

Aus der Medizinischen Klinik für Rheumatologie und Immunologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Therapieeffizienz bei idiopathischer retroperitonealer Fibrose  
unter Berücksichtigung von IgG4-assoziierten Erkrankungen

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Caroline Lüllwitz, geb. Kumpert

aus Magdeburg

Datum der Promotion: 03. Dezember 2021

## **Inhaltsverzeichnis**

Abbildungsverzeichnis .....	5
Tabellenverzeichnis.....	6
Abkürzungsverzeichnis .....	7
Abstract auf Deutsch .....	9
Abstract in English.....	11
1. Einleitung .....	12
1.1 Definition der retroperitonealen Fibrose .....	12
1.2 IgG4-assoziierte Erkrankungen .....	12
1.3 Einteilung der retroperitonealen Fibrose .....	13
1.4 Pathogenese der retroperitonealen Fibrose.....	14
1.5 Diagnostik der retroperitonealen Fibrose .....	15
1.5.1 Radiologische Diagnostik.....	15
1.5.2 Histologische Diagnostik.....	16
1.5.3 Laborchemische Diagnostik .....	17
1.6 Klinische Merkmale der retroperitonealen Fibrose .....	18
1.6.1 Differenzierung der retroperitonealen Fibrose anhand der klinischen Beschwerden .....	19
1.6.2 Mit retroperitonealer Fibrose assoziierte Erkrankungen .....	19
1.7 Therapie der retroperitonealen Fibrose .....	20
1.8 Zielsetzung der Arbeit .....	22
2. Methoden.....	23
2.1 Ein- und Ausschlusskriterien der Probanden.....	23
2.2 Therapie mit Cyclophosphamid .....	23

2.3 Laborparametererfassung .....	24
2.4 Radiologische Befunde mittels CT und MRT .....	24
2.4.1 Volumenerfassung der retroperitonealen Fibrose.....	25
2.5 Histologische Analysen der retroperitonealen Fibrose.....	26
2.5.1 Hämatoxylin-Eosin-Färbung .....	26
2.5.2 CD 138 Färbung.....	26
2.5.3 IgG4-Färbung.....	27
2.6 Bestimmung der IgG4-Konzentration im Serum.....	27
2.6.1 Durchführung Enzym-linked Immunosorbent Assay .....	28
2.7 Statistische Analyse.....	29
3. Ergebnisse .....	30
3.1 Patientenkollektiv .....	30
3.2 Biopsien der PatientInnen mit retroperitonealer Fibrose.....	31
3.3 Konzentrationsbestimmung von IgG4 mittels ELISA.....	31
3.4 Entzündungsparameter .....	33
3.4.1 Konzentration des C-reaktiven Proteins im Serum.....	33
3.4.2 Blutsenkungsgeschwindigkeit .....	34
3.5 Nierenfunktionsparameter .....	35
3.5.1 Kreatininkonzentration im Serum.....	35
3.5.2 Harnstoffkonzentration im Serum .....	36
3.6 Blutbild.....	37
3.6.1 Leukozytenkonzentration im Blut .....	37
3.6.2 Hämoglobinkonzentration im Blut .....	38
3.6.3 Thrombozytenkonzentration im Blut.....	40

3.7 Volumenausdehnung der retroperitonealen Fibrose.....	41
3.8 Therapie der einzelnen PatientInnen .....	44
3.9 Berücksichtigung weiterer Merkmale unter Therapie .....	46
3.9.1 Volumenausdehnung bei PatientInnen mit retroperitonealer Fibrose und Aneurysma .....	46
3.9.2 Volumenausdehnung unter der Berücksichtigung des ANA-Titers .....	47
4. Diskussion.....	49
4.1 Epidemiologie.....	49
4.2 IgG4-Konzentration im Serum und in der Biopsie.....	49
4.3 C-reaktives Protein und Blutsenkungsgeschwindigkeit .....	51
4.4 Blutbild.....	52
4.4.1 Leukozytenkonzentration.....	52
4.4.2 Hämoglobinkonzentration .....	53
4.4.3 Thrombozytenkonzentration .....	53
4.5 Nierenfunktionsparameter .....	53
4.6 Volumenausdehnung im Therapieverlauf .....	55
4.7 Therapie der retroperitonealen Fibrose .....	56
4.8 Limitationen des Studiendesigns .....	56
4.9 Zusammenfassung und Ausblick.....	57
5. Literaturverzeichnis.....	59
6. Eidesstattliche Versicherung .....	63
7. Tabellarischer Lebenslauf .....	65
8. Publikationsliste .....	66
9. Danksagung.....	67

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abb. 1:</b> Schematische Darstellung typischer Lokalisation der retroperitonealen Fibrose (RPF).	16
<b>Abb. 2:</b> Beispiel einer CT-Aufnahme während Probenentnahme bei einem Patienten mit RPF.	25
<b>Abb. 3:</b> Vergleich der verschiedenen histologischen Färbungen der retroperitonealen Fibrose.	27
<b>Abb. 4:</b> Darstellung des Prinzips beim ELISA.	28
<b>Abb. 5:</b> Flussdiagramm zur Patientenauswahl.	30
<b>Abb. 6:</b> Demographische Analyse.	31
<b>Abb. 7:</b> Verteilung des Vorkommens des IgG4 Status bei n=19 PatientInnen mit RPF nach Biopsieanalyse.	31
<b>Abb. 8:</b> Initiale IgG4-Konzentrationen in mg/dl.	32
<b>Abb. 9:</b> CRP-Konzentrationen in mg/dl über den Therapiezeitraum.	34
<b>Abb. 10:</b> BSG in mm nach Westergren über den Therapiezeitraum (n=17).	35
<b>Abb. 11:</b> Kreatininkonzentration in mg/dl über den Therapiezeitraum.	36
<b>Abb. 12:</b> Harnstoffkonzentrationen in g/dl über den Therapiezeitraum.	37
<b>Abb. 13:</b> Leukozytenkonzentrationen (Zellen/nl) über den Therapiezeitraum.	38
<b>Abb. 14:</b> Hämoglobinkonzentrationen in g/dl über den Therapiezeitraum.	39
<b>Abb. 15:</b> Hämoglobinkonzentrationen in g/dl nach Geschlecht über den Therapiezeitraum.	40
<b>Abb. 16:</b> Thrombozytenzahl (Zellen/nl) über den Therapiezeitraum.	41
<b>Abb. 17:</b> Volumina in mm <sup>3</sup> der einzelnen PatientInnen vor und nach Therapie.	42
<b>Abb. 18:</b> Exemplarische CT eines IgG4-positiven Probanden A) vor Therapie und B) nach 6 Monaten Therapie	42
<b>Abb. 19:</b> Exemplarische MRT eines Patienten mit unbekanntem IgG4 Status A) vor Therapie und B) 6 Monate nach Therapie	43
<b>Abb. 20:</b> Exemplarische MRT einer IgG4-negativen Patientin A) vor Therapie und B) nach 6 Monaten Therapie	43
<b>Abb. 21:</b> Volumen in mm <sup>3</sup> in Abhängigkeit vom Therapiezeitpunkt.	44
<b>Abb. 22:</b> Volumenänderung (mm <sup>3</sup> ) der PatientInnen mit und ohne Aneurysma vor Therapie (d0) und nach Therapie.	47
<b>Abb. 23:</b> Volumenänderung (mm <sup>3</sup> ) über den Therapiezeitraum unterteilt nach ANA Status vor Therapie (d0) und nach Therapie.	48

## **Tabellenverzeichnis**

<b>Tab. 1:</b> Einteilung der retroperitonealen Fibrose.....	14
<b>Tab. 2:</b> Übersicht Volumenänderung der einzelnen Patientengruppen mit Angabe des Signifikanzniveaus p (Vergleich Volumen vor und nach Therapie).....	44
<b>Tab. 3:</b> Überblick Therapie und IgG4 Status der einzelnen Patienten. ....	46
<b>Tab. 4:</b> Volumenänderung über den Therapiezeitraum. Die Einteilung in die Gruppen erfolgt nach Vorhandensein eines Aneurysmas. ....	47
<b>Tab. 5:</b> Volumenänderung über den Therapiezeitraum. Die Einteilung in verschiedene Gruppen erfolgt anhand des Antikörper Status. ....	48

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACR	American College of Rheumatology
ANA	Antinukleäre Antikörper
BSG	Blutkörperniedrigungsgeschwindigkeit
bzgl.	bezüglich
bzw.	beziehungsweise
CD	Cluster of Differentiation
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
ELISA	Enzym-linked Immunosorbent Assay
EULAR	European League against Rheumatism
Fab Arm	Fragment antigen binding Arm
Fc Rezeptor	Fragment crystallisable Receptor
FDG PET	Fluorodeoxyglucose Positron-Emissions-Tomographie
ggf.	gegebenenfalls
HASTE	Half fourier-Acquired Single shot Turbo spin Echo
HE	Hämatoxylin Eosin
HRP	Horseradish-Peroxidase
ICD	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin

nm	Nanometer
n. W.	nach Westergren
MRT	Magnetresonanztomographie
RPF	Retroperitoneale Fibrose
Tab.	Tabelle
SD	Standardabweichung
z. B.	zum Beispiel

## **Abstract auf Deutsch**

Hintergrund: Die retroperitoneale Fibrose (Morbus Ormond) ist eine, mit einer Inzidenz von 1:10.000, seltene Erkrankung, bei der es durch autoimmun vermittelte entzündliche Prozesse zur Ausbildung von fibrotischem Gewebe im Retroperitonealraum kommt, welches kompressionsbedingt zu renalen und unspezifischen Symptomen führt. Auch im Rahmen von IgG4-assoziierten Erkrankungen tritt die retroperitoneale Fibrose auf. Die Diagnostik erfolgt mittels Bildgebung (meist Magnetresonanztomographie) und teilweise histologischer Untersuchung. Bisher ist die Pathogenese nicht komplett verstanden und ein einheitlicher Therapieansatz existiert nicht. Die aktuelle Standardtherapie an unserem Zentrum erfolgt mit Cyclophosphamid-Bolus-Therapie über einen 6-monatigen Zeitraum.

Zielsetzung: Ziel dieser Arbeit ist die Analyse serologischer und bildmorphologischer Daten als Parameter für Therapieansprechen bei retroperitonealer Fibrose unter Therapie mit Cyclophosphamid. Hierbei soll das Vorliegen einer IgG4-assoziierten Erkrankung berücksichtigt werden.

Methodik: Eine retrospektive Datenanalyse von n = 19 Patienten über den Zeitraum von 6 Monaten wurde durchgeführt. Es erfolgte die histologische Analyse der Biopsien im Hinblick auf das Vorliegen einer IgG4-assoziierten Erkrankung (Vorhandensein von IgG4-Plasmazellen in der Fibrose) und eine Differenzierung in 3 Gruppen (IgG4-positiv=6, IgG4-negativ=4, IgG4 unbekannt/keine Biopsie=9). Darüber hinaus wurden Routinelaborparameter erhoben. Die IgG4 Serumkonzentrationen wurden mittels ELISA gemessen und die Volumina der retroperitonealen Masse mittels MRT-Bildgebung erfasst.

Ergebnisse: In der Gruppe der Patienten, bei denen der Bezug zu einer IgG4-assoziierten Erkrankung nicht geklärt werden konnte, bestehen signifikant höhere Kreatinin- und Harnstoffkonzentrationen ( $p < 0,0001$ ) als bei den anderen Patientengruppen, dies besteht über den Therapiezeitraum fort. Die initial erhöhten Retentionsparameter zeigen über den 6 Monatszeitraum keine signifikante Änderung. Die IgG4-Serum-Konzentrationen liegen bei allen Patienten im Normbereich. Bei allen Patienten kommt es nach 6 Monaten Therapie zu einer Reduktion des Volumens der retroperitonealen Fibrose. Eine signifikante Abnahme zeigt sich bei den IgG4-positiven Patienten ( $p = 0,0313$ ) und denen mit unbekanntem IgG4 Status ( $p = 0,0039$ ). Das Serum CRP ist bei allen Patienten initial erhöht und zeigt keine signifikante Änderung über den Therapiezeitraum.

Ausblick: Die retroperitoneale Fibrose kann durch Cyclophosphamid erfolgreich therapiert werden. Dies ist messbar durch die Reduktion des Volumens der retroperitonealen Fibrose. Eine Verbesserung der Nierenfunktion erfolgt nicht. Besonders die IgG4-positiven Patienten profitieren sehr von der Therapie. Zur Therapieüberwachung eignet sich die MRT-Bildgebung.

Um die Ergebnisse zu bestätigen, sind prospektive größere Studien über einen längeren Follow-up Zeitraum notwendig.

## **Abstract in English**

**Background:** Idiopathic retroperitoneal fibrosis (Ormond's disease) is a rare disease. The fibrosis is based on autoinflammatory processes. A fibrotic mass is built in the retroperitoneum. Main clinical symptoms are sometimes unspecific but anuria, hydronephrosis and renal failure due to compression of the ureter can occur. The retroperitoneal fibrosis is often related to IgG4 disease. For diagnosis radiologic technics like MRI and CT are used. In some cases a biopsy of the fibrotic mass is taken. There is no consensus for therapy. Standard of care at our centrum is treatment with cyclophosphamide for a duration of 6 months.

**Objective:** Aim of this study is to analyse serologic parameters and MRI/CT of patients with retroperitoneal fibrosis who are treated with cyclophosphamide concerning potential prognostic parameters for therapeutic effects.

**Methods:** Data of n = 19 patients of the last 15 years from Charité - Universitätsmedizin Berlin were evaluated concerning clinical, serological and radiological response to cyclophosphamide therapy. Biopsies were examined to differentiate IgG4-related fibrosis from idiopathic fibrosis. Patients were separated in 3 groups (IgG4-positive=6, IgG4-negative=4, no biopsy=9) according to the diagnosis of IgG4-related disease in available biopsies. Serologic parameters were analysed and the volume of the retroperitoneal fibrosis was measured. For concentration of IgG4 we run an ELISA.

**Results:** There were significant ( $p < 0,0001$ ) higher concentrations of urea and creatinin in patients without a biopsy persisting for the whole treatment period and without changes in the 6 months of therapy. In every group the IgG4 concentration was in normal range. There was no big difference in concentration of serum IgG4 between the groups. After 6 months of therapy the volume of the retroperitoneal fibrosis was reduced in all patients. This reduction was significant for IgG4-positive patients ( $p = 0,0313$ ) and patients without a biopsy ( $p = 0,0039$ ). CRP was elevated in every group without change in the treatment period.

**Conclusion:** A reduction of retroperitoneal fibrosis is present in all patients after treatment with cyclophosphamide, without improvement of renal function over this period. IgG4-positive patients profit more from this therapy. MRI or CT can be used to prove the response after therapy. Further studies with a prospective setting, with more patients and over a longer time have to be made, to verify the results.

## **1. Einleitung**

### **1.1 Definition der retroperitonealen Fibrose**

1948 wurden die ersten Fälle der retroperitonealen Fibrose (RPF) durch John Kelso Ormond beschrieben, welcher namensgebend für das Krankheitsbild war. Bei dieser Erkrankung kommt es zur Bildung fibrotischen Gewebes im Retroperitonealraum. Es handelt sich um ein langsam progredientes Entzündungsgeschehen unterschiedlicher Ätiologie beginnend um die großen Gefäße wie die Aorta [1, 2]. Dieses kann ein unterschiedliches Ausmaß aufweisen und sich vom kleinen Becken bis zu den Nieren erstrecken. Die Fibrose umgibt Strukturen wie die Ureteren, benachbarte Gefäße und Nerven. Diese werden nicht invadiert, jedoch komprimiert. Hierdurch kann es zur Medialisierung und zum Aufstau der Ureteren kommen [2, 3].

