,60-234,73)	43,45 (10,65-272,97)	0,057	9.01-45.70
Cystatin C, Median (Bereich)	1,90 (0,83-6,99)	1,74 (0,62-5,74)	0,209	0.56-0.99

Tabelle 7: Vergleich PTLD-/Kontrollpatienten unter Ausschluss monoklonaler Veränderungen

Ein Vergleich der Mediane beider Gruppen zeigt erneut einen signifikanten Unterschied für den Parameter FLK Kappa. Der Unterschied der kFLK ist zwischen den beiden Gruppen nicht mehr signifikant.

Um festzustellen, ob eine Erhöhung einer oder beider FLK mit dem Auftreten von PTLD assoziiert ist, wird eine logistische Regression mit den oberen Grenzwerten durchgeführt (Tabelle 8). 59% der PTLD Patienten und 33% der Kontrollpatienten weisen eine Erhöhung des Lambda Messwertes auf (OR: 2,91[95%CI 1,0-8,4]; p=0.05). Bei den kFLK weisen 71% der PTLD Patienten und 38% der Kontrollpatienten eine Erhöhung über dem konventionellen

Grenzwert auf (OR: 3,16 [95CI 1,3-11,2]; p=0.045). Bei Patienten mit PTLD finden sich somit statistisch häufiger erhöhte kombinierte und Lambda FLK.

	PTLD Patienten, n (%)	Kontrollpatienten, n (%)	Odds Ratio	p- Wert
	N=17	N=88		
Kappa>19.40 mg/l	13 (76)	48 (55)	2,71 (0,82-8,96)	0,103
Lambda> 26.30 mg/l	10 (59)	29 (33)	2,91 (1,00-8.42)	0,049
kombinierte FLK>45.70 mg/l	12 (71)	38 (43)	3.16 (1.26-11.20)	0,045

Tabelle 8: Logistische Regression Freie Leichtketten

Die Verteilung der Einzelmesswerte in beiden Gruppen zeigt allerdings eine erhebliche Überlappung, was beispielhaft für die Leichtkette Kappa in untenstehendem Boxplot dargestellt ist (Abbildung 6).

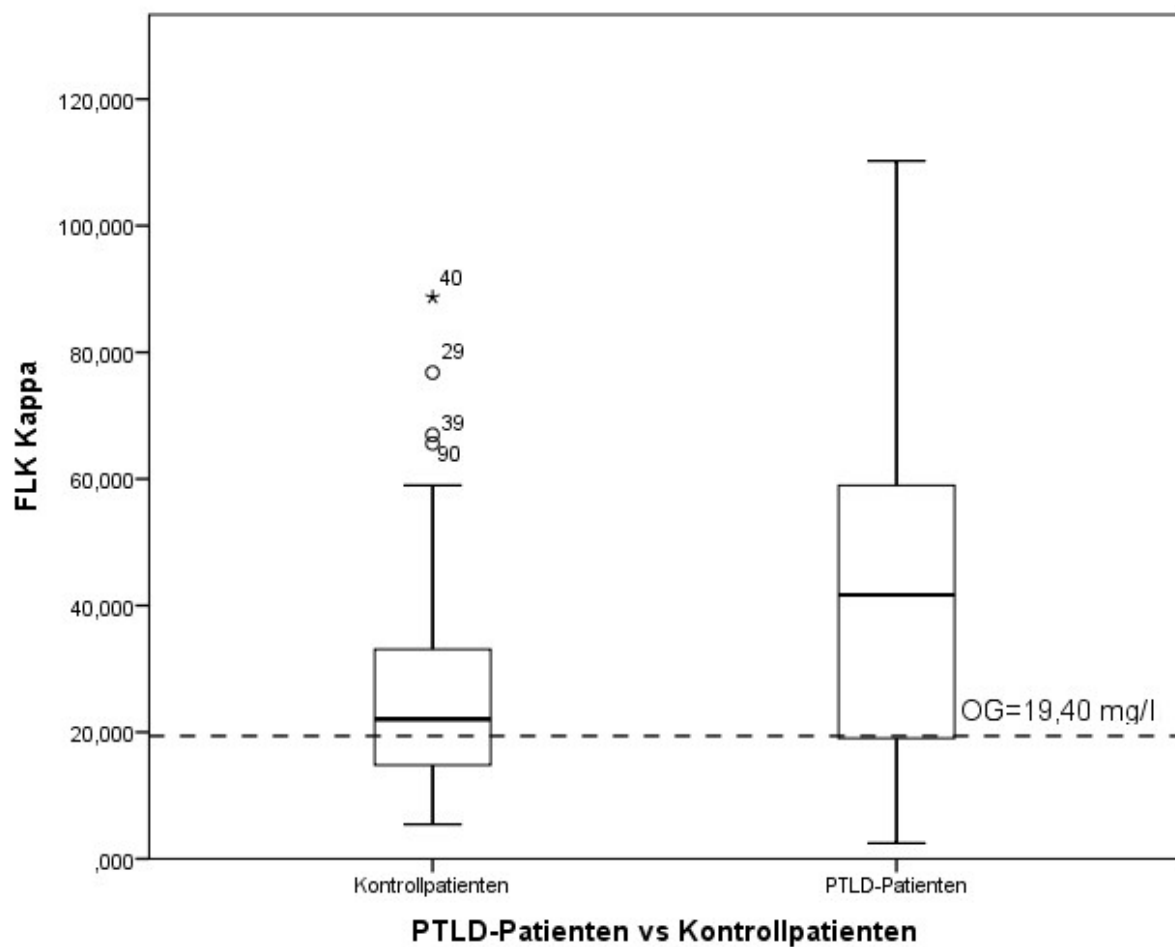


Abbildung 6: Boxplot FLK Kappa

Da für organtransplantierte Patienten keine FLK Referenzwerte definiert sind, wurde im nächsten Schritt eine ROC Analyse durchgeführt.

	Grenzwert	Spezifität	Sensitivität	AUC
Kappa	32,90 mg/l	75%	65%	0,67
Lambda	25,5mg/l	65%	65%	0,62
kFLK	63,1mg/l	73%	65%	0,65

Tabelle 9: ROC-Analyse FLK

Im Vergleich zur Normalpopulation ergeben sich bei organtransplantierten Patienten hiernach für FLK Kappa und die kFLK deutlich höhere Grenzwerte. So liegt der „konventionelle“ Grenzwert für die kFLK bei 45,7mg/l, der mittels ROC errechnete Grenzwert hingegen bei 63,1mg/l. Für Lambda liegt der neu berechnete Grenzwert hingegen niedriger im Vergleich zum „konventionellen“ Grenzwert (25,5mg/l vs.26,3mg/l). Mit den neu berechneten Grenzwerten wird die logistische Regression wiederholt (Tabelle 10):

	PTLD-Patienten, N (%)	Kontrollpatienten, N (%)	Odds Ratio	p- Wert
	N=17	N=88		
Kappa>32.90 mg/l	11 (65)	22 (25)	5,50 (1,82-16,6)	0,003
Lambda>29.58 mg/l	11 (65)	31 (35)	3,37 (1,14-9,99)	0,028
kFLK>63.13 mg/l	11 (65)	24 (27)	4,89 (1,63-14,68)	0,005

Tabelle 10: Logistische Regression anhand neuer Grenzwerte

Für alle drei Parameter werden jetzt signifikante Unterschiede erreicht: Bei 65% der PTLD-Patienten liegt die kFLK Konzentration über dem Grenzwert, in der Kontrollgruppe nur noch 27% der Patienten. Hieraus errechnet sich eine Odds Ratio von 4,89 mit einem p-Wert von 0,005.

3.2.1.1 Freie Leichtketten in Abhängigkeit von der Nierenfunktion

Tabelle 7 zeigt, dass beide Patientengruppen eine schlechte Nierenfunktion aufweisen. Daher erfolgte eine Normierung der FLK Konzentrationen mit Hilfe der Cystatin C Konzentration wie in 2.5 dargestellt. Die numerischen Unterschiede zwischen beiden Gruppen sind hiernach immer noch vorhanden, jetzt allerdings nicht mehr signifikant (Tabelle 11).

	PTLD-Patienten	Kontrollpatienten	p-Wert
	N=17	N=88	
Kappa, Median (Bereich)	20,99 (1,63-36,64)	11,99 (4,06-55,38)	0,108
Lambda, Median (Bereich)	15,44 (1,26-36,86)	12,42 (4,00-63,34)	0,230
kFLK, Median (Bereich)	33,56 (2,88-70,64)	24,43 (8,85-100,91)	0,083

Tabelle 11: FLK bei Patienten mit polyklonalen Veränderungen (normiert durch Cystatin C)

Da für die normierten FLK noch keine Referenzwerte vorliegen, erfolgte erneut die Berechnung eines Grenzwertes mit Hilfe einer ROC-Analyse. Dadurch ergaben sich folgende adjustierte Grenzwerte in Tabelle 12 aufgeführt sind.

	Grenzwert	Spezifität	Sensitivität	AUC
Kappa/Cystatin C	20,6	90%	53%	0,62
Lambda/Cystatin C	15	71%	59%	0,59
kFLK/Cystatin C	37,8	91%	47%	0,63

Tabelle 12: ROC-Analyse Cystatin C normierter FLK bei Patienten mit polyklonalen Veränderungen

Anhand der Grenzwerte wird eine logistische Regression durchgeführt. Die Ergebnisse für FLK Kappa und kFLK sind dabei besonders beeindruckend. 53% der Patienten mit PTLN und nur 10% der Kontrollpatienten weisen FLK Kappa oberhalb des normierten Grenzwerts von 20,61 auf. Im Falle der kFLK sind es 47% der PTLN Patienten und 9% der Kontrollpatienten mit Werten oberhalb des neu berechneten Grenzwertes (Tabelle 13).

	PTLD-Patienten, n (%)	Kontrollpatienten, n (%)	Odds Ratio	p-Wert
	N=17	N=88		
Kappa >20.6	9 (53)	9 (10)	9,88 (3,05-32,00)	<0,001
Lambda >15.0	10 (59)	26 (30)	3,41 (1,17-9,92)	0,025
kFLK > 37,8	8 (47)	8 (9)	8,89 (2,68-29,45)	<0,001

Tabelle 13: Logistische Regression für Cystatin C normierte FLK-Werte

3.2.2 Monoklonale Veränderungen der FLK

Wie bereits in Kapitel 2.5 dargelegt, liegt eine monoklonale Erhöhung vor, wenn eine oder beide FLK erhöht sind und zudem auch das Verhältnis von κ/λ außerhalb des Referenzbereiches liegt. Zunächst wird der herkömmliche Referenzbereich verwendet (0,26-1,65). Vier PTLN Patienten und elf Kontrollpatienten weisen demnach eine monoklonale

Erhöhung auf (20% vs. 12%, Fischer Exakt Test: $p=0,470$). Wird der nierenfunktionsangepasste Referenzbereich verwendet (0,37-3,10), liegt noch bei drei PTL-D Patienten und nur noch bei zwei Kontrollpatienten eine monoklonale Veränderung vor (15% vs. 2%, Fischer Exakt Test: $p=0,041$). Bei einem dieser drei PTL-D Patienten war ein Plasmozytom-ähnliches PTL-D diagnostiziert worden. Wenn dieser Patient von den Analysen ausgeschlossen wird, findet sich immer noch ein Trend zur Assoziation mit PTL-D, allerdings sind die absoluten Zahlen von Patienten bzw. Kontrollen sehr klein (10% vs. 2%, Fischer Exakt Test: $p=0,150$).

In der logistischen Regression kann unter Anwendung des konventionellen Referenzbereich keine signifikante Assoziation nachgewiesen werden (OR: 1,77[95%CI 0,5-6,3]; $p=0,38$). Mit dem nierenfunktionsangepassten Referenzbereich zeigt sich eine signifikante Assoziation zwischen einer monoklonalen Veränderung und dem Auftreten von PTL-D (OR: 7,8[95%CI 1,2-50,8]; $p=0,03$). Unter Ausschluss des Plasmozytom-ähnlichen PTL-D-Patienten ergeben sich folgende Werte: OR: 5,2 [95%CI 0,7-39,3]; $p=0,11$.

3.2.3 Kombination aus polyklonalen und monoklonalen Veränderungen

Es soll nun die Kombination aus poly- und monoklonaler Veränderung der FLK in Zusammenhang mit der Diagnose evaluiert werden. Aufgrund der besseren Ergebnisse mit Hilfe des nierenangepassten Referenzbereiches für das κ/λ Verhältnis wird dieser in den folgenden Analysen verwendet. Die erste logistische Regression zeigt bereits eine signifikante Assoziation zwischen der Diagnose PTL-D und wenn *entweder* die kombinierten FLK über dem konventionellen Grenzwert (43,70mg/l) liegen *oder* eine monoklonale Veränderung vorliegt (OR: 3,8 [95%CI 1,3-11,2]; $p=0,02$). Als nächstes wird die Assoziation untersucht, wenn entweder die kFLK größer als 63,1mg/l sind (ROC-Analyse) *oder* eine monoklonale Veränderung vorliegt. Daraus ergibt sich folgendes: OR: 5,7 [95%CI 2,0-16,6]; $p=0,001$. Die stärkste Assoziation findet sich, wenn *entweder* die durch Cystatin C normierten kFLK größer als 37,8 sind *oder* eine monoklonale Veränderung vorliegt (OR: 9,8 [95%CI 3,3-29,4]; $p<0,001$).

3.3 Leichtketten-spezifische Immunglobuline

Für die Analyse der Leichtketten-spezifischen Immunglobuline stehen aufgrund von Materialmangel nur 64 Kontrollpatienten zur Verfügung. Alle ermittelten Mediane sowohl in der PTL-D-Gruppe als auch in der Kontrollgruppe finden sich innerhalb des angegebenen Referenzbereiches und es ist kein signifikanter Unterschied feststellbar (Tabelle 14).

	PTLD-Patienten, g/l	Kontrollpatienten, g/l	p- Wert	Referenzbereich, g/l
	N=20	N=64		
IgA Kappa, Median (Bereich)	1,64 (0,13-6,12)	1,29 (0,25-6,30)	0,369	0,57-2,08
IgA Lambda, Median (Bereich)	1,18 (0,18-4,61)	1,03 (0,03-4,09)	0,488	0,44-2,04
IgA Ratio, Median (Bereich)	1,27 (0,70-1,75)	1,30 (0,77-7,00)	0,785	0,78-1,94
IgG Kappa, Median (Bereich)	7,68 (0,89-15,38)	6,56 (2,87-20,15)	0,455	3,84-12,7
IgG Lambda, Median (Bereich)	4,21 (0,74-9,80)	3,98 (1,46-10,00)	0,785	1,91-6,74
IgG Ratio, Median (Bereich)	1,68 (0,71-18,03)	1,65 (0,69-13,36)	0,897	1,12-3,21
IgM Kappa, Median (Bereich)	0,77 (0,05-5,61)	0,62 (0,13-3,21)	0,644	0,19-1,63
IgM Lambda, Median (Bereich)	0,36 (0,04-4,54)	0,32 (0,07-1,86)	0,896	0,12-1,01
IgM Ratio, Median (Bereich)	1,81 (0,49-2,39)	1,72 (0,79-2,96)	0,686	1,18-2,74

Tabelle 14: Leichtketten-spezifische Immunglobuline PTL-D-Patienten vs. Kontrollpatienten

Mit Hilfe der logistischen Regression wird geprüft, ob eine Assoziation zwischen einer Erhöhung der Leichtketten-spezifischen Immunglobuline und dem Auftreten einer PTL-D vorliegt. 40% der PTL-D Patienten und 13% der Kontrollpatienten weisen eine Erhöhung von IgA κ über dem oberen Grenzwert auf und damit eine signifikante Assoziation mit dem Auftreten einer PTL-D. Das Gleiche trifft auch auf Erhöhungen von IgA λ zu (Tabelle 15).

	PTLD-Patienten, n (%)	Kontrollpatienten n, n (%)	Odds Ratio	p-Wert
	N=20	N=64		
IgA Kappa>2.08g/L	8 (40)	8 (13)	4,47 (1,46-14,91)	0,009
IgA Lambda>2.04 g/L	5 (33)	5 (8)	3,93 (1,01-15,37)	0,049
IgG Kappa>12.07g/L	1 (5)	7 (11)	0,45 (0,05-3,93)	0,472
IgG Lambda>2.04 g/L	1 (5)	9 (15)	0,32 (0,04-2,71)	0,297
IgM Kappa>2.08g/L	3 (20)	4 (6)	2,65 (0,54-12,99)	0,230
IgM Lambda>2.04 g/L	3 (20)	2 (3)	5,47 (0,85-35,42)	0,075

Tabelle 15: Logistische Regression Leichtketten-spezifische Immunglobuline

3.3.1 Polyklonale Veränderungen der Leichtketten-spezifischen Immunglobuline

Polyklonale Veränderungen der Leichtketten-spezifischen Immunglobuline sind analog der polyklonalen Veränderungen der FLK definiert (siehe 2.5). Eine polyklonale IgA Erhöhung findet sich bei 42% der PTL-D Patienten und 12% der Kontrollpatienten. Mit Hilfe einer logistischen Regression kann eine signifikante Assoziation mit der Diagnose PTL-D festgestellt werden (Tabelle 16).

	PTLD-Patienten, N (%)	Kontrollpatienten, N (%)	OR (CI 95%)	p- Wert
	N=19	N=60		
IgA Polyklonal	8 (42)	7 (12)	5,51 (1,65-18,36)	0,006
	N=16	N=50		
IgG Polyklonal	1 (6)	4 (8)	0,76 (0,08-7,40)	0,818
	N=17	N=59		
IgM Polyklonal	2 (12)	3 (5)	2,49 (0,38-16,27)	0,341

Tabelle 16: Assoziation PTLD und polyklonale Leichtketten-spezifische Immunglobuline Veränderungen

Für die anderen Immunglobuline konnte keine Assoziation nachgewiesen werden. Die unterschiedlichen Anzahlen der Patienten kommen durch Ausschluss von Patienten mit Verhältnissen außerhalb des Referenzbereichs zustande.

3.3.2 Monoklonale Veränderungen der Leichtketten-spezifischen Immunglobuline

Monoklonale Veränderungen der Leichtketten-spezifischen Immunglobuline sind bei zwei PTLD Patienten (11%) vorhanden. Bei dem einen Patient wurde eine Plasmozytom-ähnliche PTLD diagnostiziert. Hier lag ein verändertes IgG κ /IgG λ Verhältnis vor. Beim zweiten Patienten wurde histologisch ein DLBCL diagnostiziert. Es findet sich ein verändertes IgM κ /IgM λ Verhältnis. In der Kontrollgruppe zeigt sich bei acht Patienten (13%) eine monoklonale Veränderung: bei sieben Patienten liegt ein verändertes IgG κ /IgG λ Verhältnis vor, bei einem Patienten ein verändertes IgM κ /IgM λ und ein verändertes IgA κ /IgA λ Verhältnis. Mittels logistischer Regression kann keine Assoziation von einem veränderten Leichtketten-spezifischen Ig-Verhältnis mit dem Auftreten einer PTLD festgestellt werden (OR: 0,68 [95%CI 0,13-3,44]; p=0,64).