### **1.2 IgG4-assoziierte Erkrankungen**

Bereits Ormond machte darauf aufmerksam, dass es weitere Erkrankungen, teilweise ebenfalls inflammatorischer bzw. noch nicht eindeutig geklärter Genese gibt, die der RPF ähneln. Manche, wie z.B. die mediastinale Fibrose treten sogar gehäuft mit der RPF auf [1]. Auch in Untersuchungen von PatientInnen mit autoimmuner Pankreatitis, deren Genese der RPF ähnelt und zu einer Fibrosierung des Pankreas führt, fiel auf, dass oft eine RPF als weitere Fibrose zu finden ist [4]. Darüber hinaus können zahlreiche andere Organe von diesen entzündlichen Fibrosierungen betroffen sein. Manifestationsorte wie Lymphknoten, Gallengänge, Speichel- und Tränendrüse und Schilddrüse wurden beschrieben [4]. Die Biopsien der betroffenen Strukturen weisen gleiche histologische Merkmale mit geringen Unterschieden auf [5-7]. Miyajima et al. [8] und Zen et al. [9] entdeckten bei Patienten mit RPF eine erhöhte Immunglobulin G4 (IgG4)-Konzentration im Serum. Zusätzlich konnten bei weiteren Organen mit fibrotischen Prozessen serologische IgG4-Erhöhungen nachgewiesen werden. So z.B. bei pulmonalen Pseudotumoren oder Raumforderungen im zentralen Nervensystem, im Gastrointestinaltrakt, in den Nieren und der Prostata [5-7]. Die histologisch sehr ähnlichen Fibrosierungen und die damit im Zusammenhang stehenden erhöhten IgG4 Spiegel im Serum lassen auf eine systemische Erkrankung schließen, die verschiedene Organe betrifft [4-6]. Die Symptome sind abhängig vom Manifestationsorgan. Da eine einheitliche Genese angenommen wird, bietet sich auch eine einheitliche Namensgebung wie „Hyper IgG Disease“ oder „IgG4-related disease“ mit dem Entwurf einheitlicher Diagnosekriterien an [5, 6]. Um die Diagnose zu stellen, sollten entsprechend die Morphologie der Fibrose und die Klinik des Patienten berücksichtigt werden

sowie serologische und radiologische Befunde erhoben werden [10]. Erst im Jahr 2019 hat ein internationales Team des American College of Rheumatology (ACR) und der European League against Rheumatism (EULAR) ein 3-stufiges Konzept zur Klassifikation von IgG4-assoziierten Erkrankungen ausgearbeitet [11]. In einem ersten Schritt ist hierbei eine charakteristische Beteiligung von mindestens einem von 11 Organen festzustellen. In Schritt 2 und 3 folgen zahlreiche Ein- und Ausschlusskriterien, die sich auf verschiedene klinische, radiologische, serologische und pathologische Untersuchungen beziehen. In Abhängigkeit der Untersuchungsergebnisse werden Punkte vergeben. Ab einer Punktzahl von 20 oder mehr ist eine ausreichend hohe Spezifität und Sensitivität für eine IgG4-assoziierte Erkrankung erreicht. Diese Kriterien sollen jedoch nicht zwangsweise in den klinischen Alltag integriert werden, da bei eindeutiger Klinik auch ohne erfüllte Kriterien eine IgG4-assoziierte Erkrankung vorliegen kann. Eher sollen diese Kriterien genutzt werden, um bei Verdacht auf eine IgG4-assoziierte Erkrankung die Diagnosefindung zu unterstützen und einheitliche Diagnosekriterien für Studien zu schaffen. Weder eine Biopsieentnahme, noch eine erhöhte IgG4-Serumkonzentration wären nach diesen Kriterien unbedingt notwendig, um die Diagnose einer IgG4-assoziierten Erkrankung zu stellen. Im klinischen Alltag ist zur Diagnostik der klinische oder radiologische Nachweis der Beteiligung eines typischen Organs oder der Nachweis eines typischen Entzündungsprozesses mit lymphoplasmazytären Infiltrat ausreichend, um die Diagnose einer IgG4-assoziierten Erkrankung zu stellen [11]. Basierend auf der ACR/EULAR Klassifikation der IgG4-assoziierten Erkrankungen wurden bisher wenig epidemiologische Untersuchungen durchgeführt. In Japan beträgt die geschätzte Inzidenz der IgG4-assoziierten Erkrankung 0,28 bis 1,08/100000 [6].

### **1.3 Einteilung der retroperitonealen Fibrose**

Die Einteilung der RPF kann nach verschiedenen Kriterien und Charakteristika erfolgen (**Tab. 1**). Am häufigsten tritt die RPF als Manifestation der systemischen IgG4-assoziierten Erkrankung mit einer erhöhten IgG4-Konzentration im Serum und erhöhter Anzahl von IgG4-positiven Plasmazellen in der Biopsie auf [5].

<b>Einteilung</b>	<b>Kriterien/Charakteristika</b>
IgG4-positiv	Verhältnis IgG4-/IgG-positive Plasmazellen in der Biopsie > 40% [10, 12]
IgG4-negativ	Verhältnis IgG4-/IgG-positive Plasmazellen in der Biopsie < 40% [10, 12]
Sekundär	Assoziation: postoperativ, traumatisch, radiogen, durch Asbestbelastung, durch Entzündungen benachbarter Strukturen, Medikamente: $\beta$ -Blocker, Ergotamin, Methysergid, Methyldopa, Pergolid [13, 14]
Maligne	Folgeerscheinung im Rahmen eines Colonkarzinoms, maligner hämatologischer oder urothelialer Prozesse [15]
Idiopathisch	keine sekundäre Ätiologie, (schließt IgG4-positive und IgG4-negative Fibrose ein) [16]

**Tab. 1:** Einteilung der retroperitonealen Fibrose

#### **1.4 Pathogenese der retroperitonealen Fibrose**

Die RPF und das inflammatorische Aortenaneurysma werden in ihrer Gesamtheit als chronische Periaortitis bezeichnet [17, 18]. Von diesem Krankheitsbild mit Zeichen einer systemischen Entzündungsreaktion wird die Pathogenese des Prozesses abgeleitet: als Ausgangspunkt gilt entsprechend der Histologie eine Vaskulitis, die zur Periaortitis bzw. zur Vaskulitis der Vasa vasorum der Aorta fortschreitet. Die Ausbildung von Atherosklerose und eines Aneurysmas wird begünstigt. Es kommt zu einem Entzündungsgeschehen mit anschließender fibrotischer Organisation [17, 19]. Im Rahmen der Entzündungsreaktion kommt es zum Wandschaden der Gefäße, was die Umgebungsentzündung und zusätzlich ein Voranschreiten der Entzündungs- und Fibrosierungsprozesse hervorruft [2].

Zum Ablauf der zu Grunde liegenden immunologischen Reaktionen der RPF gibt es bisher nur ein Modell, welches unter anderem von den histologischen Merkmalen des fibrotischen Gewebes abgeleitet wird. Als Auslöser wird dabei ein spezifisches bisher noch nicht identifiziertes Auto-Antigen diskutiert. Daher ist es auch möglich, dass es mehrere Antigene gibt, welche die Reaktion

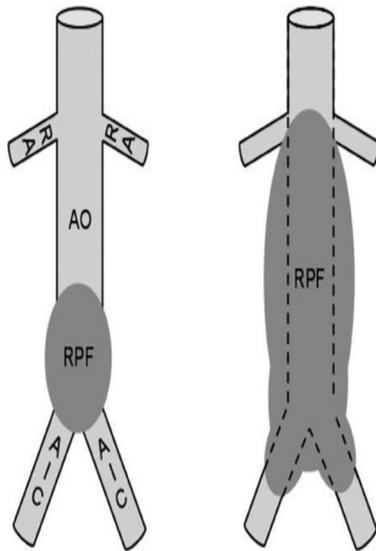
auslösen [20]. Es wird postuliert, dass das Antigen T- und B-Zellen aktiviert und dadurch eine spezifische Immunantwort einleitet. Die Antigenpräsentation erfolgt durch B-Zellen, eosinophile Granulozyten und Makrophagen. Die aktivierten T-Zellen (T-Helferzellen und regulatorische T-Zellen) sezernieren Interleukin (IL) 4 und 10, welche einen Klassenwechsel der durch Plasmazellen produzierten Immunglobuline bewirken. Vermehrt finden sich nun IgG4 und IgE. Es kommt zur weiteren Produktion von proinflammatorischen Zytokinen, welche Makrophagen, eosinophile Granulozyten und Fibroblasten aktivieren. Dem IgG4 kommt dabei eine abschwächende Wirkung auf die Entzündungsreaktion zu. Die Antigen-spezifischen T-Zellen finden sich in Keimzentren zusammen, die diese Prozesse unterhalten und so eine Art Kreislauf schaffen. Die aktivierten Makrophagen spielen zu dem eine Rolle bei der Angiogenese und Fibrosierung [21]. Da bei der RPF auch vermehrt IgE zu finden ist, wird eine Ähnlichkeit zu allergischen Reaktionen angenommen [20, 21]. Diese Hypothese wird dadurch unterstützt, dass IL 10 den Klassenwechsel des IgE bei der Toleranzinduktion in der Immuntherapie bei allergischen Erkrankungen hemmt, den IgG4 Klassenwechsel jedoch fördert. IL 10 wird durch regulatorische B- und T-Zellen produziert, die eine zentrale Rolle in der Pathogenese der RPF zu spielen scheinen [20].

## **1.5 Diagnostik der retroperitonealen Fibrose**

### **1.5.1 Radiologische Diagnostik**

Die Bildgebung gilt als essentielles Verfahren zum Nachweis der paraaortalen Masse und der Fibrose des Retroperitoneums. Eine hohe Sensitivität durch ihre Auflösungsgenauigkeit haben Computertomographie (CT) und Magnetresonanztomographie (MRT) [6, 13, 14, 22]. CT oder MRT können zur Diagnosestellung und zum Monitoring unter Therapie verwendet werden [18]. Aufgrund der geringen Strahlenbelastung im Vergleich zur CT wird am häufigsten die MRT zur Diagnostik genutzt. Im MRT stellt sich die Fibrose hypointens oder isotens zum quergestreiften Muskel dar [23]. Sollte bei Kontraindikationen des Patienten keine MRT möglich sein, wird auf die CT zurückgegriffen. In beiden Fällen erfolgt die Darstellung des Abdomens. Eine Abgrenzung von malignen Prozessen ist möglich. Entscheidend zur Differenzierung sind neben der Ausdehnung die Medialisierung der Uretheren sowie die Dicke, die Größe und die Lokalisation der RPF. Bei detaillierter Bildgebung ist eine Biopsie zur Diagnosestellung somit nicht unbedingt erforderlich [15]. Bei typischer Lokalisation (**Abb. 1**) der Fibrose im Bereich der aortalen

Bifurkation kann auch die Sonographie für die Bildgebung als Instrument des Monitorings unter Therapie genutzt werden [23].



**Abb. 1:** Schematische Darstellung typischer Lokalisation der retroperitonealen Fibrose (RPF). (AO: Aorta, RA: Arteria renalis, AIC: Arteria iliaca communis) [23] (Erlaubnis zur Verwendung wurde vom Autor eingeholt).

Zwischen IgG4-positiven und -negativen retroperitonealen Fibrosen sind mittels MRT oder CT keine Unterschiede zu erkennen [12].

### 1.5.2 Histologische Diagnostik

Zum Ausschluss eines malignen oder entzündlichen Prozesses anderer Entität sollte eine histologische Untersuchung des Gewebes erfolgen [9]. Bei vorliegender eindeutiger radiologischer Diagnostik wie z. B. typischer Lokalisation des fibrotischen Gewebes ist sie jedoch nicht essentiell für die Diagnosestellung [6]. Histologisch zeigt sich ein Infiltrat bestehend aus eosinophilen Granulozyten, Lymphozyten, Lymphfollikeln, Fibroblasten, Fettzellen, mononukleären Zellen, Makrophagen, Plasmazellen und Kollagen unterschiedlichen Ausmaßes, was für eine unterschiedlich fortgeschrittene Entzündung spricht [1, 3, 17]. Dabei kann anhand der Histologie eine Einteilung des Schweregrades der Entzündung erfolgen. Diese erfolgt über den Zellgehalt. So sind z. B. nach immunsuppressiver Therapie im Vergleich zu vorher histologisch nur noch wenig inflammatorische IgG4-positive Plasmazellen nachweisbar. Generell zeigt sich nach Therapie ein zellärmeres und fibrosereiches Gewebe [5]. Die Entzündungs- und Gewebszellen verteilen sich diffus im fibrotischen Gewebe. Um Gefäße und Nerven zeigt sich

charakteristischer Weise eine zirkuläre Anordnung der fibrösen kollagenreichen Komponente, ohne dass diese invadiert werden [2, 3]. Zusätzlich sind Elemente der Vaskulitis der kleinen Gefäße innerhalb des fibrotischen Gewebes erkennbar [3] insbesondere im Sinne einer obliterierenden Phlebitis [9, 20]. Außerhalb der inflammatorischen Prozesse finden sich weder Nekrosen, noch Vaskulitiden, jedoch teilweise vereinzelt Lymphozyten. Es kann zu einer entzündlichen und letztendlich fibrotischen Invasion der benachbarten Skelettmuskeln oder großen Venen kommen. Gelegentlich kann dadurch eine Okklusion der Venen durch die Intimaverdickung auftreten [2]. Bei Biopsien, die die Aorta miterfassen, fallen artherosklerotische Plaques mit vielen elastischen Fasern aber weniger Muskelzellen auf [17].

Zur Diagnose der IgG4-assoziierten Erkrankung werden außerdem die IgG4-Konzentration ( $> 135\text{mg/dl}$ ) im Serum und im Gewebe sowie das Verhältnis von IgG4 zu IgG in der Biopsie hinzugezogen [6, 9, 22]. Sind mehrere Organe betroffen, muss mindestens in einem Organ eine histologische IgG4-Positivität nachweisbar sein [22]. Treffen die zuvor genannten Merkmale nicht zu, können organspezifische Merkmale hinzugezogen werden, um zu entscheiden, ob eine IgG4-assoziierte Erkrankung vorliegt [6]. Die histologischen Merkmale der IgG4-assoziierten Erkrankung können je nach betroffenem Organ unterschiedlich sein [7, 10]. Ein Grenzwert zur Entscheidung zwischen IgG4-positiven und IgG4-negativen Fibrosen ist sowohl vom Organ, als auch vom Ausmaß der Fibrose bei Diagnosestellung abhängig. IgG4 kann als Biomarker für die Diagnostik genutzt werden. Ausgezählt werden sollte in Bereichen mit der höchsten Konzentration, da eine diffuse Invasion der Zellen erfolgt, könnte es sonst zu einer Fehleinschätzung kommen [24].

### **1.5.3 Laborchemische Diagnostik**

#### *Blutkörper senkungsgeschwindigkeit (BSG) und C-reaktives Protein (CRP)*

Laborchemisch können Zeichen einer systemischen Entzündungsreaktion in Erscheinung treten. Bei vielen PatientInnen wird eine variabel ausgeprägte Erhöhung von CRP und BSG beobachtet [3, 5, 13, 14, 25], sowohl bei IgG4-positiven, als auch -negativen Patienten [12]. Einerseits zeigen Studien eine Korrelation der Größe der retroperitonealen Masse und der Konzentration der Entzündungsparameter wie CRP, Calprotectin und Fibrinogen und Markern für das Geweberemodelling wie Osteopontin, Matrixmetalloprotease-9, Tenascin C und Tissue Inhibitor of Metallprotease-1 sowie Markern der Gewebedegeneration wie Asymmetrisches

Dimethylarginin [26]. Andere Studien schließen die Korrelation des CRPs mit der Größe der Fibrose aus [18].

In vielen Fällen besteht eine Erhöhung der BSG, welche als systemischer Entzündungsmarker gilt. Bei vorhandener retroperitonealer Masse kann diese als Hinweis für eine RPF gelten und zum Monitoring herangezogen werden [14]. Eine Korrelation der BSG mit der Konzentration des IgG4 im Serum ist beschrieben und kann damit als Maß für die Entzündung gelten [25].

#### *Immunglobulin G4 (IgG4)*

Die IgG4-Konzentration im Serum kann erhöht [9], aber auch normwertig sein [12]. Ein Zusammenhang zwischen der Höhe der IgG4-Konzentration im Serum und der Größe der Fibrose konnte nicht festgestellt werden [25, 27]. Auch die Reduktion der IgG4-Konzentration im Serum unter Therapie ist interindividuell, jedoch werden ohne immunsuppressive Therapie deutlich höhere IgG4 Spiegel beobachtet [27]. Das IgG4 ist eine Subklasse des IgG und nimmt einen Anteil am Gesamt-IgG von 1-4% ein [21]. Dieser Anteil ist bei Gesunden variabel [28]. IgG4 hat nur eine geringe Affinität zum Fragment crystallisable (Fc)-Rezeptor [21]. Möglich ist die Aktivierung des Komplementsystems durch IgG4 über den Lectinweg. [20, 21]. Auf Grund von instabilen Disulfidbrücken ist ein Austausch des Fragment antigen binding (Fab)-Arms des Moleküls möglich [21]. Einige der Zytokine, die die Aktivierung von IgG4 erwirken, aktivieren auch IgE. Dies erklärt die erhöhten IgE-Konzentrationen, die bei Patienten mit IgG4-assoziierten Erkrankungen auftreten. Die Korrelation hierzu ist jedoch geringer als zur IgG4-Konzentration. Dem IgG4-Antikörper wird die protektive bzw. dämpfende Antwort bei IgG4-assoziierten Erkrankungen zugeschrieben [20, 21, 28].

#### *Andere laborchemische Parameter*

Blutbildveränderungen treten nur selten auf: Leukozytosen [18] und Anämien [5, 14] wurden in Einzelfällen beobachtet.

### **1.6 Klinische Merkmale der retroperitonealen Fibrose**

Die PatientInnen sind bei Diagnosestellung durchschnittlich älter als 50 Jahre [22, 29]. Von der RPF sind mehr Männer betroffen, wobei das Verhältnis von Männern und Frauen stark variieren kann [3, 4, 6, 7, 9, 12-15, 22].

In der Mehrzahl der Fälle erfolgt die Diagnosestellung erst nach Eintritt der Symptomatik. Nur bei wenigen PatientInnen ist die Diagnose ein Zufallsbefund der Bildgebung [13]. Die Vorstellung

der PatientInnen erfolgt oft mit unspezifischen Symptomen, die auf einen systemischen Entzündungsprozess hinweisen [3]. So kommt es zu Gewichtsverlust bis hin zur Kachexie und Fieber [1, 3, 5, 7, 13, 14, 17, 22, 29].

Spezifischere Symptome treten entsprechend der Lokalisation des fibrotischen Prozesses auf. Durch die Ausbildung der retroperitonealen Masse kommt es zur Kompression uni- oder bilateral mit Ausbildung einer Hydronephrose und daraus folgend Oligurie bis Anurie. Hierdurch kann es weiterhin zu rezidivierenden Harnwegsinfekten kommen [1, 3, 5, 9, 13, 14, 17, 22, 29-31]. Als Zeichen einer daraus resultierenden Niereninsuffizienz kann eine Kreatinin- [14, 25] und Harnstoffhöhung [14] auftreten. Weiterhin können in Abhängigkeit von der Lokalisation auch Rückenschmerzen, Flankenschmerz und Bauchschmerzen auftreten [1, 3, 5, 9, 13, 14, 17, 22, 29, 30]. Die RPF kann bei der körperlichen Untersuchung durch Hydrozelen, Lymphadenopathien, eine palpable abdominelle Masse, auskultatorische Auffälligkeiten des Abdomens oder der femoralen Arterien, prominente venöse Kollateralenausbildung oder Schwellung der unteren Extremität in Erscheinung treten. Ursächlich ist auch hier zumeist eine Kompression benachbarter Strukturen [13]. Die Symptomatik und deren Ausmaß ist bei PatientInnen mit RPF und bei IgG4-assoziierten Erkrankungen abhängig von den betroffenen Organen [6, 32].