3.4 Therapie

Für die Evaluation der FLK und Leichtketten-spezifischen Immunglobuline als Verlaufsparmeter werden Patientenproben vor und nach Therapie verglichen. Bei insgesamt 14 Patienten liegen entsprechende Proben nach Therapie vor. Die Unterteilung der Patienten erfolgt anhand des Ergebnisses des Abschlußstaging in zwei Gruppen: die erste Gruppe

beinhaltet Patienten, die eine komplette Remission (CR) erreicht haben. In der zweiten Gruppe finden sich Patienten, mit einer sogenannten „stable Disease“ (SD) oder einem Progress (PD).

3.4.1 Komplette Remission

Zunächst werden die Proben der Patienten (N=8) verglichen, die nach der Chemotherapie eine komplette Remission erreicht haben (Tabelle 17). Vergleicht man zunächst nur die Mediane fällt bereits ein deutlicher Unterschied zwischen den zwei Zeitpunkten auf. So liegt der Median für Kappa vor der Therapie bei 41,96 mg/l, nach der Therapie nur noch bei 19,35 mg/l. Auffällig ist dabei, dass alle Mediane der FLK zum Zeitpunkt des Restaging innerhalb des Referenzbereiches zu finden sind. Mit Hilfe des Wilcoxon Test kann eine signifikante Abnahme der FLK nachgewiesen werden. Die Mediane aller Leichtketten-spezifischen Immunglobuline liegen sowohl vor als auch nach der Therapie im Normbereich. Allerdings lässt sich an Hand des Wilcoxon Test auch hier ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Zeitpunkten hinsichtlich IgGκ, IgGλ und IgMκ feststellen (Tabelle 17).

	Vor Therapie, N=8	Nach Therapie N=8	p-Wert	Referenzbereich
Freie Leichtketten in mg/l				
Kappa, Median (Bereich)	41,69 (10,56-470,49)	19,35 (4,82-50,27)	0,012	3,30-19,40
Lambda, Median (Bereich)	27,70 (14,15-2303,95)	17,24 (5,95-31,47)	0,012	5,71-26,30
kombinierte FLK, Median (Bereich)	66,64 (26,80-2774,44)	34,71 (10,77-81,75)	0,012	9,01-45,70
Cystatin C, Median (Bereich)	1,90 (1,32-11,19)	1,45 (1,19-2,04)	0,012	0,56-0,99
Leichtketten-spezifische Immunglobuline in g/l				
IgA Kappa, Median (Bereich)	1,78 (0,47-3,17)	1,43 (0,29-2,73)	0,123	0,57-2,08
IgA Lambda, Median (Bereich)	1,18 (0,43-2,51)	0,95 (0,23-1,77)	0,092	0,44-2,04
IgG Kappa, Median (Bereich)	7,27 (4,66-10,64)	4,79 (2,60-8,29)	0,050	3,84-12,07
IgG Lambda, Median (Bereich)	5,49 (3,21-6,69)	3,41 (1,17-5,37)	0,036	1,91-6,74
IgM Kappa, Median (Bereich)	0,68 (0,25-2,23)	0,47 (0,07-1,05)	0,025	0,19-1,63
IgM Lambda, Median (Bereich)	0,32 (0,13-4,54)	0,33 (0,05-0,67)	0,123	0,12-1,01

Tabelle 17: Vergleich Prä-/Posttherapie, Patienten in kompletter Remission

Da die Patienten sowohl nach als auch vor der Therapie eine schlechte Nierenfunktion aufweisen, erfolgt erneut eine Normierung der FLK Werte:

	Vor Therapie N=8	Nach Therapie N=8	p-Wert
Kappa, Median (Bereich)	22.76 (8.00-42.05)	10.93 (4.07-36.6)	0,069
Lambda, Median (Bereich)	16.12 (7.39-205.91)	10.57 (5.02-22.93)	0,069
kFLK, Median (Bereich)	34.94 (16.54-247.95)	22.63 (9.09-59.56)	0,069

Cystatin C, Median (Bereich)	1.90 (1.32-11.19)	1.45 (1.19-2.04)	0,012
-------------------------------------	-------------------	------------------	--------------

Tabelle 18: Vergleich Prä-/Posttherapie, Patienten in kompletter Remission, FLK normiert auf Cystatin C

Es findet sich immer noch ein deutlicher Unterschied zwischen den beiden Zeitpunkten, allerdings kann mittels Wilcoxon-Tests keine Signifikanz mehr nachgewiesen werden (Tabelle 18).

3.4.2 SD/ PD Gruppe

Vergleicht man die Mediane der zweiten Patientengruppe, bestehend aus den Patienten mit dem Ergebnis SD oder PD zum Zeitpunkt des Abschlußrestagings, fällt kein Unterschied zwischen den Medianen sowohl für die freien Leicht- als auch Schwerketten auf (Tabelle 19). Im Prinzip zeigen sich zu beiden Zeitpunkten in etwa die gleichen Werte. Bei ungefähr gleicher Nierenfunktion wird auf eine Normierung verzichtet.

	Vor Therapie	Nach Therapie	p-Wert	Referenzbereich
	N=6	N=6		
Freie Leichtketten in mg/l				
Kappa, Median (Bereich)	47,34 (13,75-2053,31)	39,64 (14,72-699,57)	0,463	3,30-19,40
Lambda, Median (Bereich)	38,73 (7,39-100,70)	37,81 (10,40-48,82)	0,600	5,71-26,30
kFLK, Median (Bereich)	85,28 (54,50-2060,70)	79,50 (61,98-709,96)	0,345	9,01-45,70
Cystatin C, Median (Bereich)	2,27 (1,64-2,97)	2,41 (1,55-7,19)	0,249	0,56-0,99
Leichtketten-spezifische Immunglobuline in g/l				
IgA Kappa, Median (Bereich)	2,47 (0,13-6,12)	2,23 (0,24-3,44)	0,600	0,57-2,08
IgA Lambda, Median (Bereich)	1,50 (0,18-4,61)	1,34 (0,22-2,98)	0,463	0,44-2,04
IgG Kappa, Median (Bereich)	6,96 (3,59-15,38)	6,62 (4,00-11,82)	0,600	3,84-12,07
IgG Lambda, Median (Bereich)	4,22 (0,85-9,80)	4,94 (2,32-10,14)	0,463	1,91-6,74
IgM Kappa, Median (Bereich)	0,71 (0,05-0,96)	0,64 (0,05-0,825)	0,600	0,19-1,63
IgM Lambda, Median (Bereich)	0,37 (0,42-0,67)	0,31 (0,11-0,43)	0,600	0,12-1,01

Tabelle 19: Prä-/Posttherapie Vergleich, SD/PD Gruppe

3.4.3 Vergleich CR-Gruppe mit PD/SD-Gruppe

Um auszuschließen das die niedrigeren Werte nach der Therapie nicht auf die Chemotherapie selbst und den damit verbundenen immunsuppressiven Effekt zurückzuführen sind, werden die posttherapeutischen Proben beider Patientengruppen miteinander verglichen (Tabelle 20).

	PD, SD	CR	p-Wert	Referenzbereich
	N=6	N=8		
Freie Leichtketten in mg/l				
Kappa, Median (Bereich)	39,64 (14,72-699,57)	19,35 (4,82-50,27)	0,039	3,30-19,40
Lambda, Median (Bereich)	37,81 (10,40-48,82)	17,24 (5,95-31,47)	0,028	5,71-26,30
kFLK, Median (Bereich)	79,50 (61,98-709,96)	34,71 (10,77-81,75)	0,007	9,01-45,70
Cystatin C, Median (Bereich)	2,41 (1,55-7,19)	1,45 (1,19-2,04)	0,008	0,56-0,99
Leichtketten-spezifische Immunglobuline in g/l				
IgA Kappa, Median (Bereich)	2,23 (0,24-3,44)	1,43 (0,29-2,73)	0,439	0,57-2,08
IgA Lambda, Median (Bereich)	1,34 (0,22-2,98)	0,95 (0,23-1,77)	0,606	0,44-2,04
IgG Kappa, Median (Bereich)	6,62 (4,00-11,82)	4,79 (2,60-8,29)	0,245	3,84-12,07
IgG Lambda, Median (Bereich)	4,94 (2,32-10,14)	3,41 (1,17-5,37)	0,071	1,91-6,74
IgM Kappa, Median (Bereich)	0,64 (0,05-0,825)	0,47 (0,07-1,05)	0,519	0,19-1,63
IgM Lambda, Median (Bereich)	0,31 (0,11-0,43)	0,33 (0,05-0,67)	0,897	0,12-1,01

Tabelle 20: Vergleich Posttherapie der PD/SD-Gruppe mit CR-Gruppe

Bei den FLK zeigen sich signifikant niedrige Mediane in der Gruppe der kompletten Remission. So liegt zum Beispiel der Median der CR-Gruppe für Kappa posttherapeutisch bei 19,35mg/dl also im Normbereich, hingegen in der PD und SD-Gruppe bei 39,64mg/dl ($p=0,039$). Da in der PD/SD-Gruppe mit einem Median von 2,41g/l des Cystatin C auch eine signifikant schlechtere Nierenfunktion als in der CR-Gruppe vorhanden ist, erfolgt eine Normierung der Messwerte für die FLK. Der Unterschied zwischen den Patientengruppen bleibt bestehen, allerdings ist er nicht mehr signifikant.

3.4.4 Therapieverlauf

Zur Darstellung, wie sich die Konzentrationen der FLK während und nach der Therapie verhalten, wird der Therapieverlauf von zwei PTLN Patienten exemplarisch dargestellt: Der erste Patient wurde mit einem Burkitt-Lymphom diagnostiziert und erhielt vier Zyklen Rituximab. Im anschließenden Zwischenstaging ergab sich eine stabile Erkrankungssituation (SD), sodass sich noch vier Zyklen CHOP anschlossen. Die Darstellung erfolgt anhand eines

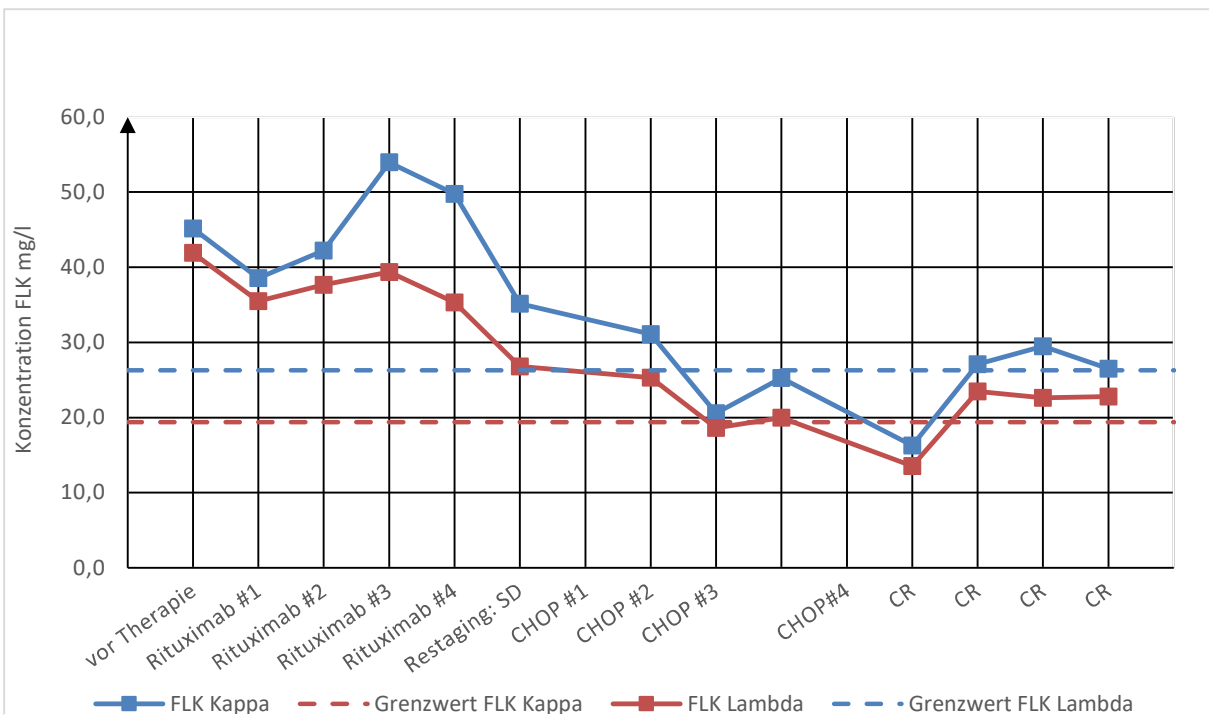


Abbildung 7: Therapieverlauf Patient mit kompletter Remission

Liniendiagrammes (siehe Abbildung 7). Dabei zeigen sich zum Diagnosezeitpunkt deutlich erhöhte freie Leichtketten, die im Therapieverlauf zwar abnehmen, allerdings zum Zeitpunkt des Zwischenstaging weiterhin deutlich erhöht sind. Mit Erreichen einer CR nach vier Zyklen CHOP sind sie erstmalig normwertig. In der Nachbeobachtung kommt es zu einem leichten Anstieg ohne, dass ein Rezidiv auftritt, allerdings sind die Werte nicht longitudinal an die Nierenfunktion angepasst.

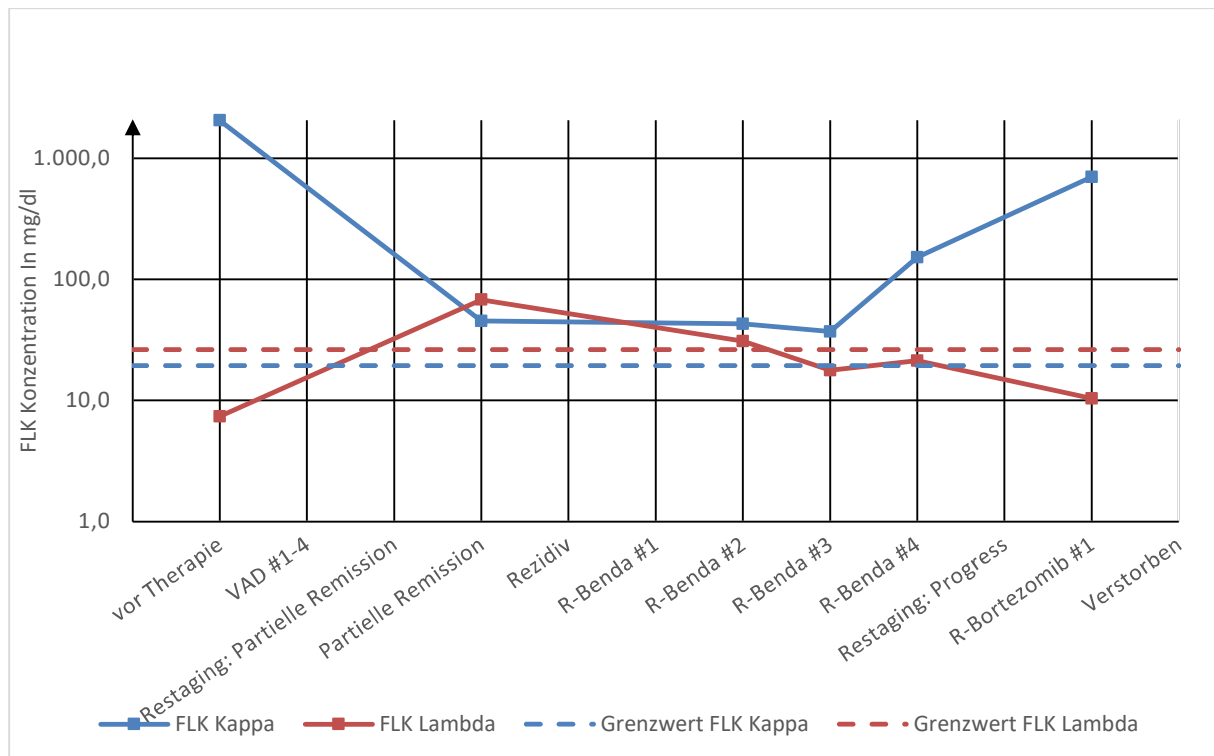


Abbildung 8: Therapieverlauf Patient mit Rezidiv

Bei dem zweiten Patienten wurde ein anaplastisches Plasmozytom mit einer monoklonalen Erhöhung der FLK Kappa diagnostiziert (siehe Abbildung 8). Durch die Chemotherapie fiel die FLK Kappa Konzentration im Serum deutlich. Im Zwischenstaging konnte eine partielle Remission erreicht werden. Bei im Verlauf festgestellten Rezidiv wurde das Chemotherapieprotokoll gewechselt, trotzdem kam es zu einem weiteren Anstieg der Konzentration der FLK Kappa. Im anschließenden Staging zeigte sich ein weiterer Progress. Der Patient verstarb unter der nachfolgenden Chemotherapie mit Bortezomib.

4. Diskussion

PTLD ist eine seltene Erkrankung, deren Inzidenz aufgrund verbesserter Überlebensraten nach SOT über die letzten Jahre deutlich angestiegen ist. Da die klinische Präsentation sehr variiert und oft durch rezidivierende Infektionen oder Abstoßungskrisen verschleiert wird, ist die Diagnosestellung sehr anspruchsvoll und es kommt dadurch oft zu Verzögerungen der Diagnose. Hieraus resultiert das Interesse nach einem schnell verfügbaren, nicht invasiven zusätzlichen Marker. Bei Multiplem Myelom ist es in den letzten Jahren zu großen Fortschritten im Bereich der Diagnostik und in der Bestimmung des Remissionsstatus aufgrund der Einführung von Assays zur Bestimmung der FLK und Leichtketten-spezifischer Immunglobuline gekommen. Das Ziel dieser Studie war den Nutzen dieser beiden Parameter bei PTLD zu evaluieren.

4.1 Freie Leichtketten bei Erstdiagnose

In dieser Studie konnte nachgewiesen werden, dass bei Patienten mit PTLD signifikant höhere FLK Konzentrationen vorliegen als bei entsprechend Kontrollen ohne PTLD. Eine Erhöhung vor allem der kFLK ist signifikant mit der Diagnose PTLD assoziiert. Somit konnten die Ergebnisse von Engels et al. bestätigt werden [93].

Grundsätzlich ist bei einer Erhöhung der FLK zwischen einer monoklonaler oder polyklonaler Erhöhung zu unterscheiden. Monoklonale Erhöhung setzt ein verändertes κ/λ Verhältnis voraus und eine Erhöhung einer und/oder beider FLK. Eine polyklonale Erhöhung geht ebenfalls mit einer Erhöhung einer/oder beider FLK einher, allerdings liegt das κ/λ Verhältnis im Referenzbereich. Jeweils die monoklonale als auch die polyklonale Erhöhung separat als auch kombiniert sind mit PTLD assoziiert, was ebenfalls den Untersuchungen von Engels et al. entspricht. In der Studie von Fernando et. al konnten diese Ergebnisse nicht bestätigt werden [94]. Allerdings ist diese Studie mit nur zehn Patienten sehr limitiert. Die FLK sind aufgrund der aktuellen Ergebnisse und der von Engels et. al als Diagnoseparameter durchaus als geeignet einzustufen.

Auffällig war, dass sowohl in der Fall- als auch in der Kontrollgruppe die Mediane der kombinierten FLK über dem oberen Referenzwert lagen. Daher wurde durch eine ROC

Analyse ein neuer Grenzwert berechnet, mit dem eine deutlich verbesserte OR erreicht werden konnte.