### **1.6.1 Differenzierung der retroperitonealen Fibrose anhand der klinischen Beschwerden**

Eine eher konstante Symptomatik mit vordergründig Lumbal- und Abdominalschmerzen bei idiopathischer RPF gegenüber sekundärer RPF konnte beobachtet werden. Die sekundäre RPF zeigt sich in der Mehrzahl der Fälle asymptomatisch [14]. PatientInnen mit maligner RPF sind im Durchschnitt älter und rauchen seltener [15]. IgG4-positive und -negative PatientInnen zeigen keine Unterschiede bezüglich der Epidemiologie, der Lokalisation der Fibrose und des Auftretens von antinukleären Antikörpern (ANA). Eine Unterscheidung der Patientenkollektive ist durch die signifikanten Ergebnisse der IgG4-Konzentration im Serum und dem Verhältnis von IgG4 zu IgG möglich [9].

### **1.6.2 Mit retroperitonealer Fibrose assoziierte Erkrankungen**

Mehr als 50% der PatientInnen mit RPF haben einen positiven ANA-Titer [13, 17]. Nur wenige PatientInnen weisen Autoimmunerkrankungen bzw. andere chronisch entzündliche Erkrankungen vor oder nach dem Auftreten der RPF auf. Hauptsächlich handelt es sich hierbei um chronisch entzündliche Darmerkrankungen [13].

## 1.7 Therapie der retroperitonealen Fibrose

Während zu Ormonds Zeiten die Operation in Form von Ureterolyse und Nephrostomie noch als Goldstandard galt, haben sich heutzutage neue Therapieoptionen aufgetan [1]. Ein einheitliches Therapieverfahren hat sich bisher jedoch noch nicht etablieren können. Lediglich über die Grundzüge der Therapie herrscht Einigkeit. An erster Stelle steht die Akuttherapie mit Verhinderung von Komplikationen. Je nach Ausprägung des Harnstaus erfolgt zunächst eine Entstauung mittels Nephrostomie oder Stenting mit Doppel-J-Katheter [6, 9, 16, 22, 25, 29, 30, 33, 34]. Bei stark ausgeprägter Kompression kann unter Umständen auch noch im Verlauf der Therapie eine operative Ureterolyse notwendig sein [13]. Beobachtet wurde, dass hauptsächlich bei PatientInnen mit sekundärer RPF ein operativer Eingriff notwendig ist [14]. Anschließend folgt eine immunsuppressive Therapie [6, 9, 13, 14, 16, 18, 22, 29, 30], welche vorrangig in der Akutphase bzw. Frühphase der Entzündungsreaktion gute Erfolge zeigt [5]. Gute Ergebnisse zeigten sich durch Glukokortikoidtherapie. Initial erhalten die PatientInnen eine hohe Dosis (bis zu 1g Prednisolonäquivalent täglich), die anschließend schrittweise reduziert wird [6, 9, 22, 29, 30]. Um eine möglichst geringe Rezidivrate zu erreichen, ist ein langer Therapiezeitraum notwendig, der sich über 2 oder mehr Jahre erstrecken kann. Hiermit kann eine Normalisierung der Laborwerte, ein konstanter Rückgang der Fibrose bis zum Verschwinden und Schmerzfreiheit bewirkt werden [29, 30]. Zudem ist eine signifikante Reduktion der Kreatininkonzentration nach Therapie möglich [30]. Ein regelmäßiges Follow-up ist notwendig [29]. Oft führt die Therapie mit Glukokortikoiden zu Abbrüchen bei Nebenwirkungen wie Gewichtszunahme, Knochenstoffwechselstörungen und Glucosetoleranzveränderungen [31]. Nicht nur bei RPF, auch bei anderen Organmanifestationen der IgG4-assoziierten Erkrankung kann erfolgreich mit Glukokortikoiden therapiert werden [4].

Bei manchen Fällen mit alleiniger Glukokortikoidtherapie wurden nicht die gewünschten Erfolge erzielt [35] und oft treten bereits schon in der Phase des Ausschleichens der Glukokortikoide spätestens jedoch nach Beendigung der Therapie zahlreiche Rückfälle auf [36]. Kombinationstherapien aus Prednisolon und anderen Immunsuppressiva wurden erprobt [13]. So zeigte sich die Kombination mit Tamoxifen oder Methotrexat sehr erfolgreich. Allerdings traten nach der Kombinationstherapie mit Methotrexat vermehrt Lymphome und Malignome des Urogenitaltraktes auf [13], sodass diese nicht mehr durchgeführt wird. In der Monotherapie konnten Erfolge mit Tamoxifen erzielt werden [16]. Vor allem Patienten mit eher geringer IgG4 Konzentration und normwertiger BSG und somit eher niedriger Entzündungsaktivität profitierten

hiervon. Nach der Induktionsphase konnten niedrigere Konzentrationen von CRP, BSG und IgG4 bei den meisten Patienten gemessen werden. Bei höherer Entzündungsaktivität war die Monotherapie verbunden mit hoher Rezidivrate der Erkrankung [25, 31]. Dennoch führte Tamoxifen zu einer zunächst niedrigeren Abbruchrate. Dies kann durch die verhältnismäßig milden Nebenwirkungen erklärt werden, die meist nach der Induktionsphase verschwunden sind [31].

Kombinationen von Prednisolon mit Azathioprin [27, 31], Mycophenolat-mofetil [34, 37], Cyclosporin [35], Cyclophosphamid [27, 33] oder Methotrexat [38] konnten gute Erfolge verzeichnen mit deutlicher Reduktion des periaortalen Mantels. Außerdem kam es während der Induktionstherapie zu einer Verkürzung der Zeit für uretrales Stenting [27, 33, 34, 37]. Weiterhin kommt es zu einer Reduktion der IgG4-Konzentration und zu einer Reduktion der Entzündungszellen im Gewebe unter der Therapie gegenüber den unbehandelten Patienten [27]. Die verschiedenen Kombinationstherapien weisen einige Besonderheiten auf. So konnte bzgl. des Langzeiterfolgs besonders die Kombination mit Azathioprin und Methotrexat überzeugen [27]. Unter der Kombinationstherapie mit Mycophenolat-mofetil fielen auch Therapieversager auf, welche wahrscheinlich auf einen interindividuellen Medikamentenmetabolismus zurückzuführen sind [34]. Bei Rezidiven konnten Erfolge durch die Kombination von Prednisolon und Methotrexat erzielt werden [38]. Die Kombination mit Cyclophosphamid wies im Gegensatz zu den anderen Kombinationstherapien weniger schwerwiegende Nebenwirkungen auf. Selten traten eine Sepsis oder eine Leukopenie auf. Maligne Prozesse nach Therapie wurden nicht beobachtet [27, 33]. Besonders bei schwerwiegenden und moderaten Prozessen war die Therapie mit Cyclophosphamid gegenüber anderen Medikamenten erfolgreicher [18]. Sowohl die positiven Effekte der immunsuppressiven Therapie, als auch die Nebenwirkungen bestätigen die entzündliche Genese der Erkrankung [33].

Neuere therapeutische Ansätze verfolgen die Therapie mit Rituximab [16, 36, 39]. Die Wirkung beruht auf der Reduktion der B-Zellen. Es konnten bereits gute Erfolge mit weniger Rezidiven erzielt werden [36]. Dabei war die Monotherapie ebenso wirksam wie die Kombinationstherapie mit Glukokortikoiden. Nebenwirkungen traten selten auf [39]. Eine Remission zeigte sich bei IgG4-positiver und -negativer RPF [16].

Die Therapieauswahl sollte anhand der vermuteten Pathogenese nach histologischer Beurteilung der fibrotischen Masse [34] erfolgen.

In 80-90% der Fälle ist eine Kombinationstherapie notwendig. Eine alleinige operative Therapie sollte nicht durchgeführt werden. In diesem Fall ist mit einer hohen Rezidivrate zu rechnen [14]. Bei PatientInnen mit inflammatorischen Aortenaneurysmen jedoch ist die Rolle der immunsuppressiven Therapie noch nicht geklärt. Hier ist eine operative Therapie nach Abklingen der Entzündung erfolgsversprechend [18].

Bei allen Therapiefortschritten und neuen Therapiemöglichkeiten wird auch über spontane Remissionen berichtet. Nach Akuttherapie kam es in einigen Fällen ohne weitere medikamentöse Therapie zu einer Reduktion der fibrotischen Masse, zur Normalisierung der Laborparameter und klinischen Besserung bei ausschließlich symptomatischer Schmerztherapie und Therapie der Hydronephrose [40].

### **1.8 Zielsetzung der Arbeit**

Einheitliche Diagnostik- und Therapiestandards der RPF gibt es bisher nicht. Eine Unterscheidung zwischen IgG4-positiver und IgG4-negativer RPF wird bei der Therapieauswahl nicht gemacht. Zum Monitoring des Therapieverlaufs wird oft die Bildgebung eingesetzt. Laborparameter werden aufgrund der zum Teil widersprüchlichen Studienergebnisse selten zum Therapiemonitoring verwendet. Vor diesem Hintergrund soll die vorliegende Arbeit ein einheitliches Therapieregime mit Berücksichtigung des IgG4 Statuses als Ausgangspunkt nehmen.

Ziel dieser Arbeit ist es,

1. das Therapieansprechen gemessen an klinischer Besserung und Rückgang der retroperitonealen Masse mittels Cyclophosphamid Therapie bei retroperitonealer Fibrose darzustellen
2. potentielle Unterschiede im Therapieansprechen von IgG4-positiven im Vergleich zu IgG4-negativen Patienten zu identifizieren
3. Laborparameter und Bildgebung über den Therapiezeitraum auf potentielle Unterschiede untersuchen, um dadurch Rückschlüsse auf die Eignung zum Therapiemonitoring zu führen.

## **2. Methoden**

### **2.1 Ein- und Ausschlusskriterien der Probanden**

Das dieser Arbeit zugrunde liegende PatientInnenkollektiv wurde mit Hilfe der SAP-Datenbank der Charité – Universitätsmedizin Berlin zusammengestellt. Durch den Code K66.2 der International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD) wurden alle Patienten, die auf Grund der Diagnose „Morbus Ormond“ oder „Retroperitonealfibrose“ im Zeitraum von 2000 bis 2015 in der Charité – Universitätsmedizin Berlin behandelt wurden, aufgerufen. Anschließend erfolgte die Reduktion auf PatientInnen mit dem entsprechend klinischem Bild der Erkrankung.

Es erfolgte eine retrospektive Analyse der Arztbriefe, Laborbefunde sowie histologischen und radiologischen Befunde. Die Therapie war zum Zeitpunkt der Datenerfassung bereits abgeschlossen. Es wurden ausschließlich PatientInnen mit einer gesicherten Diagnose der RPF, die mit Cyclophosphamid therapiert wurden, eingeschlossen. Die Cyclophosphamid-Therapie erfolgte über einen Zeitraum von 6 Monaten. Es wurden die Daten des entsprechenden Therapiezeitraumes analysiert. Zur Abschätzung des Langzeiterfolges wurde ein maximaler Zeitraum von 3 Jahren gewählt.

Für die retrospektive Datenauswertung im Rahmen dieser Studie wurde ein entsprechender Antrag bei der Ethikkommission der Charité gestellt. Die Genehmigung liegt unter der Nummer EA1/083/16 vor.

### **2.2 Therapie mit Cyclophosphamid**

An der Charité – Universitätsmedizin Berlin erfolgte die Therapie aller eingeschlossenen Patienten mit Cyclophosphamid über einen Zeitraum von 6 Monaten. Alle 4 Wochen erhielten die PatientInnen einen intravenösen Bolus Cyclophosphamid (800 – 1000 mg). Zur Vermeidung bzw. Reduktion von Nebenwirkungen erfolgte begleitend eine antiemetische Therapie, die Gabe von 2 Mercaptoethansulfonat-Natrium (MESNA) und Volumentherapie. Zudem nahmen die Patienten über diesen Zeitraum zusätzlich täglich Prednisolon ein. Dabei wurde die initiale Dosis von 1g/Tag Prednisolon im Verlauf schrittweise bis auf eine Erhaltungsdosis von ca. 5 mg/Tag reduziert. Um gegebenenfalls auftretende Nebenwirkungen frühzeitig zu erfassen und entsprechend behandeln zu können, erfolgte zehn Tage nach jedem Cyclophosphamid-Bolus eine Blutentnahme durch den

Hausarzt des jeweiligen Patienten. Kontrolliert wurden die Kreatinin- und CRP-Konzentration sowie das Blutbild.

Vor der sechsten Infusion wurde eine Verlaufskontrolle mittels MRT oder CT durchgeführt, um das weitere therapeutische Procedere entscheiden zu können. Anschließende therapeutische Maßnahmen bestanden aus dem Absetzen von Cyclophosphamid mit gleichzeitigem Ausschleichen des Prednisolons oder einem Wechsel auf eine Erhaltungstherapie mit z. B. Azathioprin oder Biologicals (z. B. Rituximab).

### **2.3 Laborparametererfassung**

Folgende Laborparameter wurden jeweils zur Aufnahme in der Klinik vor dem nächsten Cyclophosphamid Zyklus erfasst: CRP, BSG (Angabe nach Westergren), Hämoglobinkonzentration, Thrombozytenzahl und Leukozytenzahl. Teilweise erfolgte ebenfalls die Erfassung der IgG4-Konzentration im Serum und des ANA-Titers. Zur Einschätzung der Nierenfunktion wurden zusätzlich die Kreatininkonzentration, die glomeruläre Filtrationsrate sowie die Harnstoffkonzentration erfasst. Die Kreatininkonzentration wurde mittels Jaffé – Reaktion bestimmt. Die Daten wurden teilweise über die Arztbriefe erfasst bzw. mit Hilfe des Laborprogrammes der Charité – Universitätsmedizin Berlin aufgerufen. Es wurden lediglich die Daten der stationären Aufenthalte also jeweils vor dem nächsten Therapiezyklus erfasst. Somit ergibt sich ein Zeitraum vom Zeitpunkt 0 der dem Zeitpunkt des Therapiebeginns mit Cyclophosphamid entspricht bis zum 5. Zyklus.

### **2.4 Radiologische Befunde mittels CT und MRT**

Bei allen PatientInnen erfolgte eine radiologische Diagnostik in Form von CT oder MRT vor und 6 Monate nach Therapiebeginn. Diese lagen hauptsächlich als Spiral-CT mit Ultravist 370® bzw. als kontinuierlich axiales CT mit Kontrastmittel Xenetix 350®/Ultravist® 370 vor. Ultravist® und Xenetix® sind iodhaltige Kontrastmittel. Zur Darstellung von Gefäßen erfolgt die intravenöse Applikation dieser. Bei 6 PatientInnen erfolgte die Größeneinschätzung der fibrotischen Masse mittels MRT und wurde in der Sequenz T2 HASTE (Half fourier-Acquired Single shot Turbo spin Echo) ausgewertet. Die T2 Sequenz stellt stationäre Flüssigkeiten hyperintens da, hierdurch können Tumore und Zysten gut differenziert werden. HASTE bedeutet, dass nach nur einem Impuls die Daten detektiert und gesammelt werden. Die MRT beruht auf dem Prinzip der Kernspinresonanz. Durch unterschiedliche Impulse, die von außen gegeben werden, erhält man die verschiedenen Sequenzen der MRT-Technik. Der Vorteil dieser Methode besteht in der fehlenden

Strahlenbelastung. Kontraindiziert ist die Durchführung des MRTs bei metallischen Implantaten und Platzangst.

Die CT (**Abb. 2**) ist wie die MRT ein Schnittbildverfahren. Allerdings wird hier Röntgenstrahlung appliziert. Beim Spiral-CT bewegt sich der Röntgenstrahler in kreisenden Bewegungen um den Patienten, gleichzeitig bewegt sich der Tisch, auf dem der Patient liegt kontinuierlich. Beim axialen CT bewegt sich nur die Röhre um den Patienten. Ein Nachteil der CT ist die hohe Strahlenbelastung für die PatientInnen. Eingesetzt werden kann diese Technik falls Kontraindikationen für die Durchführung einer MRT vorhanden sind.

#### 2.4.1 Volumenerfassung der retroperitonealen Fibrose

Im PACS (*Picture Archiving and Communication System*) der Klinik wurden die bildgebenden Befunde der behandelten PatientInnen zu Beginn der Therapie und nach 6-monatiger Therapie abgerufen und das Volumen mit Hilfe des Programms „Centricity RIS-i 4.2. Plus“ bestimmt (**Abb. 2**). Dazu wurde die Fläche der fibrotischen Masse anhand des Bildmaterials der einzelnen Schichten aus MRT bzw. CT ausgemessen. Zur Berechnung der Volumina wurden diese Flächen mit der Schichtdicke multipliziert und zur Berechnung des Gesamtvolumens addiert (Volumen = Fläche x Schichtdicke; Gesamtvolumen =  $\sum$  Einzelvolumina). Diese Auswertung erfolgte nach ausführlicher Einweisung durch einen Facharzt der Radiologie.



**Abb. 2:** Beispiel einer CT-Aufnahme während Probenentnahme bei einem Patienten mit RPF. Die Stanznadel ist in der Bildmitte zu erkennen.

## **2.5 Histologische Analysen der retroperitonealen Fibrose**

In Form einer CT-gestützten Stanzbiopsie eines Gewebezylinders erfolgte die Entnahme von Proben der RPF von 11 PatientInnen. 3 von 11 Biopsien wurden von externen Kliniken angefordert. Die Erstdiagnose dieser 3 PatientInnen erfolgte an einer auswärtigen Klinik, die Therapie an der Charité - Universitätsmedizin Berlin. Die vorliegenden Biopsien wurden am Institut für Pathologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin auf ihren Gehalt an IgG4-positiven Plasmazellen untersucht. Zur Identifizierung der Plasmazellen, wurden die Schnittpräparate zunächst immunhistochemisch gegen das Oberflächenmolekül Cluster of Differentiation (CD) 138 gefärbt. Anschließend erfolgte eine Färbung gegen IgG4, um den Anteil IgG4-positiver Plasmazellen zu analysieren. Bei einem Prozentsatz größer als 40 bis 50% IgG4-positiver Plasmazellen galt die Biopsie als IgG4-positiv. Somit konnte eine Einteilung der PatientInnen in 3 Gruppen erfolgen: IgG4-positiv, IgG4-negativ bzw. IgG4-unklar. Bei 8 der 19 PatientInnen ist keine Biopsieentnahme erfolgt. Zur Gruppe mit unklarem IgG4 Status zählen die PatientInnen, bei denen keine Biopsie durchgeführt wurde oder das Material zur Beurteilung nicht ausreichend war. Die Auswertung der Biopsiebefunde erfolgte in Kooperation mit einer erfahrenen Fachärztin für Pathologie.

### **2.5.1 Hämatoxylin-Eosin-Färbung**

Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) gehört zu den histologischen Standardfärbungen. Hämatoxylin ist ein natürlicher Farbstoff, der die Zellkerne (blau) anfärbt. Das entparaffinierte und rehydratisierte Präparat wird für 3 Minuten im Hämatoxylin gefärbt. Anschließend erfolgt eine Spülung für ca. 2 Sekunden mit 0,1%-iger Salzsäurelösung. Im nächsten Schritt wird das Präparat 3 bis 5 Minuten mit Leitungswasser gespült, bevor es mit Eosin gefärbt wird. Eosin ist ein synthetischer Farbstoff, durch den zytoplasmahaltige Zellstrukturen (rot) gefärbt werden. Es folgt eine erneute Spülung mit Leitungswasser für ca. 30 Sekunden. Die Präparate werden durch eine Reihe Alkohole ansteigender Konzentration entwässert (EtOH-Reihe) und mit einer RotiClear® Reihe geklärt (**Abb. 3C**).

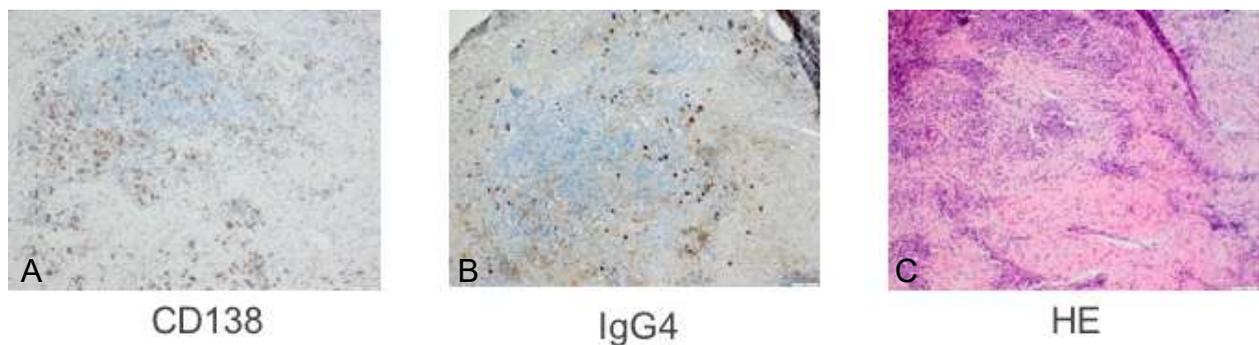
### **2.5.2 CD 138 Färbung**

CD 138 ist auch bekannt unter dem Namen Syndecan 1. Es ist ein transmembranes Glykoprotein. Enthalten ist es in einigen lymphoiden Zellen unterschiedlichen Entwicklungsstadien, so auch in Antigen-produzierenden Plasmazellen. Die Färbung dieses Proteins beruht auf einer immunhistochemischen Methode. Hierbei wird ein Primärantikörper gegen das als Antigen

fungierende CD 138 verwendet. An diesen bindet der sogenannte Sekundärantikörper, der einen Enzymkomplex gebunden hat. Dieser Enzymkomplex (Alkalische Phosphatase) wird durch die Bindung am Sekundärantikörper aktiviert und führt zum Sichtbarwerden eines chromogenen Substrates. Hierdurch kann die Auszählung von Plasmazellen mittels Lichtmikroskop erfolgen (**Abb. 3A**).

### 2.5.3 IgG4-Färbung

Für die IgG4-assoziierten Erkrankungen sind die Plasmazellen ausschlaggebend, die das entsprechende Immunglobulin produzieren. Diese können mit einer erneuten immunhistochemischen Färbung identifiziert werden. Dabei bindet nun der Primärantikörper an das Fc-Fragment des IgG4 und über eine weitere Enzymreaktion mit Farbstoffaktivierung werden alle IgG4-positiven Plasmazellen sichtbar gemacht (**Abb. 3B**).



**Abb. 3:** Vergleich der verschiedenen histologischen Färbungen der retroperitonealen Fibrose. CD 138 entspricht der CD-138 Färbung für Plasmazellen, IgG4 der IgG4-Färbung und HE der Hämatoxylin-Eosin-Färbung.

### 2.6 Bestimmung der IgG4-Konzentration im Serum

Zur Erfassung der IgG4-Konzentrationen mittels Enzym-linked Immunosorbent Assay (ELISA) wurden alle vorhandenen Seren der PatientInnen (n=17) aus dem Labor Berlin angefordert. Angewendet wurde das ELISA-Testkit Human IgG4 Platinum (ELISA BMS2095/BMS2095TEN, eBioscience, Wien). Als Positivkontrolle dienen Seren von bekannten IgG4-positiven Patienten der Klinik für Rheumatologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin. Als Negativkontrolle wurden vorhandene Seren von gesunden Probanden untersucht. Bei ggf. bereits vorbekannter IgG4-Konzentration wurde in der Auswertung nur der nach aktuellem ELISA bestimmte Wert berücksichtigt. Da diese Analyse nicht auf der Standardlabormethode beruht, sondern auf einer nachträglich durchgeführten Konzentrationsbestimmung mittels ELISA-Testkit, wurde der

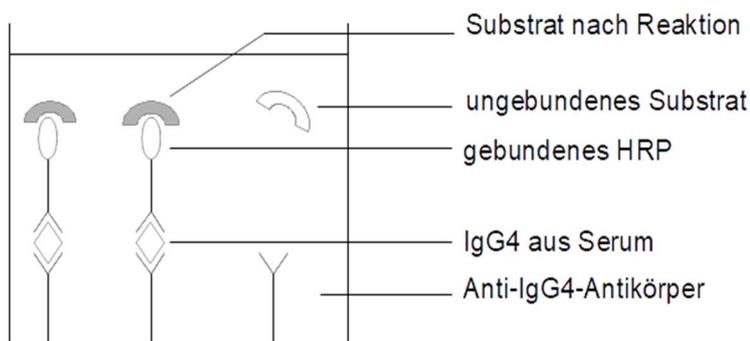
Referenzbereich definiert als Mittelwert der Konzentrationen der gesunden Probanden plus 2 Standardabweichungen und ist somit bei 138,21 mg/dl (60,85 mg/dl + 2 x 38,68 mg/dl) festgelegt.

### 2.6.1 Durchführung Enzym-linked Immunosorbent Assay

#### Material, Reagenzien und Geräte:

- ELISA Testkit Human IgG4 Platinum ELISA, eBioscience
- 5 und 10 ml Pipetten
- 5 µl bis 1000 µl verstellbare Mikropipetten
- Mikropipetten Reservoir
- Bechergläser, Kolben, Zylinder
- Microplate shaker
- destilliertes Wasser
- ELISA reader (450 nm)

Die Mikrotiterplatte des Testkits enthält gebundene Anti-IgG4-Antikörper. Die verdünnten Serumproben werden in die Platte pipettiert und vorhandene IgG4-Antikörper gebunden. Anschließend wird erneut ein Antikörper gegen IgG4 hinzugegeben, dieser ist an das Enzym Horseradish-Peroxidase (HRP) gebunden. Durch Waschen der Platte wird ungebundenes HRP entfernt. Ein Substrat der HRP wird zugefügt und führt zu einer Farbreaktion, die der Konzentration von IgG4 entspricht (**Abb. 4**). Durch das Hinzufügen von Säure wird die Farbreaktion beendet. Die Konzentration von IgG4 kann in Form der Absorption des Farbstoffes bei 450 nm ausgelesen werden.



**Abb. 4:** Darstellung des Prinzips beim ELISA.

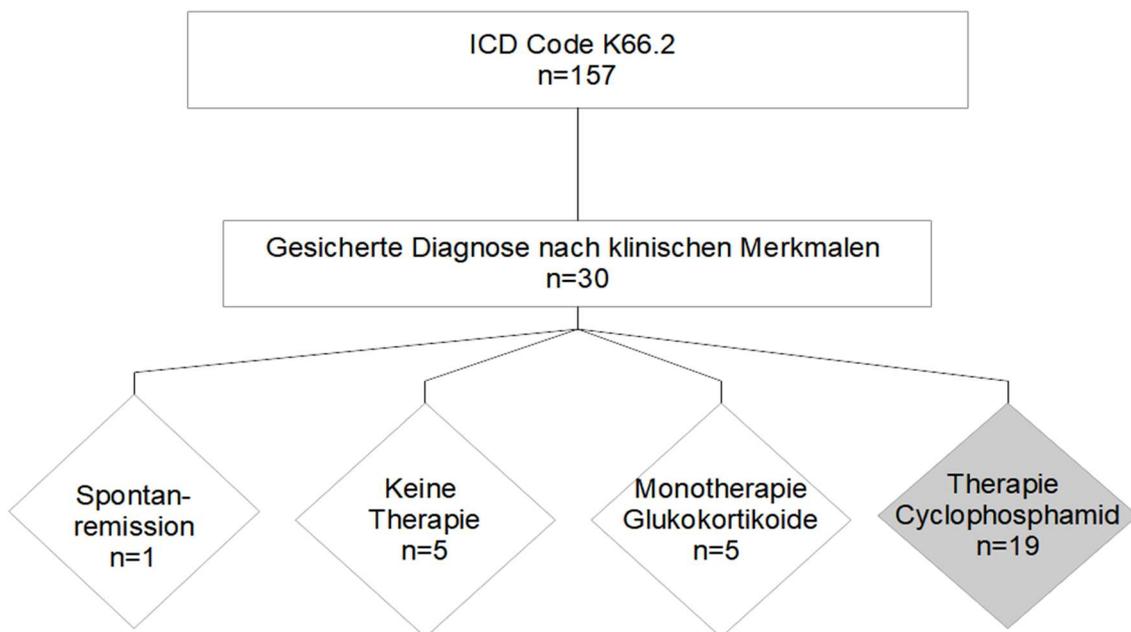
## **2.7 Statistische Analyse**

Alle erfassten Daten wurden pseudonymisiert und in Microsoft Excel 97-2003 bzw. GraphPad Prism 6 dargestellt. Die Datenanalyse erfolgte mithilfe des Programmes GraphPad Prism 6. Statistische Unterschiede innerhalb einer Gruppe wurden mittels Wilcoxon-Test geprüft. Statistische Unterschiede zwischen den Gruppen mittels T-Test und Welch-Correction. Als signifikant galt  $p < 0,05$ . Mittelwerte und Standardabweichungen wurden berechnet.

### 3. Ergebnisse

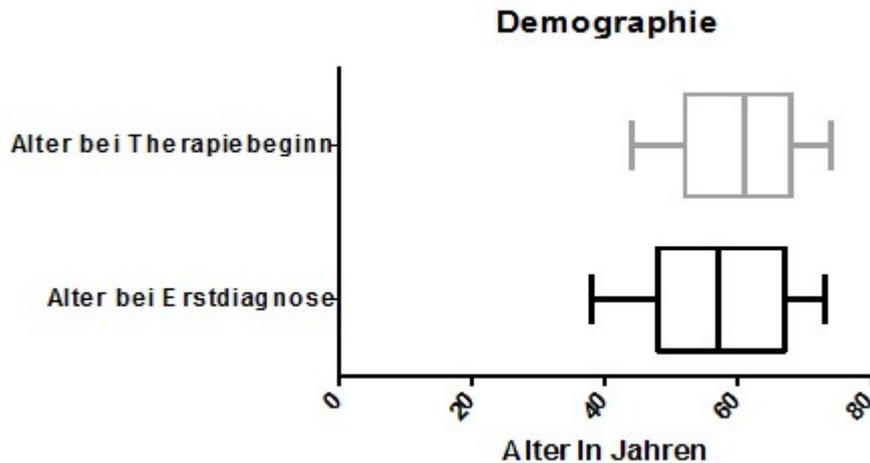
#### 3.1 Patientenkollektiv

In der SAP-Datenbank der Charité - Universitätsmedizin Berlin konnten im Zeitraum von 2000 bis 2015 157 PatientInnen mit RPF/Morbus Ormond (ICD-10 Code K66.2) ausfindig gemacht werden. Nach Prüfung der Patientenakte konnten 30 PatientInnen mit einer gesicherten Diagnose eines Morbus Ormond identifiziert werden. Von den an Morbus Ormond erkrankten PatientInnen erhielten 5 keine Therapie und 5 eine Therapie, die ausschließlich auf der Gabe von Glukokortikoiden beruhte. Bei einem Patienten kam es auch ohne Therapie zu einer Regression der retroperitonealen Fibrose. Es wurden somit 19 PatientInnen, die eine Therapie mit Cyclophosphamid erhielten, in die Studie eingeschlossen (**Abb. 5**).



**Abb. 5:** Flussdiagramm zur Patientenauswahl. N entspricht der Anzahl der PatientInnen. Grau hinterlegt sind die eingeschlossenen PatientInnen.

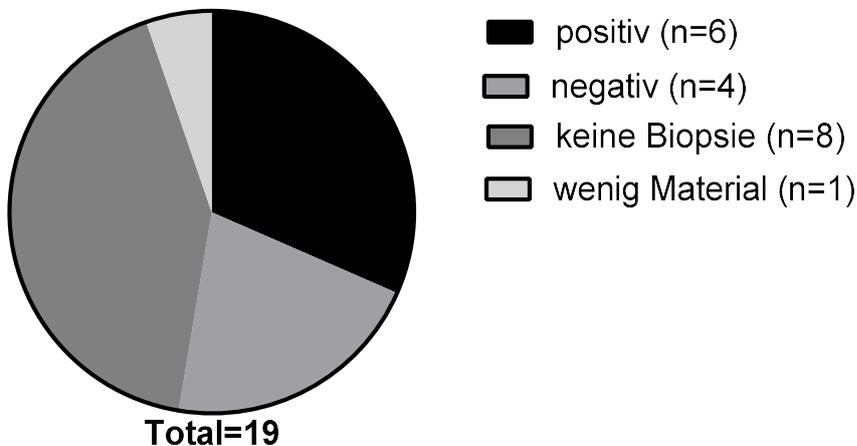
Das mediane Durchschnittsalter des Patientenkollektivs bei Erstdiagnose betrug 57,3 Jahre, bei Therapiebeginn mit Cyclophosphamid 60 Jahre (**Abb. 6**). Das minimale Alter bei Erstdiagnose betrug 38 Jahre, das maximale 73 Jahre. Zu Therapiebeginn betrug das minimale Alter 44 Jahre, das maximale 74 Jahre. Männer und Frauen sind im Patientenkollektiv im Verhältnis von 11:8 betroffen.



**Abb. 6:** Demographische Analyse. Dargestellt sind der Median sowie das Minimum und Maximum des Patientenalters bei Erstdiagnose und zum Therapiebeginn.

### 3.2 Biopsien der PatientInnen mit retroperitonealer Fibrose

Von den insgesamt 19 PatientInnen wurden n=6 der Biopsien als positiv für IgG4 bewertet, n=4 als negativ und eine Biopsie konnte nicht eindeutig beurteilt werden, da unzureichend Material vorlag. Bei den übrigen n=8 PatientInnen ist keine Biopsie entnommen worden (**Abb. 7**).



**Abb. 7:** Verteilung des Vorkommens des IgG4 Status bei n=19 PatientInnen mit RPF nach Biopsieanalyse

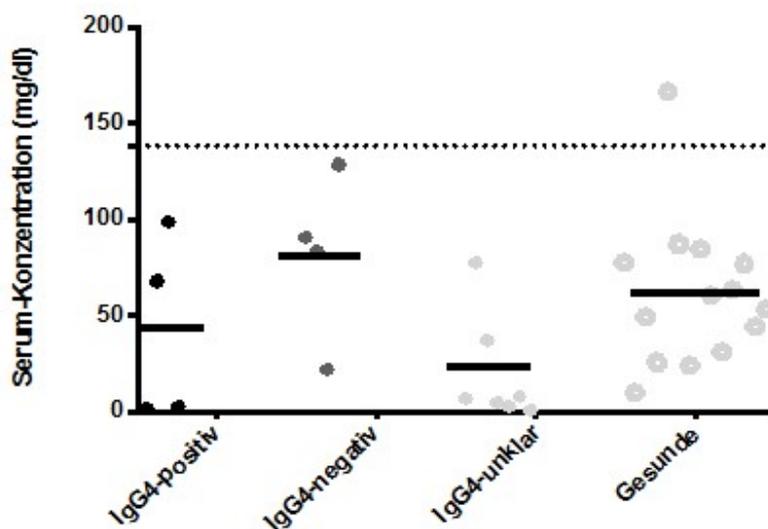
### 3.3 Konzentrationsbestimmung von IgG4 mittels ELISA

Es erfolgte ein Vergleich der IgG4-Konzentrationen der eingeschlossenen PatientInnen (n=17) mit einer gesunden Kontrollgruppe (n=14). Teilweise sind bereits vor Beginn dieser retrospektiven

Studie IgG4-Konzentrationen bestimmt wurden. Diese wurden ebenfalls in die Analyse eingeschlossen.