Zusätzlich wurde im Vergleich zu Engels et al. untersucht, ob eine Normierung der FLK Konzentrationen hinsichtlich der Nierenfunktion sinnvoll ist, da eine eingeschränkte Nierenfunktion häufig bei Patienten nach SOT vorliegt [98].

Wie bereits in Kapitel 1.2.1 erwähnt, werden die FLK von der Niere filtriert und somit ist die Konzentration von der Nierenfunktion abhängig [87]. Daher wurde in dieser Studie angenommen, dass durch eine Normierung anhand der Nierenfunktion der Nutzen der FLK weiter verbessert werden kann. Als Parameter für die Nierenfunktion wurde sich für Cystatin C entschieden, weil es nachweislich am besten mit der FLK Konzentration korreliert [70]. Als Grund dafür wird angenommen, dass Cystatin C und die FLK ungefähr dasselbe Molekulargewicht aufweisen. Für die normierten FLK Werte sind bisher noch keine Referenzbereiche vorhanden und es gibt bisher auch keine Studien im Zusammenhang mit PTLD. Deswegen wurde auch hier eine ROC-Analyse durchgeführt und ein entsprechender Grenzwert neu definiert. Die damit berechnete OR wurde noch einmal deutlich im Vergleich zu den vorigen Berechnungen verbessert. Der ermittelte Grenzwert besitzt eine Spezifität von 91%.

Es wurde ebenfalls der nierenfunktionsangepasste Referenzbereich für das κ/λ Verhältnis angewendet [67]. Hierdurch konnte im Gegensatz zum herkömmlichen Referenzbereich hinsichtlich der Monoklonalität eine bessere Diskrimination zwischen den beiden Gruppen erreicht werden. Es ist deshalb empfehlenswert, in nachfolgende Studien bei Patienten mit chronischer Nierenfunktionsstörung den angepassten Referenzbereich zu verwenden.

Natürlich ist es wichtig diese Ergebnisse nicht zu überschätzen, da sie von einer einzelnen Kohorte erhoben worden sind. Deswegen sind weitere Studien in diesem Kontext sehr wichtig, um den Stellenwert zu definieren und auch um den hier berechneten Grenzwert zu überprüfen.

Zur Erhöhung der FLK bei PTLD haben Engels et al. drei Hypothesen aufgestellt [93]:

1. Polyklonale Aktivierung von B-Zellen und damit verbundene polyklonale Produktion von FLK
2. Monoklonal proliferierende B-Lymphomzellen mit monoklonaler Produktion von FLK
3. EBV Proliferation bei EBV assoziierten Lymphomen

Es ist wichtig zu betonen, dass sich nicht um exklusive Hypothesen handelt.

Die ersten beiden Hypothesen können durch die Ergebnisse dieser Studie unterstützt werden, da sowohl polyklonale als auch monoklonale Erhöhungen nachweisbar waren. Die Produktion der polyklonalen FLKs erfolgt dabei wahrscheinlich nicht in den Lymphomzellen, sondern in B-Zellen, die durch eine vermehrte Aktivierung des Immunsystems stimuliert werden. Diese Erklärung geht auch mit Ergebnissen anderen Studien einher. So konnten unter HIV-Patienten auch erhöhte FLKs festgestellt werden, die ebenfalls mit dem Auftreten von Lymphomen verbunden waren [90]. Auch in einer Kohorte von Patienten mit chronisch lymphatischer Leukämie (CLL) waren in 28% der Patienten eine polyklonale Erhöhung nachweisbar, weswegen die Autoren auch hier eine chronische Überstimulation des Immunsystems annahmen [99, 100]. Bei Autoimmunerkrankungen, bei denen ebenfalls eine pathologische Stimulation des Immunsystems vorliegt, treten ebenfalls vermehrt polyklonale FLK auf und korrelieren mit der Krankheitsaktivität und dem Auftreten von Lymphomen [92]. Auch im Bereich von chronischen Infektionen wie Hepatitis C finden sich übereinstimmende Ergebnisse [101].

Die zweite Hypothese wird ebenfalls durch die vorliegenden Ergebnisse unterstützt. Allerdings sind die Daten unvollständig, ob histologisch eine Leichtkettenrestriktion vorliegt, sodass man keine sichere Auskunft über die Herkunft der monoklonalen FLK treffen kann. Bestätigt ist aber ein vermehrtes Auftreten von PTLD bei monoklonalen Erhöhungen wie es sich auch beim MM oder dem DLBCL findet [76, 87].

Zur dritten Hypothese kann anhand der vorliegenden Ergebnisse keine Aussage getroffen werden, da keine Daten zur Viruslast im Blut vorlagen. Allerdings konnte kein Unterschied zwischen histologisch EBV-positiver oder EBV-negativer PTLD gefunden werden.

Kritisch muss an der vorliegenden Studie beachtet werden, dass zwei Patienten mit der Diagnose Plasmozytom-ähnliche PTLD eingeschlossen wurden. Allerdings ist nur bei einem Patienten eine monoklonale Produktion von FLK nachweisbar gewesen und es konnten keine Knochenmarksbeteiligung oder osteolytischen Veränderungen nachgewiesen werden. Plasmozytom-ähnlichen PTLDs sind damit eher Lymphomen als Myelomen vergleichbar, was den Einschluss in diese Studie rechtfertigt [95].

4.2 Leichtketten-spezifische Immunglobuline zum Zeitpunkt der Diagnose

In dieser Arbeit wurden zum ersten Mal Leichtketten-spezifische Immunglobuline im Rahmen der Diagnose PTLD evaluiert. Dabei war von besonderem Interesse, ob hier eine grundsätzliche Assoziation besteht, wie diese bei Lymphomen immunkompetenter Patienten gelegentlich gefunden wird [85, 91]. Eine solche Assoziation konnte nicht nachgewiesen werden. Zwar war bei zwei PTLD Patienten ein verändertes Verhältnis nachweisbar, allerdings lag bei dem einen Patienten eine Plasmozytom-ähnliche PTLD vor. Zudem fand sich ein prozentual identer Anteil an veränderten Leichtketten-spezifischen Immunglobulin-Verhältnissen auch in der Kontrollpopulation.

4.3 Verlaufsparemeter

Erstmalig wurde auch die Beziehung zwischen den Konzentrationen der FLK und Leichtketten-spezifischen Immunglobulinen und dem Therapieansprechen untersucht. Dazu wurden die Patienten nach dem Stagingergebnis in zwei Gruppen unterteilt: In der CR-Gruppe kam es im Vergleich zum Zeitpunkt der Diagnosestellung zu einem signifikanten Abfall sowohl der FLK als auch der normierten FLK. In der SD/PD Gruppe konnte kein Unterschied zwischen den beiden Zeitpunkten festgestellt werden. Dadurch lässt sich ausschließen, dass der immunsuppressive Effekt der Chemotherapie einen Einfluss auf die FLK Konzentration hat. Vergleicht man beide Gruppen zum Zeitpunkt des Restagings miteinander, zeigen sich signifikant niedrigere FLK Konzentration in der CR-Gruppe. Dabei sind vor allem die kombinierten FLK hervorzuheben. Im Vergleich zur CR-Gruppe weist die SD/PD-Gruppe einen fast doppelt so hohen Median auf. Allerdings weisen die Patienten der SD/PD-Gruppe auch eine signifikant schlechtere Nierenfunktion auf, so dass auch hier eine Normierung der FLK Werte angebracht ist.

Bei den normierten FLK Werten geht die Signifikanz verloren, allerdings ist ein deutlicher Trend sichtbar. Außerdem ist bei so kleinen Patientenzahlen (CR-Gruppe: N=8, SD/PD-Gruppe: N=6) nur schwer Signifikanz zu erreichen, sodass der p-Wert von 0.057 bei den normierten FLK möglicherweise höher zu bewerten ist.

Interessant ist auch die Anwendung der neu ermittelten Grenzwerte. Bei Anwendung des kFLK Grenzwertes von 63.1 mg/l weisen alle Patienten der SD/PD-Gruppe zum Zeitpunkt des Restagings Werte darüber auf. Im Gegensatz dazu in dies nur bei einem Patienten in der

CR-Gruppe der Fall. Filippi et al. führten ebenfalls eine neue Grenzwertberechnung in einer Kohorte aus Hodgkinlymphom-Patienten durch und erhielten einen Wert von 57,1 mg/l für die kFLK. Auch hier wiesen signifikant mehr Patienten in der Progressionsgruppe Werte über dem Grenzwert auf als in der CR-Gruppe. In einer multivarianten Analyse konnte der Grenzwert zu dem als Prognosefaktor für das OS identifiziert werden [102]. Für die normierten FLK liegen zu diesem Thema bisher keine Studien vor.

Zusammenfassend sollte man die Ergebnisse dieser Studie hinsichtlich des Therapiemonitorings zwar nicht überbewerten, allerdings zeigen sie ein mögliches Potential vor allem der kFLK als Marker zur Therapieüberwachung auf, sodass weitere Studien in diesem Bereich empfehlenswert sind.

Die Leichtketten-spezifischen Immunglobuline IgG κ , IgG λ und IgM κ waren in der CR-Gruppe zum Zeitpunkt des Restaging signifikant niedriger. Allerdings lagen alle Mediane innerhalb des Referenzbereiches, sodass der Nutzen wahrscheinlich als gering zu beurteilen ist. In der SD/PD-Gruppe konnten keine Veränderungen nachgewiesen werden. Im Vergleich der beiden Gruppen zum Zeitpunkt des Restagings waren keine deutlichen Unterschiede nachweisbar und alle Mediane lagen nach wie vor im Referenzbereich. Hinsichtlich der Verhältnisse zwischen den Leichtketten-spezifischen Immunglobulinen war ebenfalls keine Veränderung nachweisbar. Dieser Marker wurde durch andere Studien als negativer Prognosefaktor identifiziert [91, 84].