Weder die IgG4-Konzentrationen aller 3 Patientengruppen noch die der gesunden Kontrollen wiesen Abweichungen vom Normbereich auf. Die höchsten Konzentrationen von IgG4 konnten bei den bioptisch als IgG4-negativ eingestuften Patienten verzeichnet werden (Mittelwert = 81,20 mg/dl). Die geringsten Konzentrationen bei den Patienten, mit unbekanntem IgG4 Status (Mittelwert = 19,47 mg/dl).

Die Werte der Kontrollen wiesen eine starke Varianz auf, wobei ein Wert sogar außerhalb der Norm lag (166,1 mg/dl) und damit den einzigen Wert außerhalb des Referenzbereiches repräsentiert. Die IgG4-Konzentrationen der gesunden Probanden unterschieden sich nicht von den Werten der Patienten mit RPF. Die IgG4-Konzentrationen der Gesunden waren höher (Mittelwert = 60,85 mg/dl) als die der IgG4-positiven (Mittelwert = 42,64mg/dl) und IgG4-unbekannten Gruppe (Mittelwert = 19,47 mg/dl) ohne signifikanten Unterschied (**Abb. 8**).



**Abb. 8:** Initiale IgG4-Konzentrationen in mg/dl. Dargestellt sind Einzelwerte der PatientInnen nach Gruppen und die der gesunden Kontrollen; sowie als schwarze Linie der Mittelwert der jeweiligen Gruppen. Eingeflossen sind Werte der ELISA- und der Standardlabormethode. Die gestrichelte Linie markiert die obere Normwertgrenze (138,21 mg/dl).

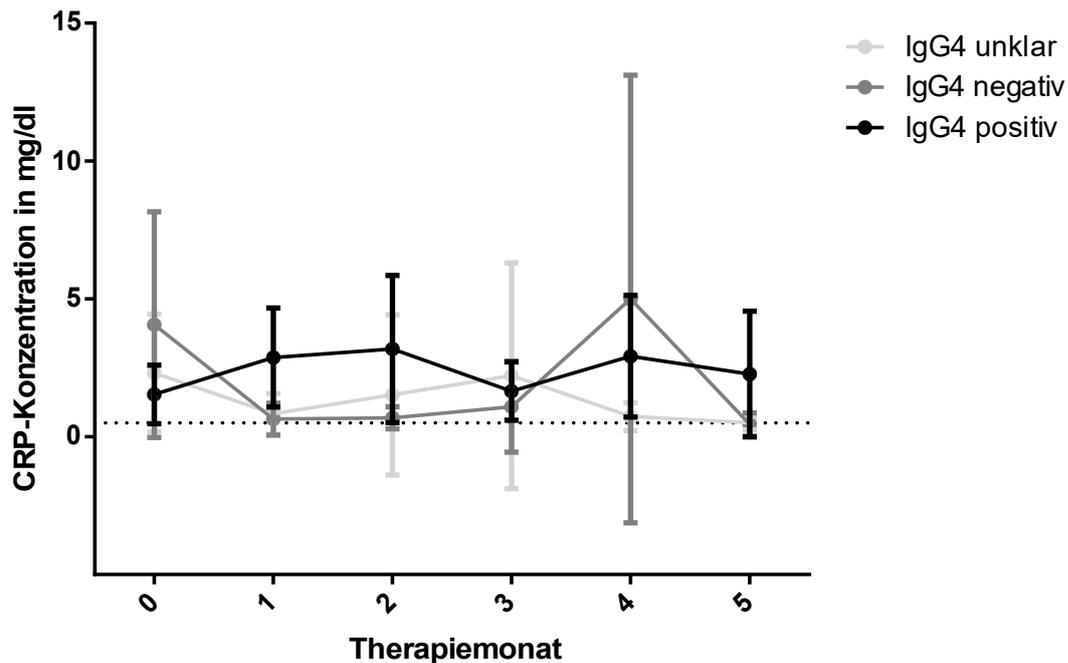
Von 2 Fällen lagen uns IgG4-Konzentrationen vor Beginn und nach Therapie vor. Bei Patient 12 betrug die Konzentration vor Therapiebeginn 83,27 mg/dl und danach 40,38 mg/dl. Im 2. Fall, bei Patientin 15 betrug die IgG4-Konzentration vor Therapie 128,51 mg/dl und nach Therapie 9,66 mg/dl. Beide gehören zur Gruppe der IgG4-negativen PatientInnen.

### 3.4 Entzündungsparameter

#### 3.4.1 Konzentration des C-reaktiven Proteins im Serum

Bei Betrachtung der CRP Werte konnten im Mittel in allen 3 Patientengruppen erhöhte Werte im Vergleich zur Norm ( $> 0,5$  mg/dl) über den Beobachtungszeitraum registriert werden. Im Mittel wiesen die IgG4-positiven PatientInnen über den gesamten Therapiezeitraum mit einer CRP-Konzentration von 2,405 mg/dl höhere Werte auf als die PatientInnen der IgG4-negativen (Mittelwert = 1,89 mg/dl) und unklaren Gruppe (Mittelwert = 1,352 mg/dl) ohne signifikanten Unterschied. Die höchste CRP-Konzentration vor Beginn der Therapie hatten die IgG4-negativen PatientInnen (4,1 mg/dl), die geringste Konzentration die IgG4-positiven (1,53 mg/dl). Zum Therapieende war dieser Unterschied umgekehrt: In der IgG4-negativen Gruppe war die Konzentration mit 0,45 mg/dl am niedrigsten und in der IgG4-positiven Gruppe mit 2,27 mg/dl am höchsten. Signifikanz ( $p = 0,0476$ ) erreichte der Unterschied zwischen IgG4-positiven und -negativen PatientInnen im ersten Therapiemonat. Bezogen auf die Mittelwerte, war die CRP-Konzentration der IgG4-positiven PatientInnen im Vergleich zum Ausgangswert (1,5 mg/dl) am Therapieende höher (2,27 mg/dl).

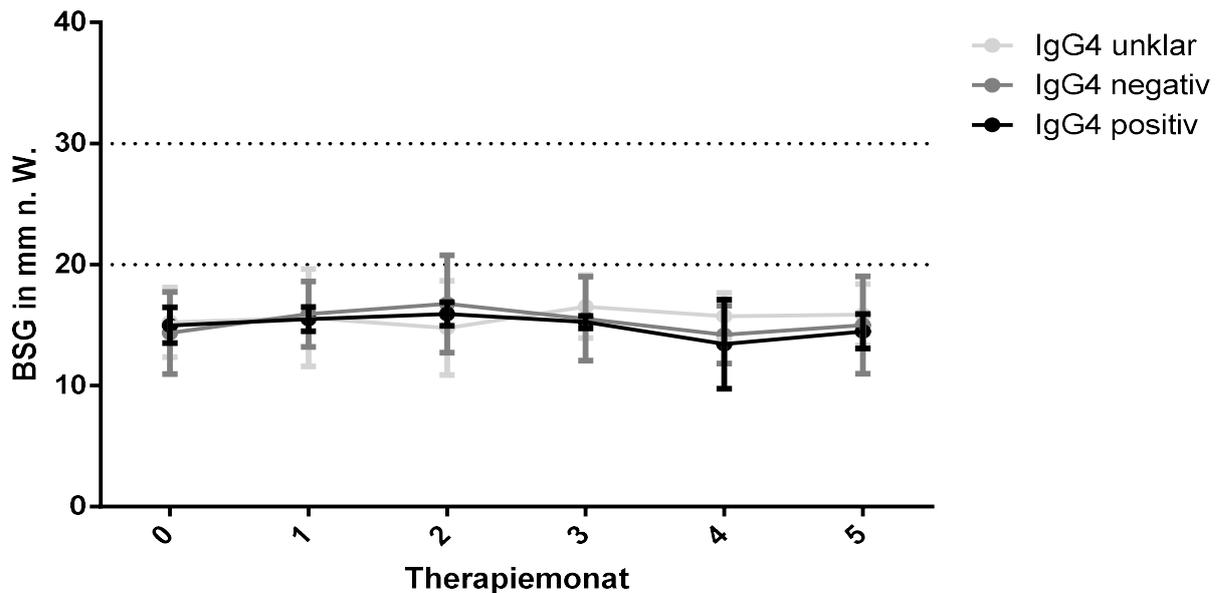
Bei den IgG4-negativen PatientInnen war die Konzentration des CRP vor Therapieende in Monat 5 im Vergleich zum Ausgangswert von 4,1 mg/dl mit 0,45 mg/dl viel niedriger als zu Therapiebeginn. Auch die Varianz war hier eine der niedrigsten ( $SD = 0,42$ ). Es standen für diesen Zeitpunkt nur Werte von 3 PatientInnen zur Auswertung zur Verfügung. In der Gruppe der PatientInnen mit unklarem IgG4 Status war die Konzentration des CRP am Ende der Therapie mit einem Mittelwert von 0,5 mg/dl ebenfalls niedriger als am Anfang der Therapie (2,3 mg/dl). Keiner dieser Unterschiede erreichte dabei Signifikanz (**Abb. 9**).



**Abb. 9:** CRP-Konzentrationen in mg/dl über den Therapiezeitraum. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen der einzelnen Gruppen. Die gestrichelte Markierung entspricht dem oberen Grenzwert (0,5 mg/dl).

### 3.4.2 Blutsenkungsgeschwindigkeit

Die BSG der IgG4-positiven Gruppe lag über den gesamten Therapiezeitraum betrachtet mit einem Mittelwert von 14,93 mm nach Westergren (n.W.) geringfügig unter den Mittelwerten der IgG4-negativen (15,29 mm n.W.) und der Gruppe mit unklarem IgG4 Status (15,62 mm n.W.) ohne Signifikanz. Die BSG aller Gruppen lag mit ihren Mittelwerten über den gesamten Therapiezeitraum um den Grenzbereich von unter 50-jährigen Männern (15 mm). Die Mittelwerte überschritten zu keinem Zeitpunkt den Grenzwert der über 50 Jahre alten Frauen (30 mm) und den Grenzwert der über 50 Jahre alten Männer bzw. der unter 50 Jahre alten Frauen (20 mm) (**Abb. 10**). Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied. In der Gruppe der IgG4-positiven PatientInnen fehlen von 2 PatientInnen über den gesamten Therapiezeitraum Daten, die in die Auswertung mit einfließen konnten.



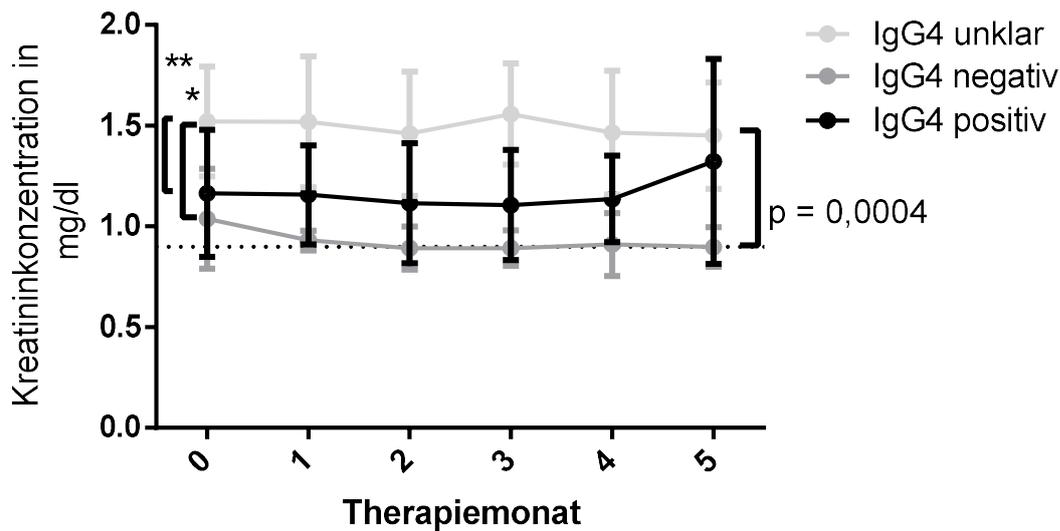
**Abb. 10:** BSG in mm nach Westergren über den Therapiezeitraum (n=17). Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Die oberen Grenzwerte für über 50-jährige Frauen (30 mm) und Männer (20 mm) sind markiert.

### 3.5 Nierenfunktionsparameter

#### 3.5.1 Kreatininkonzentration im Serum

Die Kreatininkonzentrationen im Serum der Erkrankten zeigten über den gesamten Therapiezeitraum von 6 Monaten keine signifikanten Veränderungen. Vergleicht man die 3 Gruppen untereinander im Mittelwert über den gesamten Therapiezeitraum, so zeigten sich signifikant höhere Kreatininkonzentrationen der PatientInnen mit unbekanntem IgG4 Status (Mittelwert = 1,492 mg/dl) gegenüber IgG4-positiven (Mittelwert = 1,147 mg/dl,  $p < 0,0001$ ) und -negativen PatientInnen (Mittelwert = 0,9038 mg/dl,  $p < 0,0001$ ). Zudem war die Kreatininkonzentration der IgG4-positiven PatientInnen insgesamt signifikant höher als die der IgG4-negativen PatientInnen ( $p = 0,0002$ ). Zu den einzelnen Therapiezeitpunkten bestand zwischen IgG4-positiven und -negativen PatientInnen kein signifikanter Unterschied. Die geringsten Kreatininkonzentrationen wiesen die IgG4-negativen PatientInnen auf. Nur vor Therapiebeginn lag die Kreatininkonzentration mit 1,038 mg/dl über dem Grenzwert. Signifikant war die Differenz der IgG4-positiven und -unklaren PatientInnen zum Zeitpunkt 0 ( $p = 0,0381$ ), 1 ( $p = 0,0352$ ), 3 ( $p = 0,017$ ) und 4 ( $p = 0,0446$ ). Zwischen der IgG4-negativen und -unklaren Gruppe bestand zu jedem Therapiezeitpunkt ein signifikanter Unterschied der Konzentrationen (Zeitpunkt 0  $p = 0,0189$ , 1  $p = 0,0012$ , 2  $p = 0,001$ , 3  $p < 0,0001$ , 4  $p = 0,002$  und 5  $p = 0,0004$ ).

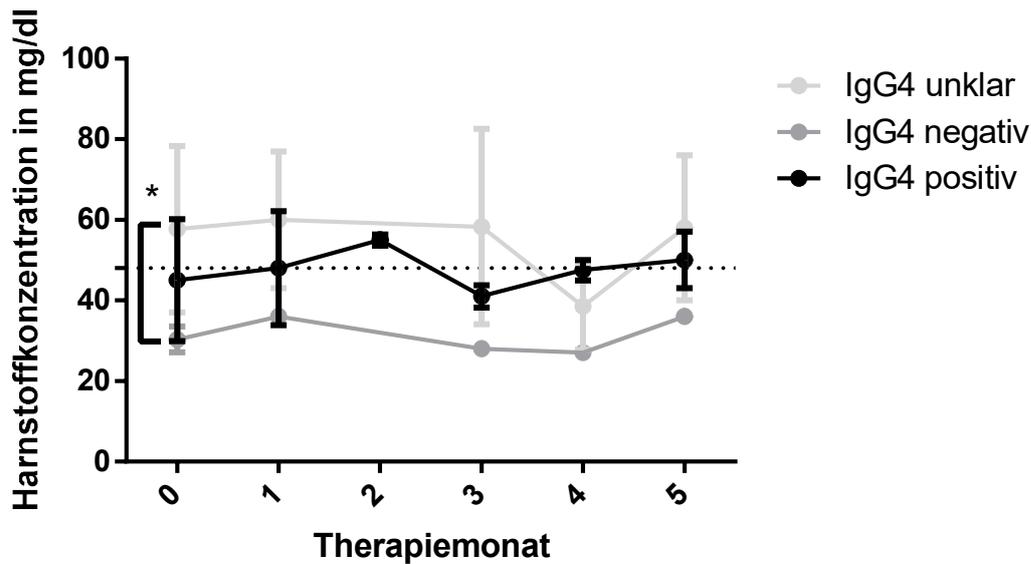
In der Gruppe der IgG4-positiven PatientInnen stieg die Kreatininkonzentration zum Therapieende leicht an (von 1,164 mg/dl auf 1,322 mg/dl). In den anderen Gruppen sank die Kreatininkonzentration zum Therapieende geringfügig ab (IgG4-negativ 1,038 mg/dl auf 0,898 mg/dl, IgG4-unklar 1,52 mg/dl auf 1,45 mg/dl). Diese Veränderungen erreichten keine Signifikanz (Abb. 11).



**Abb. 11:** Kreatininkonzentration in mg/dl über den Therapiezeitraum. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Markiert sind der obere Grenzwert (0,9 mg/dl) sowie die Signifikanzen. \* =  $p < 0,0001$ , \*\* =  $p < 0,0001$ .