Insgesamt kann an Hand der vorliegenden Ergebnisse kein Nutzen der Leichtketten-spezifischen Immunglobuline hinsichtlich der Therapieüberwachung nachgewiesen werden.

4.4 Ausblick

Zusammenfassend konnte in der aktuellen Studie kein Nutzen für die Bestimmung Leichtketten-spezifischer Immunglobulinen hinsichtlich Diagnose oder Therapieüberwachung bei PTLD nachgewiesen werden. Die Studie zeigt allerdings, dass die Messung der FLK Konzentrationen in der Diagnose und Therapieüberwachung eine Rolle spielen kann. Um den diagnostischen Wert zu erhöhen, sollte eine Normierung hinsichtlich der Nierenfunktion stattfinden. Außerdem sollte zu Erkennung von monoklonalen Veränderungen der nierenfunktionsangepasste Referenzbereich verwendet werden.

Größere und prospektive Studien sind erforderlich, um die Ergebnisse zu bestätigen und den Stellenwert freier Leichtkettenmessungen bei PTLD weiter zu definieren.

5. Zusammenfassung

Posttransplantationslymphome sind eine der häufigsten Komplikationen nach solider Organtransplantation. Die Früherkennung ist oft schwierig. In der vorliegenden Doktorarbeit wurde deshalb untersucht, ob sich freie Leichtketten und Leichtketten-spezifische Immunglobuline als (zusätzliche) diagnostische Parameter bei

Posttransplantationslymphomen eignen. Dafür wurde die Konzentration freier Leichtketten und Leichtketten-spezifischer Immunglobuline bei 20 Patienten mit Erstdiagnose eines Posttransplantationslymphoms gemessen. Die Ergebnisse wurden verglichen mit den Werten von 90 organtransplantierten Kontrollen mit ähnlicher Basischarakteristik. Beide Kohorten wiesen erhöhte polyklonale freie Leichtketten Konzentrationen auf. Allerdings waren die polyklonalen freien Leichtketten in der Gruppe der Posttransplantationslymphom-Patienten signifikant höher. Zusätzlich fiel in beiden Gruppen eine schlechte Nierenfunktion auf. Da die Konzentration der freien Leichtketten von der Nierenfunktion abhängig ist, erfolgte der Versuch einer Normierung der Messwerte über die Serum Cystatin C-Konzentration.

Hierdurch konnte die Signifikanz der Ergebnisse weiter verbessert werden. Die Konzentration der freien Leichtketten bei Patienten mit Posttransplantationslymphomen korreliert zudem mit dem Verlauf: Bei Patienten in kompletter Remission nach Therapie konnten deutlich niedrigere freie Leichtketten Konzentrationen nachgewiesen werden als bei Patienten, die nicht auf die Therapie angesprochen hatten.

Hinsichtlich der Leichtketten-spezifischen Immunglobuline konnten hingegen keine Unterschiede zwischen den Kohorten festgestellt werden.

Damit stellen polyklonale Freie Leichtketten einen potentiellen Biomarker bei Posttransplantationslymphomen dar, wobei eine prospektive Bestätigung der Ergebnisse erforderlich ist.

6. Literaturverzeichnis

1. DSO (2018). <https://www.dso.de/organspende-und-transplantation/transplantation.html>
2. Wareham NE, Da Cunha-Bang C, Borges ÁH et al. (2018) Classification of death causes after transplantation (CLASS): Evaluation of methodology and initial results. *Medicine* 97(29): e11564
3. Grulich AE, van Leeuwen MT, Falster MO et al. (2007) Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients. A meta-analysis. *The Lancet* 370(9581): 59–67
4. Vajdic CM, Leeuwen, Marina T. van (2009) Cancer incidence and risk factors after solid organ transplantation. *International Journal of Cancer* 125
5. Engels EA, Pfeiffer RM, Fraumeni JF et al. (2011) Spectrum of cancer risk among US solid organ transplant recipients. *JAMA* 306(17): 1891–1901
6. Hall EC, Pfeiffer RM, Segev DL et al. (2013) Cumulative incidence of cancer after solid organ transplantation. *Cancer* 119(12): 2300–2308
7. Euvrard S, Kaniakakis J, Claudy A (2003) Skin cancers after organ transplantation. *The New England journal of medicine* 348(17): 1681–1691
8. Siegel RL, Miller KD, Jemal A (2016) Cancer statistics, 2016. *CA: a cancer journal for clinicians* 66(1): 7–30
9. Doak PB, Montgomerie JZ, North JD et al. (1968) Reticulum cell sarcoma after renal homotransplantation and azathioprine and prednisone therapy. *British medical journal* 4(5633): 746–748
10. Clarke CA, Morton LM, Lynch C et al. (2013) Risk of lymphoma subtypes after solid organ transplantation in the United States. *British Journal of Cancer* 109(1): 280
11. Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson DT et al. (2004) Cancer after kidney transplantation in the United States. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 4(6): 905–913
12. Andreone P, Gramenzi A, Lorenzini S et al. (2003) Posttransplantation lymphoproliferative disorders. *Archives of internal medicine* 163(17): 1997–2004

13. Jiang Y, Villeneuve PJ, Fenton SSA et al. (2008) Liver transplantation and subsequent risk of cancer: findings from a Canadian cohort study. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 14(11): 1588–1597
14. Busnach G, Piselli P, Arbustini E et al. (2006) Immunosuppression and cancer: A comparison of risks in recipients of organ transplants and in HIV-positive individuals. *Transplantation proceedings* 38(10): 3533–3535
15. Opelz G, Döhler B (2004) Lymphomas After Solid Organ Transplantation. A Collaborative Transplant Study Report. *American Journal of Transplantation* 4(2): 222–230
16. Zimmermann H, Trappe RU (2011) Therapeutic options in post-transplant lymphoproliferative disorders. *Therapeutic advances in hematology* 2(6): 393–407
17. Trappe R, Oertel S, Riess H (2006) Pathogenese, Klinik, Diagnostik und Therapie transplantationsassoziierter lymphoproliferativer Erkrankungen. *Deutsches Ärzteblatt* 103(48): 3259–3267
18. Bakker NA, van Imhoff GW, Verschuuren EAM et al. (2005) Early onset post-transplant lymphoproliferative disease is associated with allograft localization. *Clinical transplantation* 19(3): 327–334
19. Ciancio G, Siquijor AP, Burke GW, Roth D, Cirocco R, Esquenazi V, Byrne GE Jr, Miller J (1997) Post-transplant lymphoproliferative disease in kidney transplant patients in the new immunosuppressive era. *Clinical transplantation* 11(3)
20. Birkeland SA, Andersen HK, Hamilton-Dutoit SJ (1999) Preventing acute rejection, Epstein-Barr virus infection, and posttransplant lymphoproliferative disorders after kidney transplantation: use of aciclovir and mycophenolate mofetil in a steroid-free immunosuppressive protocol. *Transplantation* 22(5): 1209–1214
21. Gao S-Z, Chaparro SV, Perlroth M et al. (2003) Post-transplantation lymphoproliferative disease in heart and heart–lung transplant recipients. 30-year experience at Stanford University. *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 22(5): 505–514

22. Trappe R, Oertel S, Leblond V et al. (2012) Sequential treatment with rituximab followed by CHOP chemotherapy in adult B-cell post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD). The prospective international multicentre phase 2 PTLD-1 trial. *The Lancet Oncology* 13(2): 196–206
23. Choquet S, Leblond V, Herbrecht R et al. (2006) Efficacy and safety of rituximab in B-cell post-transplantation lymphoproliferative disorders: results of a prospective multicenter phase 2 study. *Blood* 107(8): 3053–3057
24. Epstein MA, Achong BG, Barr YM (1964) VIRUS PARTICLES IN CULTURED LYMPHOBLASTS FROM BURKITT'S LYMPHOMA. *The Lancet* 283(7335): 702–703
25. ZIEGLER J (1982) OUTBREAK OF BURKITT'S-LIKE LYMPHOMA IN HOMOSEXUAL MEN. *The Lancet* 320(8299): 631–633
26. Hanto DW, Frizzera G, Gajl-Peczalska KJ, Simmons RL (1985) Epstein-Barr virus, immunodeficiency, and B cell lymphoproliferation. *Transplantation* 39(5): 461–472
27. Balfour HH, Odumade OA, Schmeling DO et al. (2013) Behavioral, virologic, and immunologic factors associated with acquisition and severity of primary Epstein-Barr virus infection in university students. *The Journal of infectious diseases* 207(1): 80–88
28. Rickinson AB, Moss DJ (1997) Human cytotoxic T lymphocyte responses to Epstein-Barr virus infection. *Annual review of immunology* 15: 405–431
29. Miyashita EM, Yang B, Lam KMC et al. (1995) A novel form of Epstein-Barr virus latency in normal B cells in vivo. *Cell* 80(4): 593–601
30. Cohen JI (2000) Epstein–Barr Virus Infection. *N Engl J Med* 343(7): 481–492
31. Khan G, Miyashita EM, Yang B et al. (1996) Is EBV Persistence In Vivo a Model for B Cell Homeostasis? *Immunity* 5(2): 173–179
32. Babcock GJ, Decker LL, Freeman RB et al. (1999) Epstein-Barr Virus-Infected Resting Memory B Cells, Not Proliferating Lymphoblasts, Accumulate in the Peripheral Blood of Immunosuppressed Patients. *Journal of Experimental Medicine* 190(4): 567–576