### 3.5.2 Harnstoffkonzentration im Serum

In allen 3 Patientengruppen blieb die Konzentration des Harnstoffs im Serum über den Therapiezeitraum annähernd stabil. Die Konzentrationen der PatientInnen mit unklarem IgG4 Status lagen über den gesamten Therapiezeitraum am höchsten (Mittelwert = 58 mg/dl). Die Werte der IgG4-negativen PatientInnen waren über den gesamten Zeitraum signifikant am geringsten (Mittelwert = 30,33 mg/dl) gegenüber denen der IgG4-unklaren ( $p = 0,0024$ ) und der IgG4-positiven Gruppe ( $p = 0,002$ ). Damit befanden sie sich im Mittel unterhalb des oberen Grenzbereiches von 48 mg/dl. Die Konzentration der IgG4-positiven PatientInnen bewegte sich mit geringer Varianz um diesen Grenzbereich. Zum Zeitpunkt 0 bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den Werten der IgG4-negativen und -unklaren Patientengruppe ( $p = 0,0219$ ) (Abb. 12). In der Gruppe der IgG4-negativen PatientInnen lag ab dem Zeitpunkt 1 nur ein Wert zur Auswertung vor.

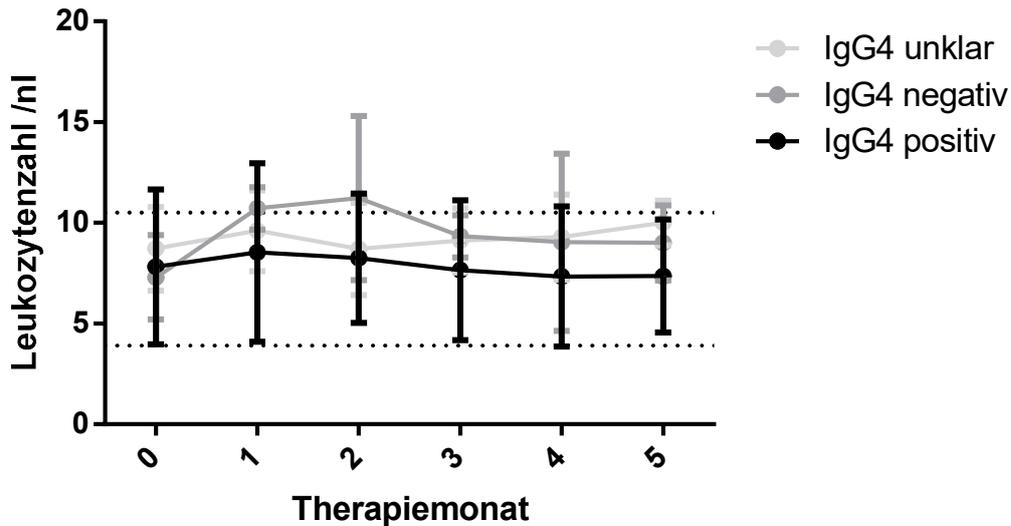


**Abb. 12:** Harnstoffkonzentrationen in g/dl über den Therapiezeitraum. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Markiert sind der obere Grenzwert bei 48 mg/dl, sowie die Signifikanz ( $p = 0,0024$ ).

### 3.6 Blutbild

#### 3.6.1 Leukozytenkonzentration im Blut

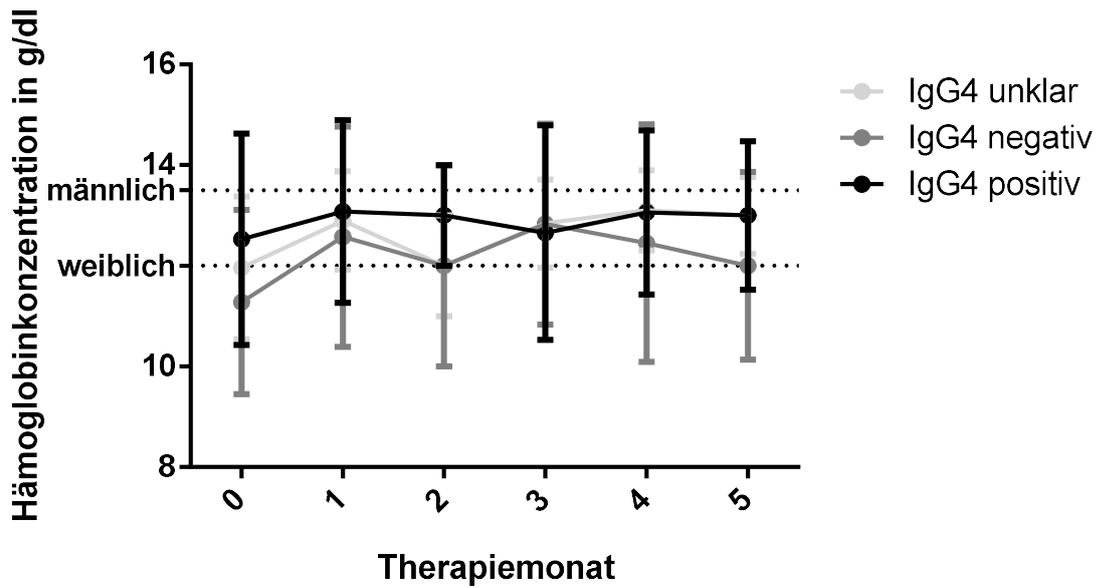
Die Mittelwerte der Leukozytenkonzentrationen lagen in allen 3 Patientengruppen über den gesamten Therapiezeitraum von 6 Monaten im Normbereich (3,9 - 10,5/nl). Der Mittelwert aller Leukozytenkonzentrationen der IgG4-positiven Gruppe war mit 7,828/nl signifikant geringer als der Mittelwert der IgG4-negativen PatientInnen (9,437/nl,  $p = 0,0366$ ) und der Gruppe mit unklarem IgG4 Status (9,243/nl,  $p = 0,0006$ ). Zum Therapiebeginn war die Gruppe mit der niedrigsten Leukozytenkonzentration die der IgG4-negativen PatientInnen mit 7,293/nl. Am höchsten war die Konzentration zum Therapiebeginn (8,27/nl) und -ende (10,0/nl) in der Gruppe der PatientInnen mit unklarem IgG4 Status. Diese Ergebnisse erzielten keine Signifikanz. Mit Werten von 10,72/nl und 11,23/nl überschritt als einzige Gruppe die Gruppe der IgG4-negativen PatientInnen im ersten und zweiten Therapiemonat den oberen Grenzwert der Leukozytenkonzentration (**Abb. 13**).



**Abb. 13:** Leukozytenkonzentrationen (Zellen/nl) über den Therapiezeitraum. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Markierungen geben den oberen und unteren Grenzbereich (10,5/nl und 3,9/nl) an.

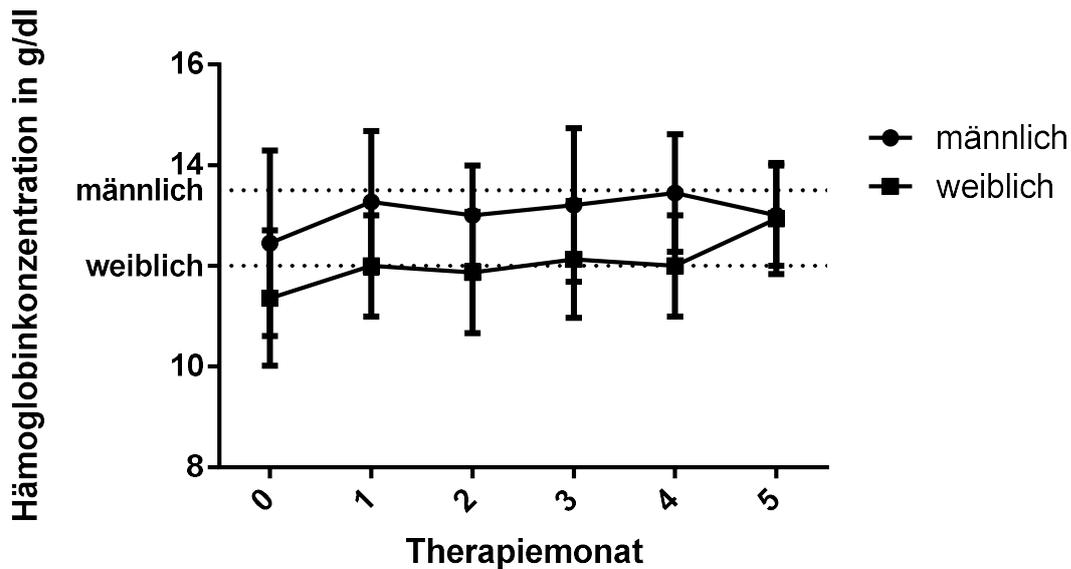
### 3.6.2 Hämoglobinkonzentration im Blut

Der Mittelwert der IgG4-positiven PatientInnen insgesamt lag mit 12,89 g/dl signifikant höher ( $p = 0,028$ ) als der Mittelwert der IgG4-negativen Gruppe mit 12,19 g/dl. Zwischen diesen beiden Gruppen befand sich die Gruppe der PatientInnen mit unklarem IgG4 Status (12,63mg/dl). Damit lagen die Mittelwerte der 3 Patientengruppen zwischen dem männlichen und dem weiblichen Grenzwert (13,5 und 12,0 g/dl) für eine Anämie. Unterhalb der weiblichen Anämiegrenze präsentierte sich nur der Mittelwert der Initialwerte der IgG4-negativen Gruppe (11,28 g/dl), zum Ende der Therapie lag die Hämoglobinkonzentration in dieser Gruppe genau auf der Grenze zur Anämie (12,0 mg/dl). Die IgG4-negativen Patienten lagen mit ihrer negativen Standardabweichung über den gesamten Therapiezeitraum im anämischen Bereich (12,19  $\pm$  0,5531 g/dl). Die Hämoglobinkonzentration der IgG4-positiven Gruppe war bis zur Hälfte des Therapiezeitraumes die Höchste. Ab Therapiemonat 3 lag dann die Konzentration der IgG4-unklaren Gruppe geringfügig höher. In jeder der Gruppen stieg die Konzentration des Hämoglobins zum Ende des Therapiezeitraumes. Einen signifikanten Anstieg gab es in der Gruppe der IgG4-unklaren von 11,96 g/dl vor Therapiebeginn auf 13,0 g/dl zum Therapieende ( $p = 0,0039$ ) (**Abb. 14**).



**Abb. 14:** Hämoglobinkonzentrationen in g/dl über den Therapiezeitraum. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Der untere Grenzwert für Frauen (12,0 g/dl) und Männer (13,5 g/dl) ist jeweils mit einer gestrichelten Linie markiert.

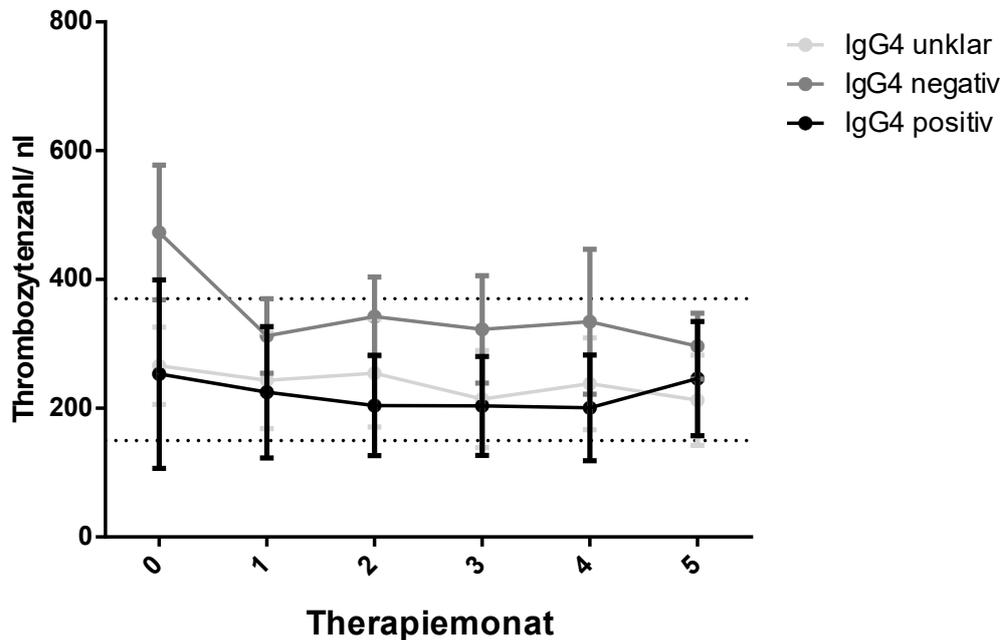
Bezugnehmend auf die geschlechtsspezifischen Hämoglobinkonzentrationen, zeigten insbesondere die männlichen Patienten Werte im anämischen Bereich. Ein geringer Anstieg der Hämoglobinkonzentration vom Zeitpunkt vor Therapie bei 12,45 g/dl zum Ende der Therapie auf 13,0 g/dl zeigte sich. Die Patientinnen zeigten vor Therapiebeginn eine Anämie (11,36 g/dl). Im weiteren Therapieverlauf waren die Hämoglobinkonzentrationen der Patientinnen grenzwertig bis normwertig. Zum Ende der Therapie lagen sie sogar mit 12,94 g/dl deutlich im Normbereich (**Abb. 15**).



**Abb. 15:** Hämoglobinkonzentrationen in g/dl nach Geschlecht über den Therapiezeitraum. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen der Patientinnen und Patienten. Der untere Grenzwert für Frauen (12,0 g/dl) und Männer (13,5 g/dl) ist jeweils mit einer gestrichelten Linie markiert.

### 3.6.3 Thrombozytenkonzentration im Blut

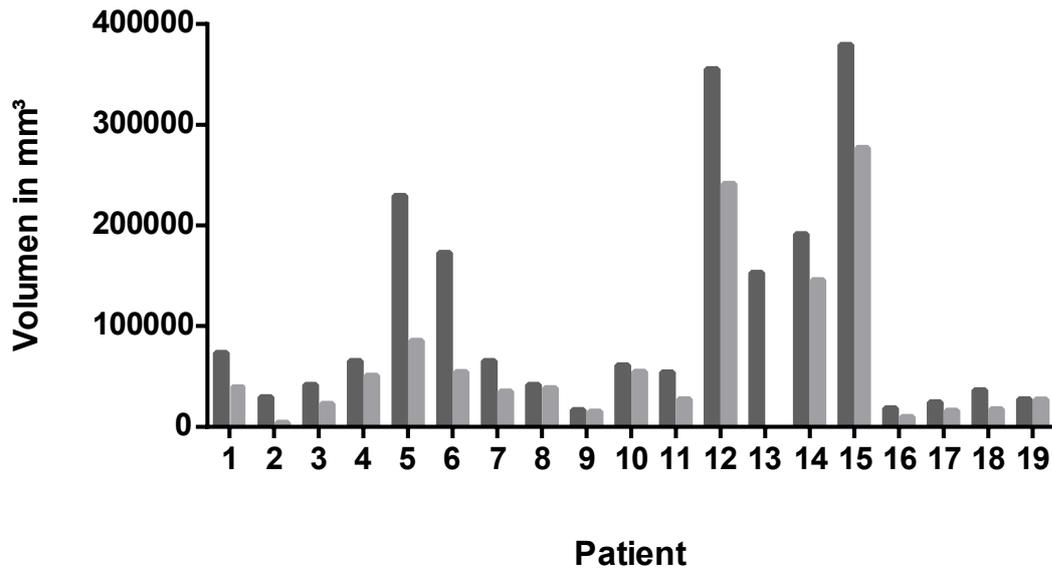
Der Mittelwert der Thrombozytenkonzentrationen der IgG4-negativen PatientInnen zum Zeitpunkt der Erstdiagnose (473/nl) war signifikant höher als der, der IgG4-positiven (243/nl;  $p=0,0246$ ) und der PatientInnen mit unbekanntem IgG4 Status (269,5/nl;  $p = 0,0205$ ). Die Gruppe der IgG4-negativen PatientInnen lag mit 346,9/nl im Mittel über den gesamten Therapiezeitraum am höchsten. Gegenüber dem Mittelwert der IgG4-positiven PatientInnen (222,1/nl) erreichte dieser Unterschied Signifikanz ( $p = 0,0037$ ). Die PatientInnen mit unklarem IgG4 Status lagen mit ihren Thrombozytenkonzentrationen (Mittelwert = 238,1/nl) zwischen den beiden anderen Gruppen. In allen Patientengruppen sank die Konzentration zum Therapieende ohne Signifikanz ab. Die IgG4-negativen PatientInnen hatten zum Ende der Therapie eine normwertige Konzentration von 296,5/nl. Eine Thrombozytopenie stellte sich in den Mittelwerten keiner der 3 Gruppen ein (**Abb. 16**). Ein Patient der IgG4-positiven Gruppe zeigte zum Ende der Therapie eine Thrombozytopenie ( $< 150$  Thrombozyten/nl). Unter der Gruppe der PatientInnen mit unklarem IgG4 Status zeigten dies 2 Patienten zu unterschiedlichen Therapiezeitpunkten. Von 2 Patienten lagen uns keinen Daten zur Auswertung vor.



**Abb. 16:** Thrombozytenzahl (Zellen/nl) über den Therapiezeitraum. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Markiert sind außerdem die Grenzwerte für eine Thrombozytose (370/nl) und Thrombozytopenie (150/nl) mittels gestrichelter Linien.