33. Dierickx D, Habermann TM (2018) Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorders in Adults. *The New England journal of medicine* 378(6): 549–562
34. Liebowitz D (1998) Epstein–Barr Virus and a Cellular Signaling Pathway in Lymphomas from Immunosuppressed Patients. *N Engl J Med* 338(20): 1413–1421
35. Mosialos G, Birkenbacht M, Yalamanchill R et al. (1995) The Epstein-Barr virus transforming protein LMP1 engages signaling proteins for the tumor necrosis factor receptor family. *Cell* 80(3): 389–399
36. Deutsches Ärzteblatt: Abbildung.
<https://www.aerzteblatt.de/callback/image.asp?id=16910>
37. Luskin MR, Heil DS, Tan KS et al. (2015) The Impact of EBV Status on Characteristics and Outcomes of Posttransplantation Lymphoproliferative Disorder. *Am. J. Transplant.* 15(10): 2665–2673
38. van Leeuwen MT, Grulich AE, Webster AC et al. (2009) Immunosuppression and other risk factors for early and late non-Hodgkin lymphoma after kidney transplantation. *Blood* 114(3): 630–637
39. Cockfield SM (2001) Identifying the patient at risk for post-transplant lymphoproliferative disorder. *Transplant Infect Dis* 3(2): 70–78
40. Walker RC, Marshall WF, Strickler JG et al. (1995) Pretransplantation Assessment of the Risk of Lymphoproliferative Disorder. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 20(5): 1346–1353
41. Mucha K, Foronczewicz B, Ziarkiewicz-Wróblewska B et al. (2010) Post-transplant lymphoproliferative disorder in view of the new WHO classification: a more rational approach to a protean disease? *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 25(7): 2089–2098
42. Morton LM, Wang SS, Devesa SS et al. (2006) Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood* 107(1): 265–276
43. Trappe RU, Choquet S, Dierickx D et al. (2015) International prognostic index, type of transplant and response to rituximab are key parameters to tailor treatment in adults with CD20-positive B cell PTLN: clues from the PTLN-1 trial. *American*

- journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons 15(4): 1091–1100
44. Leblond V, Dhedin N, Mamzer Bruneel MF, Choquet S, Hermine O, Porcher R, Nguyen Quoc S, Davi S, Charlotte F, Dorent R, Barrou B, Vernant JP, Raphael M, Levy V (2001) Identification of Prognostic Factors in 61 Patients With Posttransplantation Lymphoproliferative Disorders. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 19(3): 772–778
 45. Oertel SHK, Verschuuren E, Reinke P et al. (2005) Effect of anti-CD 20 antibody rituximab in patients with post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD). *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 5(12): 2901–2906
 46. Zimmermann H, Trappe RU (2013) EBV and posttransplantation lymphoproliferative disease: what to do? *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program* 2013: 95–102
 47. Preiksaitis JK, Keay S (2001) Diagnosis and management of posttransplant lymphoproliferative disorder in solid-organ transplant recipients. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 33 Suppl 1: 46
 48. Rooney CM, Loftin SK, Holladay MS et al. (1995) Early identification of Epstein-Barr virus-associated post-transplantation lymphoproliferative disease. *British journal of haematology* 89(1): 98–103
 49. Yancoski J, Danielian S, Ibañez J et al. (2004) Quantification of Epstein-Barr virus load in Argentinean transplant recipients using real-time PCR. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 31(1): 58–65
 50. Starzl TE, Nalesnik MA, Porter KA et al. (1984) Reversibility of lymphomas and lymphoproliferative lesions developing under cyclosporin-steroid therapy. *Lancet (London, England)* 1(8377): 583–587

51. Reshef R, Vardhanabhuti S, Luskin MR et al. (2011) Reduction of immunosuppression as initial therapy for posttransplantation lymphoproliferative disorder(★). American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons 11(2): 336–347
52. Swinnen LJ, LeBlanc M, Grogan TM et al. (2008) Prospective study of sequential reduction in immunosuppression, interferon alpha-2B, and chemotherapy for posttransplantation lymphoproliferative disorder. Transplantation 86(2): 215–222
53. González-Barca E, Domingo-Domenech E, Capote FJ et al. (2007) Prospective phase II trial of extended treatment with rituximab in patients with B-cell post-transplant lymphoproliferative disease. Haematologica 92(11): 1489–1494
54. Trappe RU, Dierickx D, Reinke P, et al. (30) Interim analysis of the largest prospective trial to date in adult CD20-positive posttransplant lymphoproliferative disorder (PTLD): introducing risk-stratified sequential treatment (RSST) [abstract]. ASCO Meeting Abstracts 2012(15): 8030
55. Dierickx D, Tousseyn T, Sagaert X et al. (2013) Single-center analysis of biopsy-confirmed posttransplant lymphoproliferative disorder: incidence, clinicopathological characteristics and prognostic factors. Leukemia & lymphoma 54(11): 2433–2440
56. Evens AM, David KA, Helenowski I et al. (2010) Multicenter analysis of 80 solid organ transplantation recipients with post-transplantation lymphoproliferative disease: outcomes and prognostic factors in the modern era. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology 28(6): 1038–1046
57. Leblond V, Dhedin N, Mamzer Bruneel MF et al. (2001) Identification of prognostic factors in 61 patients with posttransplantation lymphoproliferative disorders. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology 19(3): 772–778
58. Tsai DE, Hardy CL, Tomaszewski JE et al. (2001) Reduction in immunosuppression as initial therapy for posttransplant lymphoproliferative

- disorder: analysis of prognostic variables and long-term follow-up of 42 adult patients. *Transplantation* 71(8): 1076–1088
59. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project (1993) A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. *The New England journal of medicine* 329(14): 987–994
 60. Ghobrial IM, Habermann TM, Maurer MJ et al. (2005) Prognostic analysis for survival in adult solid organ transplant recipients with post-transplantation lymphoproliferative disorders. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 23(30): 7574–7582
 61. Macintyre W (1850) Case of Mollities and Fragilitas Ossium, accompanied with urine strongly charged with animal matter. *Medico-chirurgical transactions* 33: 211–232
 62. Jones HB (1847) *Papers on Chemical Pathology, Lectur III*. *Lancet*
 63. Kyle RA (1994) Multiple myeloma: how did it begin? *Mayo Clinic proceedings* 69(7): 680–683
 64. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP et al. (2001) Highly Sensitive, Automated Immunoassay for Immunoglobulin Free Light Chains in Serum and Urine. *Clinical Chemistry* 47(4): 673–680
 65. MD_Freie_Leichtketten_und_Schwer_Leichtketten_Serum_Assays_verstehen
 66. Waldmann TA, Strober W, Mogielnicki RP (1972) The renal handling of low molecular weight proteins. II. Disorders of serum protein catabolism in patients with tubular proteinuria, the nephrotic syndrome, or uremia. *The Journal of clinical investigation* 51(8): 2162–2174
 67. Katzmann JA, Clark RJ, Abraham RS et al. (2002) Serum Reference Intervals and Diagnostic Ranges for Free κ and Free λ Immunoglobulin Light Chains: Relative Sensitivity for Detection of Monoclonal Light Chains. *Clinical Chemistry* 48(9): 1437–1444
 68. Christensen EI, Birn H, Storm T et al. (2012) Endocytic receptors in the renal proximal tubule. *Physiology (Bethesda, Md.)* 27(4): 223–236

69. Solomon A (1985) Light chains of human immunoglobulins. *Methods in enzymology* 116: 101–121
70. Hutchison CA, Harding S, Hewins P et al. (2008) Quantitative Assessment of Serum and Urinary Polyclonal Free Light Chains in Patients with Chronic Kidney Disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 3(6): 1684–1690
71. Bradwell AR, Harding SJ, Fourrier NJ et al. (2009) Assessment of monoclonal gammopathies by nephelometric measurement of individual immunoglobulin kappa/lambda ratios. *Clinical chemistry* 55(9): 1646–1655
72. Binding Site | Was ist Hevylite? <https://www.bindingsite.com/de-de/our-products/freelite-and-hevylite/hevylite/what-is-hevylite/what-is-hevylite>
73. Kyle RA, Rajkumar SV (2006) Monoclonal gammopathy of undetermined significance. *British journal of haematology* 134(6): 573–589
74. van Zaanen HC, Diderich PP, Pegels JG et al. (2000) Nierinsufficiëntie door neerslag van lichte ketens bij multipel myeloom. *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde* 144(45): 2133–2137
75. Bradwell AR (2010) Serum Free Light Chain Analysis (plus Hevylite), 6th ed. Binding Site, Birmingham
76. Jeong T-D, Kim SY, Jang S et al. (2013) Diagnostic sensitivity of a panel of tests to detect monoclonal protein in Korean multiple myeloma patients. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC* 51(8): 9
77. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP et al. (2003) Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma. *The Lancet* 361(9356): 489–491
78. van Rhee F, Bolejack V, Hollmig K et al. (2007) High serum-free light chain levels and their rapid reduction in response to therapy define an aggressive multiple myeloma subtype with poor prognosis. *Blood* 110(3): 827–832
79. Bladé J, Kyle RA (1999) Nonsecretory myeloma, immunoglobulin D myeloma, and plasma cell leukemia. *Hematology/oncology clinics of North America* 13(6): 1259–1272
80. Drayson M (2001) Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood* 97(9): 2900–2902

81. Lonial S, Kaufman JL (2013) Non-secretory myeloma: a clinician's guide. *Oncology* (Williston Park, N.Y.) 27(9): 924
82. Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G et al. (2009) International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 23(2): 215–224
83. Mead GP, Carr-Smith HD, Drayson MT et al. (2004) Serum free light chains for monitoring multiple myeloma. *British journal of haematology* 126(3): 348–354
84. Ludwig H, Milosavljevic D, Zojer N et al. (2013) Immunoglobulin heavy/light chain ratios improve paraprotein detection and monitoring, identify residual disease and correlate with survival in multiple myeloma patients. *Leukemia* 27(1): 213–219
85. Bradwell A, Harding S, Fourrier N et al. (2013) Prognostic utility of intact immunoglobulin Ig'κ/Ig'λ ratios in multiple myeloma patients. *Leukemia* 27(1): 202–207
86. Greipp PR, San Miguel J, Durie BGM et al. (2005) International staging system for multiple myeloma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 23(15): 3412–3420
87. Maurer MJ, Micallef INM, Cerhan JR et al. (2011) Elevated serum free light chains are associated with event-free and overall survival in two independent cohorts of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 29(12): 1620–1626
88. Kim YR, Kim S-J, Cheong J-W et al. (2014) Monoclonal and polyclonal gammopathy measured by serum free light chain and immunofixation subdivide the clinical outcomes of diffuse large B-cell lymphoma according to molecular classification. *Annals of hematology* 93(11): 1867–1877
89. Han X, Wang J, Zhang N et al. (2014) The prognostic utility and the association of serum light chains (free and total) and absolute lymphocyte count in patients with newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia research* 38(11): 1291–1298

90. Landgren O, Goedert JJ, Rabkin CS et al. (2010) Circulating serum free light chains as predictive markers of AIDS-related lymphoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 28(5): 773–779
91. Jardin F, Delfau-Larue MH, Molina TJ et al. (2013) Immunoglobulin heavy chain/light chain pair measurement is associated with survival in diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia & lymphoma* 54(9): 1898–1907
92. Gottenberg J-E, Aucouturier F, Goetz J et al. (2007) Serum immunoglobulin free light chain assessment in rheumatoid arthritis and primary Sjogren's syndrome. *Annals of the rheumatic diseases* 66(1): 23–27
93. Engels EA, Preiksaitis J, Zingone A et al. (2012) Circulating antibody free light chains and risk of posttransplant lymphoproliferative disorder. *Am. J. Transplant.* 12(5): 1268–1274
94. Fernando RC, Rizzatti EG, Braga WMT et al. (2013) Serum free light chains and post-transplant lymphoproliferative disorder in patients with renal transplant. *Leuk. Lymphoma* 54(10): 2177–2180
95. Trappe R, Zimmermann H, Fink S et al. (2011) Plasmacytoma-like post-transplant lymphoproliferative disorder, a rare subtype of monomorphic B-cell post-transplant lymphoproliferation, is associated with a favorable outcome in localized as well as in advanced disease: a prospective analysis of 8 cases. *Haematologica* 96(7): 1067–1071
96. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP et al. (2001) Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem* 47(4): 673–680
97. (2020) Binding Site | Was ist Freelite. <https://www.bindingsite.com/de-de/our-products/freelite-and-hevylite/freelite/overview/what-is-freelite>
98. Bargnoux A-S, Simon N, Garrigue V et al. (2013) Glomerular filtration rate as a determinant of free light chains in renal transplantation. *Clinical biochemistry* 46(16-17): 1764–1766

99. Tsai H-T, Caporaso NE, Kyle RA et al. (2009) Evidence of serum immunoglobulin abnormalities up to 9.8 years before diagnosis of chronic lymphocytic leukemia: a prospective study. *Blood* 114(24): 4928–4932
100. Maurer MJ, Cerhan JR, Katzmman JA et al. (2011) Monoclonal and polyclonal serum free light chains and clinical outcome in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 118(10): 2821–2826
101. Terrier B, Sène D, Saadoun D et al. (2009) Serum-free light chain assessment in hepatitis C virus-related lymphoproliferative disorders. *Annals of the rheumatic diseases* 68(1): 89–93
102. De Filippi R, Morabito F, Corazzelli G, Russo F, Calemma R, Iaccarino G et al. (2012) Use of the cumulative amount of serum-free light chains (sFLC) at diagnosis and PET2 for the early identification of high risk of treatment failure in Hodgkin lymphoma (cHL). *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 30: 8083

7. Anhang

7.1 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: WHO Klassifikation PTLD [36]	6
Tabelle 2: Ann Arbor Klassifikation	7
Tabelle 3: Referenzwerte Freie Leichtketten und Leichtketten-spezifische Immunglobuline.	20
Tabelle 4: Charakteristika der Patientenkollektive	22
Tabelle 5: Freie Leichtketten PTLD-Patienten/Kontrollpatienten	23
Tabelle 6: Normierte FLK PTLD-/Kontrollpatienten	24
Tabelle 7: Vergleich PTLD-/Kontrollpatienten unter Ausschluss monoklonaler Veränderungen	24
Tabelle 8: Logistische Regression Freie Leichtketten	25
Tabelle 9: ROC-Analyse FLK.....	26
Tabelle 10: Logistische Regression anhand neuer Grenzwerte.....	26
Tabelle 11: FLK bei Patienten mit polyklonalen Veränderungen (normiert durch Cystatin C)	27
Tabelle 12: ROC-Analyse Cystatin C normierter FLK bei Patienten mit polyklonalen Veränderungen	27
Tabelle 13: Logistische Regression für Cystatin C normierte FLK-Werte.....	27
Tabelle 14: Leichtketten-spezifische Immunglobuline PTLD-Patienten vs. Kontrollpatienten	29
Tabelle 15: Logistische Regression Leichtketten-spezifische Immunglobuline.....	29
Tabelle 16: Assoziation PTLD und polyklonale Leichtketten-spezifische Immunglobuline Veränderungen	30
Tabelle 17: Vergleich Prä-/Posttherapie, Patienten in kompletter Remission	31
Tabelle 18: Vergleich Prä-/Posttherapie, Patienten in kompletter Remission, FLK normiert auf Cystatin C	32
Tabelle 19: Prä-/Posttherapie Vergleich, SD/PD Gruppe	32
Tabelle 20: Vergleich Posttherapie der PD/SD-Gruppe mit CR-Gruppe	33

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Vereinfachtes Modell zur Darstellung der Pathogenese EBV assoziierte PTLD mit freundlicher Genehmigung des deutschen Ärzteblatt [36]	4
Abbildung 2: Aufbau und Struktur eines Antikörpers mit freundlicher Genehmigung von Myelom Deutschland [65].....	11
Abbildung 3: Unterscheidung des Leichtkettentyps der jeweiligen Immunoglobulinklasse Antikörpers mit freundlicher Genehmigung von The Binding Site [72]	12
Abbildung 4: Zielepitope der Freien Leichtkette Antikörper Antikörpers mit freundlicher Genehmigung von The Binding Site [97]	17
Abbildung 5: Epitope an der Verbindungsstelle zwischen den konstanten Regionen der schweren und der leichten Kette, welche von den Antikörpern gebunden werden. Antikörpers mit freundlicher Genehmigung von The Binding Site [72]	19
Abbildung 6: Boxplot FLK Kappa.....	25
Abbildung 7: Therapieverlauf Patient mit kompletter Remission	34
Abbildung 8: Therapieverlauf Patient mit Rezidiv	35

7.3 Abkürzungsverzeichnis

AK	Antikörper
AUC	Area under the curve
Da	Dalton
CLL	Chronisch lymphatische Leukämie
CR	Komplette Remission
DLBCL	Diffus großzelliges B-Zell Lymphom
EBV	Eppstein-Barr Virus
EFS	Event free survival
FLK	Freie Leichtketten
HLC	Leichtketten spezifisches Immunglobuline
IPI	international prognostic index
ISS	Internationes Staging System
K	Kappa
Λ	Lambda
kFLK	kombinierte FLK
LKMM	Leichtketten Multiples Myelom
LMP-1	Latentes Membranprotein 1
MGUS	Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz
MM	Multiples Myelom
NHL	Non-Hodgkin-Lymphome
NF- κ B	Nukleärer Faktor der Leichtkette Kappa der aktivierten B-Zelle
NSMM	Nicht Sekretorisches Multiples Myelom
OR	Odds Ratio
OS	Overall survival
PTLD	Posttransplantationslymphom
ROC	Grenzwertoptimierungskurve
SD	Stable Disease
SOT	Solide Organtransplantation
TNF	Tumornekrosefaktor
V. a.	Verdacht auf

Veröffentlichung

Borrows, R.* Scheer, A.* Cockwell, P., Braun F., Anagnostopoulos I., Riess H., Zimmermann H., Trappe R. U. (2019). Serum-free light chains adjusted for renal function are a potential biomarker for post-transplant lymphoproliferative disorders. *Annals of Hematology* 98, 625–632.

*gleichberechtigte Erstautoren

8. Danksagung

Eigentlich dankt man natürlich zuerst seinem Doktorvater, doch ich muss hier eine Ausnahme machen. Mein größter Dank gilt meiner Mutter, der ich versprochen habe, die Doktorarbeit zu Ende zu bringen. Ich bin sehr traurig, dass sie diesen Tag nicht mehr mit mir gemeinsam erleben kann, deswegen widme ich ihr auch diese Arbeit. Du wirst immer mein größtes Vorbild bleiben!

Mein großer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. med. Ralf Ulrich Trappe, welcher mir durch die Idee der Doktorarbeit nicht nur einen wissenschaftlichen Aufenthalt in Birmingham Großbritannien ermöglicht hat, sondern mir auch all die Jahre mit seinem Fachwissen, Ideenreichtum und Beharrlichkeit immer mit Rat und Tat zur Seite stand.

Besonders hervorzuheben ist Herr Dr. Richard Borrows, der mir sowohl während des Aufenthaltes in Birmingham als auch aus der Ferne immer mit seiner unermüdlichen und aufschlussreichen Hilfe zur Seite stand.

Danken möchte ich auch der PTLD Studiengruppe dabei insbesondere Herrn PD Dr. med. Heiner Zimmermann und Bettina Freymark.

Ein großer Dank gilt auch der Firma The Binding Site, vor allem Anne Burmeister. Ohne Bereitstellung der Geräte und Materialien wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Zuletzt geht mein besonderer Dank an meinen Mann Paul, meine Familie und Freunde. Dabei insbesondere meinem Vater, der es immer Verstand, mich zum “Weitermachen” zu motivieren, Miri für die vielen schönen Tage zusammen in der Bibliothek und Markus, der mir als “richtiger” Wissenschaftler immer geholfen hat.

Vielen Dank!