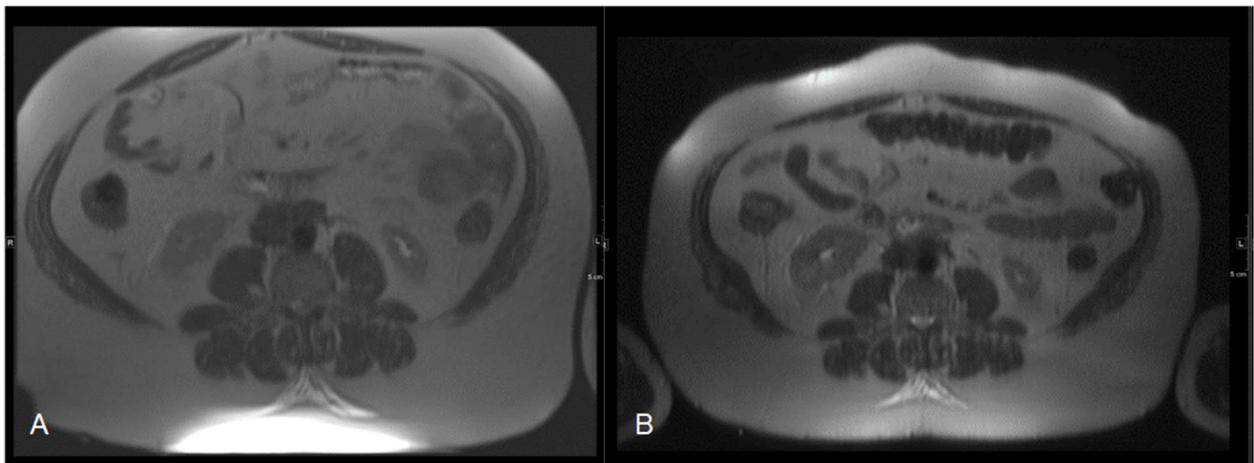
### 3.7 Volumenausdehnung der retroperitonealen Fibrose

Bei allen PatientInnen (n=19) zeigte sich unabhängig vom IgG4 Status nach 6 Monaten systemischer Therapie mit Cyclophosphamid und Prednisolon eine Verringerung des retroperitonealen Volumens. Das höchste Ausgangsvolumen betrug 379.543,5 mm<sup>3</sup>, das geringste 16.960,5 mm<sup>3</sup>. Bei diesen beiden PatientInnen war der IgG4 Status unbekannt (**Abb. 17**). Bei einem Patienten kam es während der Therapie zur kompletten Regredienz (**Abb. 17**, Patient 13). Nach Therapie war bei diesem männlichen Patienten mit negativen IgG4 Status bildmorphologisch keine Fibrose mehr nachweisbar.

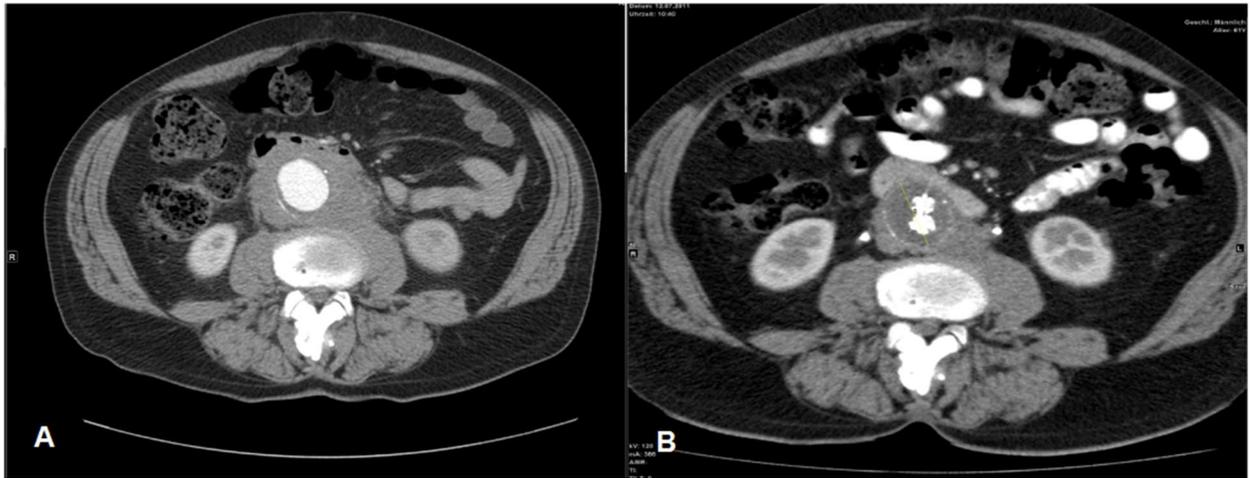


**Abb. 17:** Volumina in mm<sup>3</sup> der einzelnen PatientInnen vor und nach Therapie. Dunkelgrau = vor Therapie, hellgrau = nach Therapie.

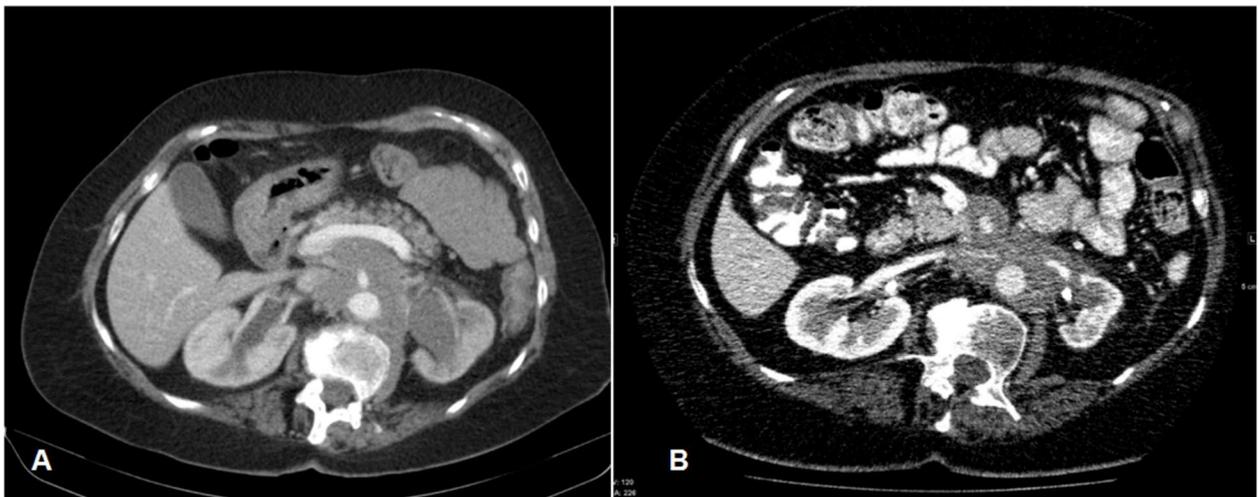
Beispielhaft für das Ausmessen der Volumina sind einige Bilder nach IgG4 Status vor und nach Therapie ausgewählt (**Abb. 18 bis 20**).



**Abb. 18:** Exemplarische CT eines IgG4-positiven Probanden A) vor Therapie (A = 894,4mm<sup>2</sup>) und B) nach 6 Monaten Therapie (A = 765,8 mm<sup>2</sup>)

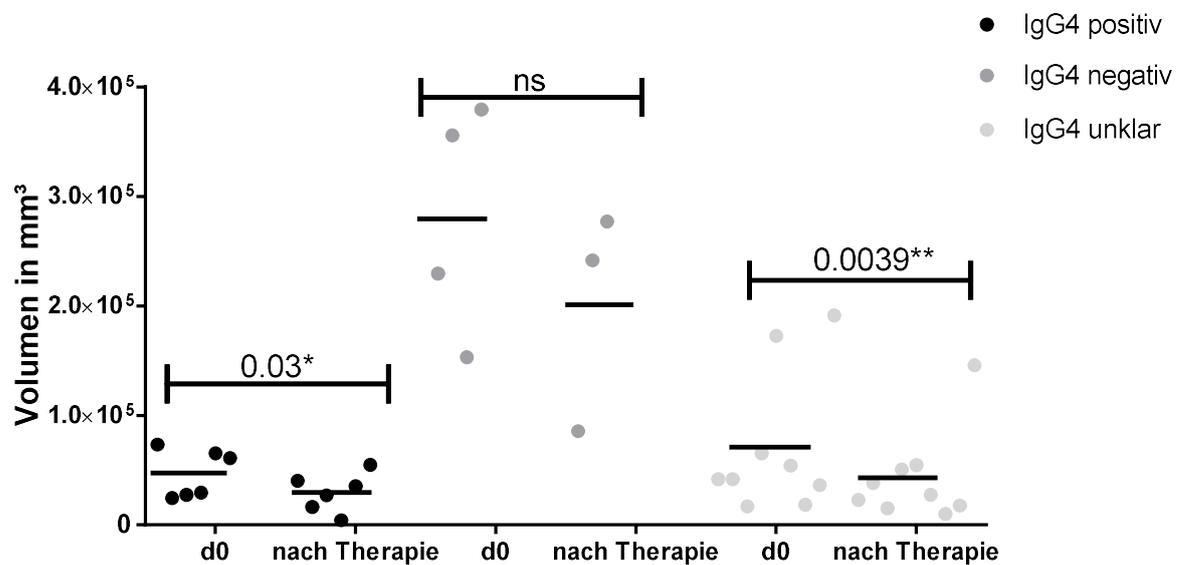


**Abb. 19:** Exemplarische MRT eines Patienten mit unbekanntem IgG4 Status A) vor Therapie (A = 2226 mm<sup>2</sup>) und B) 6 Monate nach Therapie (A = 985,6 mm<sup>2</sup>)



**Abb. 20:** Exemplarische MRT einer IgG4-negativen Patientin A) vor Therapie (A = 2498,7 mm<sup>2</sup>) und B) nach 6 Monaten Therapie (A = 166 mm<sup>2</sup>)

Vergleicht man die Gruppen bezüglich ihres IgG4 Status, wiesen die IgG4-negativen PatientInnen das höchste Ausgangsvolumen (Mittelwert = 279.473 mm<sup>3</sup>) (**Tab. 2, Abb. 21**) und die geringste Volumenreduktion über die Zeit (-28%) und damit keine signifikante Verminderung auf. Der Mittelwert der IgG4-positiven PatientInnen war am geringsten (46884 mm<sup>3</sup>). Die Volumenunterschiede zwischen den einzelnen Gruppen erreichten keine Signifikanz. Bei den IgG4-positiven PatientInnen und denen, mit unklarem IgG4 Status, kam es über den Therapiezeitraum zu einer signifikanten Reduktion des Volumens der RPF ( $p = 0,0313$  und  $p = 0,0039$ ) (**Abb. 21, Tab. 2**). Mit einer Reduktion des Volumens auf fast 50% des Ausgangswertes wies die Gruppe der IgG4-unklaren Patienten die stärkste Verminderung bezogen auf den Ausgangswert auf.



**Abb. 21:** Volumen in mm<sup>3</sup> in Abhängigkeit vom Therapiezeitpunkt. Dargestellt sind die Volumina einzelner PatientInnen nach Gruppen sortiert vor (d0) und nach Therapie. Der Mittelwert der jeweiligen Gruppen ist markiert. Das Signifikanzniveau der Volumenänderung der einzelnen Gruppen über den Therapiezeitraum ist zusätzlich angegeben.

Patientengruppe	Mittelwert Volumen d0 in mm <sup>3</sup>	Mittelwert Volumen nach Therapie in mm <sup>3</sup>	Reduktion Volumen in mm <sup>3</sup>	Reduktion Volumen in %	p
<b>IgG4-positiv</b>	46884	29649	17235	36,76	0,0313
<b>IgG4-negativ</b>	279473	201468	78005	28	0,25
<b>IgG4 unklar</b>	55941	29590	26351	47,1	0,0039

**Tab. 2:** Übersicht Volumenänderung der einzelnen Patientengruppen mit Angabe des Signifikanzniveaus p (Vergleich Volumen vor und nach Therapie).

### 3.8 Therapie der einzelnen PatientInnen

Von den n=19 PatientInnen erhielten 3 die Cyclophosphamidtherapie nach frustriertem Therapieversuch mittels Glukokortikoid-Monotherapie. Bei 6 PatientInnen erfolgte die Cyclophosphamidtherapie als first line Therapie ausschließlich über den 6 Monatszeitraum, wobei bei einem wegen eines Rezidivs die Therapie erneut begonnen wurde. Eine Deeskalation mit Azathioprin nach abgeschlossener Cyclophosphamidtherapie wurde bei 7 dieser PatientInnen

durchgeführt. Die Einzeldosis von Cyclophosphamid lag im Bereich von 800 bis 1200 mg pro Bolus ( $375 \text{ mg/m}^2$ ), bei einer Kumulativdosis zwischen 4,8 bis 7,0 g. Zusätzlich zur medikamentösen Therapie war bei 13 PatientInnen der Einsatz von Doppel-J-Kathetern zur akuten Entstauungstherapie notwendig. Bei einigen PatientInnen lagen die genauen Angaben zur Therapie nicht vollständig vor (**Tab. 3**). Ein Patient erhielt im Anschluss bei ausbleibender Symptombesserung zusätzlich eine Therapie mit Rituximab.

Während des Therapiezeitraumes kam es bei 2 PatientInnen zu rezidivierenden Harnwegsinfekten, bei 2 PatientInnen trat Erbrechen auf. Weiterhin klagten 2 PatientInnen mit vorbekannter chronisch obstruktiver Bronchitis über Husten mit Auswurf und 2 PatientInnen litten weiterhin unter Flanken- bzw. Unterbauchschmerzen. Abgeschlagenheit, gelegentlicher Nachtschweiß und Kribbelparästhesien beklagte jeweils 1 Patient.

<i>Proband</i>	<i>Geschlecht</i>	<i>IgG4 Status</i>	<i>Anschluss Therapie nach 6 Monaten</i>	<i>Doppel-J-Katheter</i>
1	Männlich	Positiv	Azathioprin	Beidseits
2	Weiblich	Positiv	Azathioprin	Beidseits
3	Männlich	Unbekannt	Intervallstreckung	Nein
4	Männlich	Unbekannt	Intervallstreckung	Nein
5	Weiblich	Negativ	Cyclo > 6 Mo	Nein
6	Männlich	Unbekannt	Azathioprin	Beidseits
7	Weiblich	Positiv	Intervallstreckung	Beidseits
8	Weiblich	Unbekannt	Azathioprin	Beidseits
9	Weiblich	Unbekannt	Azathioprin	Beidseits
10	Männlich	Positiv	Azathioprin	Rechts
11	Männlich	Unbekannt	Azathioprin	Nein
12	Männlich	Negativ	Keine Angabe.	Beidseits
13	Weiblich	Negativ	Regredient	Nein
14	Männlich	Unbekannt	Intervallstreckung und Rituximab	Links
15	Weiblich	Negativ	Cyclo > 6 Mo	Beidseits
16	Weiblich	Unbekannt	Intervallstreckung	Links
17	Männlich	Positiv	Cyclo > 6 Mo	Beidseits.
18	Männlich	Unbekannt	Intervallstreckung	Nein
19	Männlich	Positiv	Cyclo > 6 Mo	Beidseits

**Tab. 3:** Überblick Therapie und IgG4 Status der einzelnen Patienten (Cyclo = Cyclophosphamid). Die Intervallstreckung entspricht einer Fortführung der Cyclophosphamidtherapie, wobei das Intervall zwischen den Bolusgaben > 1 Monat beträgt.

### 3.9 Berücksichtigung weiterer Merkmale unter Therapie

#### 3.9.1 Volumenausdehnung bei PatientInnen mit retroperitonealer Fibrose und Aneurysma

Bei 5 PatientInnen dieser Studie zeigte sich in der Bildgebung auch ein Aortenaneurysma. Alle diese Patienten gehörten zur Gruppe mit unklarem IgG4 Status, in die folgende Betrachtung floss nur die entsprechende Gruppe ein. Die Mittelwerte der Volumina der PatientInnen ohne Aneurysma vor und nach Therapie lagen nicht signifikant unter denen, mit Aneurysma. Das Volumen der RPF reduzierte sich bei den PatientInnen mit Aneurysma um mehr als die Hälfte,

erreichte jedoch keine Signifikanz ( $p = 0,0625$ ). Die Volumenreduktion der PatientInnen ohne Aneurysma war signifikant ( $p = 0,0001$ ) (Abb. 22, Tab. 4).

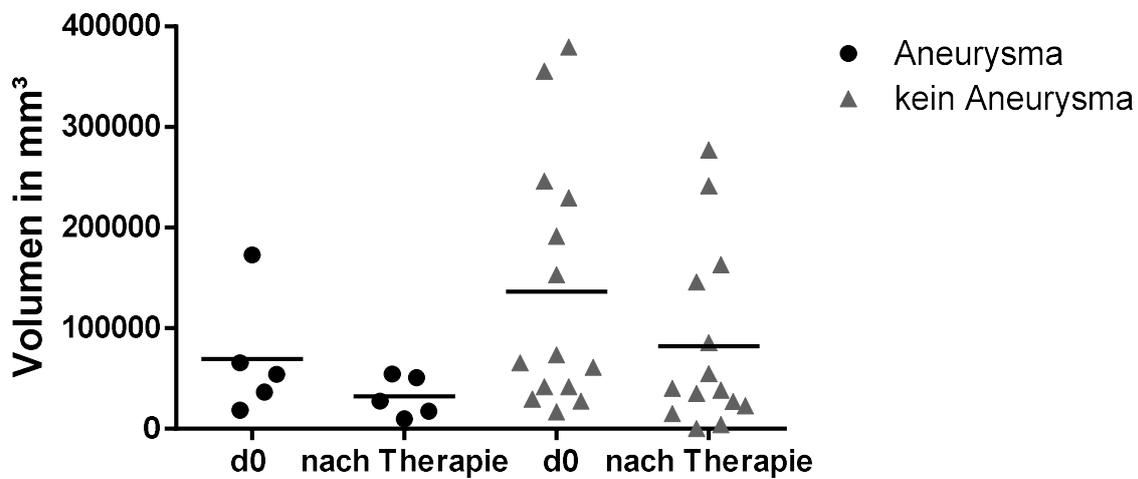


Abb. 22: Volumenänderung (mm<sup>3</sup>) der PatientInnen mit und ohne Aneurysma vor Therapie (d0) und nach Therapie. Dargestellt sind die Einzelwerte und die Mittelwerte der jeweiligen Gruppe.

Patientengruppe	Mittelwert Volumen d0 in mm <sup>3</sup>	Mittelwert Volumen nach Therapie in mm <sup>3</sup>	Reduktion Volumen in mm <sup>3</sup>	Reduktion Volumen in %	P
Kein Aneurysma (n=14)	136628	82211	54417	39,83	0,0001
Aneurysma (n=5)	69394	32091	36493	52,59	0,0625

Tab. 4: Volumenänderung über den Therapiezeitraum. Die Einteilung in die Gruppen erfolgt nach Vorhandensein eines Aneurysmas. P = Signifikanzniveau (Vergleich Volumen vor und nach Therapie).

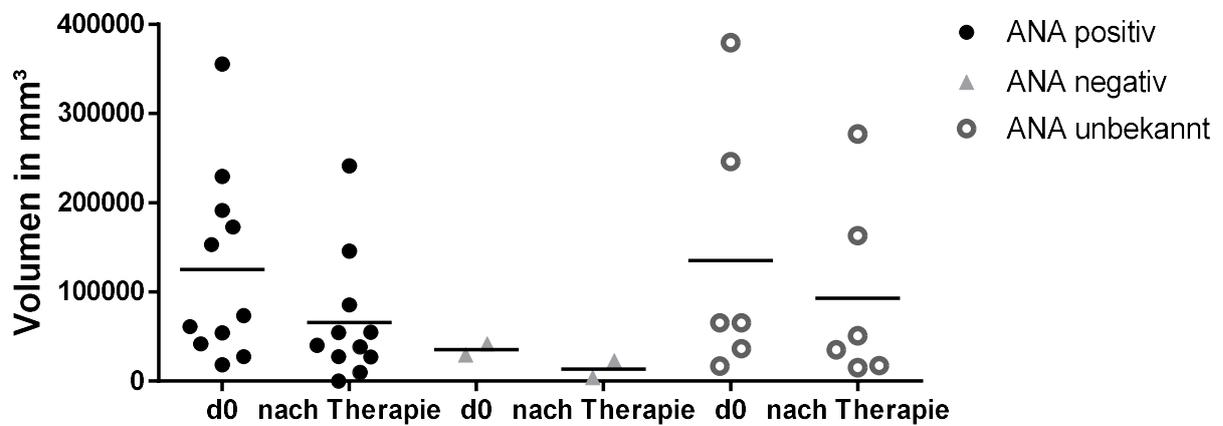
### 3.9.2 Volumenausdehnung unter der Berücksichtigung des ANA-Titers

Bei 13 der 19 PatientInnen wurde der ANA-Titer bestimmt. 11 PatientInnen hatten einen positiven Titer, davon lagen bei 6 Biopsien vor, 3 waren IgG4-positiv und 3 IgG4-negativ.

Unterteilt man die Kohorte nach ihrer Autoantikörperdiagnostik, so war die Volumenänderung in der Gruppe der ANA-negativen PatientInnen am größten (-61.9%), auf Grund der geringen Zahl von PatientInnen in dieser Gruppe war jedoch keine Signifikanz berechenbar (Tab. 5, Abb. 23).

Die Gruppe der ANA-positiven und auch die Gruppe derer, bei denen keine Antikörperdiagnostik durchgeführt wurde, wiesen eine signifikante Volumenänderung von Beginn zum Endzeitpunkt der Therapie auf ( $p = 0,001$  und  $p = 0,0313$ ). Bei den PatientInnen mit positiven ANA Nachweis

verringerte sich das Volumen um fast 50%, bei den PatientInnen mit unklarem Antikörperstatus war die Volumenänderung mit 30% geringer.



**Abb. 23:** Volumenänderung (mm<sup>3</sup>) über den Therapiezeitraum unterteilt nach ANA Status vor Therapie (d0) und nach Therapie. Dargestellt sind Einzelwerte, sowie die Mittelwerte der jeweiligen Gruppen.

Patientengruppe	Mittelwert Volumen d0 in mm <sup>3</sup>	Mittelwert Volumen nach Therapie in mm <sup>3</sup>	Reduktion Volumen in mm <sup>3</sup>	Reduktion Volumen in %	p
<b>ANA positiv (n=11)</b>	125305	65956	59349	47,36	0,0010
<b>ANA negativ (n=2)</b>	35623	13564	22059	61,9	Err
<b>ANA unbekannt (n=6)</b>	135026	93127	41899	31,03	0,0313

**Tab. 5:** Volumenänderung über den Therapiezeitraum. Die Einteilung in verschiedene Gruppen erfolgt anhand des Antikörper Status. Err = keine Signifikanz Ermittlung war auf Grund weniger Werte möglich. P = Signifikanzniveau (Vergleich vor und nach Therapie).

## **4. Diskussion**

### **4.1 Epidemiologie**

Das dieser Studie zu Grunde liegende Patientenkollektiv unterschied sich in einigen Merkmalen von denen in der Literatur beschriebenen. Charakteristisch für die RPF ist, dass deutlich mehr Männer als Frauen, meist in einem Verhältnis von 2:1, betroffen sind [2, 3, 6, 7, 9, 12]. In der von uns untersuchten Kohorte betrug das Verhältnis von Männern zu Frauen 11:8. Da wir nur 19 PatientInnen einschließen konnten, fällt der Unterschied damit etwas weniger geringer aus. Auch wies unser Patientenkollektiv eine größere Altersspanne mit älteren PatientInnen auf, die sich statt zwischen 40 und 60 Jahren [2, 3, 6, 7, 9, 12] von 44 bis 74 Jahren bei Therapiebeginn bewegte. Dies kann durch das zusätzliche Einschlusskriterium der Cyclophosphamidtherapie bedingt sein, welches das Patientenkollektiv zusätzlich eingegrenzt und in der angegebenen Literatur bisher nicht berücksichtigt wurde.

### **4.2 IgG4-Konzentration im Serum und in der Biopsie**

#### *Serum*

In der Literatur ist eine Reduktion der IgG4-Konzentration unterschiedlichen Ausmaßes im Serum unter Therapie mit Cyclophosphamid beschrieben [27]. In den uns verfügbaren Seren zu den entsprechenden Therapiezeitpunkten der PatientInnen (n=2) stellte sich eine Reduktion der IgG4-Konzentration nach sechsmonatiger Therapie dar.

In dieser Arbeit erfolgte im Weiteren nur die Analyse der initialen IgG4-Konzentrationen, die bei allen unserer PatientInnen im Normbereich lagen. Umehara et al [6] beschrieben eine gute Aussagekraft der IgG4-Konzentration im Serum zur Differenzierung zwischen IgG4-positiven und -negativen PatientInnen. Hierbei wiesen laut dieser Studie die IgG4-positiven PatientInnen höhere IgG4-Konzentrationen im Serum auf. In unserer Analyse konnten wir keine signifikanten Unterschiede der Konzentrationen zwischen den einzelnen Gruppen feststellen. Damit schließen wir uns der Studie von Khosroshahi et al [12] an. Bei diesem Patientenkollektiv, welches in seiner Größe etwa dem unserer Studie entsprach, zeigten sich keine Unterschiede der IgG4-Serumkonzentration zwischen den verschiedenen Gruppen. Die IgG4-negativen PatientInnen wiesen in unserem Kollektiv die höchsten IgG4-Konzentrationen aller PatientInnen auf. Dies widerlegt die Aussage, dass bei hoher Entzündungsaktivität, die bei den IgG4-positiven PatientInnen auf Grund der Biopsie angenommen wird, IgG4 auch im Serum in erhöhter Konzentration zu finden ist [8, 9]. Carruthers et al [41] beschrieben eine geringe Spezifität der IgG4-Konzentration im Serum. Bei der Bestimmung der IgG4-Konzentrationen unserer

PatientInnen wurde nicht berücksichtigt, ob beispielsweise die IgG4-negativen PatientInnen unter einer anderen Erkrankung litten, die zu einer Erhöhung des IgG4 im Serum führen kann [41]. Zusätzlich ist bekannt, dass bei IgG4-assoziiierter Erkrankung die Höhe des IgG4 Spiegels abhängig von der Anzahl und Art der betroffenen Organe ist [4, 7, 41]. Je mehr Organe betroffen sind, desto höher ist die IgG4-Konzentration [4]. Bei isolierter RPF konnten bisher nur vergleichsweise geringe Konzentrationen detektiert werden [4, 9] und eine Korrelation der IgG4-Konzentration im Serum und der Biopsie konnte nicht aufgedeckt werden [42]. Dieses Ergebnis wird auch in den aktuellen EULAR/ACR Kriterien zur Diagnostik der IgG4-assoziierten Erkrankung berücksichtigt. Eine erhöhte IgG4-Konzentration im Serum ist nicht als Einschlusskriterium aufgelistet [11]. Da in unseren Daten nicht dokumentiert war, ob noch weitere Organe von der Fibrose betroffen waren, ist es möglich, dass die PatientInnen unserer IgG4-positiven Kohorte eine milde Ausprägung der IgG4-assoziierten Erkrankung aufwiesen mit ausschließlicher RPF.

Neuere Arbeiten verfolgen die Ansätze, dass die IgG4-Konzentration der Biopsie mit der IgE Konzentration im Serum korreliert und diese statt der IgG4-Konzentration zur Unterscheidung zwischen IgG4-positiver und -negativer RPF herangezogen werden sollte [42, 43].

### *Biopsie*

Die Biopsien wurden durch uns auf das Ausmaß der Infiltration mit IgG4-positiven Plasmazellen untersucht. Ein wichtiger Aspekt, der in der Literatur immer wieder diskutiert wird, ist in wieweit das Ausmaß der Entzündungsaktivität einen Einfluss auf den Therapieerfolg hat [5]. Histologisch konnten deutliche Unterschiede zwischen IgG4-positiven und -negativen Fibrosen aufgedeckt werden. In IgG4-positiven Prozessen finden sich deutlich mehr Entzündungszellen [9]. Eine Infiltration mit Eosinophilen wird häufiger gesehen [9, 12, 42, 43]. Zudem ist die Fibrose eher spiralig angeordnet und von mehr Gefäßen durchbrochen. Dahingegen weisen die Biopsien der IgG4-negativen PatientInnen eine eher unspezifisch angeordnete hyaline und azelluläre Fibrose auf [9, 42]. Die lymphoplasmazytischen Infiltrationen sind weniger dicht mit wenig IgG4-positiven Plasmazellen. Phlebitis oder eosinophile Infiltrationen sind in geringerem Ausmaß [9, 42] oder gar nicht vorhanden [12]. Mitchinson [2] fand ähnliche Unterschiede, als er alte und neue Entzündungsprozesse untersuchte. Auch mittels Bildgebung kann eine Abstufung der Aktivität erfolgen [44]. Eine höhere Anreicherung in der Fluorodesoxyglukose Positron-Emissions-Tomographie (FDG PET) bei IgG4-positiven Biopsien konnte aufgedeckt werden [44]. Dies spricht für einen aggressiveren Prozess. Eine Korrelation mit den Entzündungswerten im Serum

besteht nicht. Das FDG PET könnte damit eine geeignete Methode zum Monitoring der Therapie auch frühzeitig sein [44]. Zudem konnten nach Glukokortikoidtherapie weniger Aktivität im FDG-PET [44] und weniger IgG4 Infiltrationen nachgewiesen werden [45]. Dies unterstützt die Hypothese, dass IgG4-negative Biopsien inaktive Prozesse sind [9, 42, 43]. Histologisch möglich und entscheidend für die Therapie ist auch eine Differenzierung in sekundäre und idiopathische Fibrose [14, 19]. PatientInnen mit einer sekundären RPF profitierten demnach vor allem durch ein operatives Vorgehen (z. B. Ureterolyse), im Gegensatz dazu, konnten bei der primären Form auch ohne Operation und mit rein medikamentöser Therapie Erfolge erzielt werden [14]. In Zukunft könnte also die Biopsie zur Unterscheidung zwischen IgG4-positiv und IgG4-negativ obsolet sein und durch bildgebende Verfahren ersetzt werden, die auf Grund ihres nicht invasiven Verfahrens eine deutlich bessere Variante darstellen.

### **4.3 C-reaktives Protein und Blutsenkungsgeschwindigkeit**

CRP und BSG sind Marker der Akute Phase Reaktion und etablierte Entzündungsmarker [46]. Sie weisen eine geringe Sensitivität auf, da sie durch weitere Faktoren beeinflusst werden und nicht spezifisch für eine Entzündungsreaktion sind [46].

Entsprechend der Literatur [6, 9, 12, 19] zeigte sich auch in unserer Analyse eine initiale CRP Erhöhung bei allen PatientInnen unabhängig vom IgG4 Status, diese war jedoch nur geringen Ausmaßes und zeigte keine signifikante Änderung über den Therapiezeitraum. Der Mittelwert der CRP-Konzentrationen der IgG4-positiven PatientInnen lag höher als der, der anderen Gruppen und war in Therapiemonat 1 sogar signifikant höher als bei den IgG4-negativen PatientInnen. Dies kann dafür sprechen, dass die IgG4-positiven Fibrosen die, mit der höheren Entzündungsaktivität sind [5, 7]. Davon gingen auch Liao et al [42] aus. Sie entdeckten einen Zusammenhang zwischen der Anzahl der eosinophilen Zellen im Gewebe und der Höhe von BSG und CRP. Bei höherer Anzahl von eosinophilen Granulozyten, die bei aktiveren Entzündungsprozess gefunden wurde, konnten sie auch eine höhere BSG und ein höheres CRP messen [42]. Dem widerspricht jedoch, dass in unserer Kohorte vor Therapiebeginn die CRP-Konzentration der IgG4-negativen PatientInnen höher war, als die der IgG4-positiven PatientInnen. Die nur geringen Änderungen des CRPs über den Therapieverlauf und die nur geringen Unterschiede zwischen den Patientengruppen können mit der leichten Beeinflussung dieses unspezifischen Parameters zusammenhängen. Das CRP als Marker für Entzündungen und Infektionen wird unter anderem durch die Leber synthetisiert. Erkrankungen, die mit einer eingeschränkten Leberfunktion

einhergehen, aber auch diverse andere Faktoren, wie z. B. Medikamenteneinnahme, Alter, Rauchen und Geschlecht können die Konzentration des CRPs beeinflussen [47].

Die BSG aller Gruppen bezogen auf das unserer Analyse zugrunde liegende Patientenkollektiv war stets normwertig. Dies widerspricht den Angaben in der Literatur. Parallel zur Erhöhung des CRPs wird je nach Literaturangabe auch eine Erhöhung der BSG bei allen PatientInnen [12, 13] bzw. bei 80% der PatientInnen [19] beschrieben. Nach den Ergebnissen von Heidenreich et al [14] eignet sich die BSG im Gegensatz zum CRP zum Monitoring unter Therapie. Auch bei weiteren chronisch entzündlichen Erkrankungen wird die BSG zum Therapiemonitoring genutzt wobei sie ein Parameter ist, der nur langsam Veränderungen zeigt [46]. Doch zeigte sich in unseren Daten keine Änderung der BSG über den Therapiezeitraum. Die BSG war damit entgegen der Literatur in unserer Analyse weder zur Differenzierung zwischen IgG4-positiven und -negativen PatientInnen noch zum Therapiemonitoring geeignet. Unabhängig vom entzündlichen Prozess kann die BSG durch weitere Veränderungen wie zum Beispiel Anämie, Polycythämie sowie Konzentrationsänderungen der Immunglobuline und Plasmaproteine beeinflusst werden [46]. Dies wurde in unserer Analyse nicht in die Auswertung einbezogen. Zudem beschreiben Pelkmans et al [25], dass die Höhe der BSG mit der IgG4-Konzentration im Serum korreliert. Da unsere IgG4 Serumkonzentrationen normwertig waren, kann dies erklären, warum auch die BSG normwertig ist.

#### **4.4 Blutbild**

Zwischen IgG4-positiven und IgG4-negativen PatientInnen sind in der Literatur keine Unterschiede beschrieben, die das Blutbild betreffen [12]. Dennoch gibt es bei PatientInnen mit RPF teilweise Auffälligkeiten im Blutbild.

##### **4.4.1 Leukozytenkonzentration**

Im Zusammenhang mit der chronischen Periaortitis wurde berichtet, dass bei ca. 10% der PatientInnen initial Leukozytosen auftreten [18]. Initial ist bei allen unserer PatientInnen die Leukozytenkonzentration im Normbereich. Die einzige Gruppe, die oberhalb des Normbereiches der Leukozytenkonzentration im Blut lag, war die Gruppe der IgG4-negativen PatientInnen in Therapiemonat 1 und 2. Eine Leukopenie unter Cyclophosphamidtherapie, welche als Nebenwirkung beschrieben wird [27, 33], trat nicht auf. Die Patientinnen unserer IgG4-positiven

Gruppe wiesen insgesamt signifikant niedrigere Leukozytenkonzentrationen auf, die jedoch weiterhin im Normbereich lagen.

#### **4.4.2 Hämoglobinkonzentration**

Die Hämoglobinkonzentrationen der IgG4-positiven Gruppe waren signifikant höher als die, der IgG4-negativen Gruppe. Die geschlechtsspezifische Betrachtung der Hämoglobinkonzentrationen verdeutlicht, dass vor Therapiebeginn alle PatientInnen eine Anämie hatten. Dies deckt sich mit den Angaben der Literatur, dass im Zusammenhang mit der RPF auch Anämien als Zeichen einer Entzündungsreaktion auftreten [5, 14, 19]. Einen signifikanten Anstieg der Konzentration über den Therapiezeitraum verzeichnete in unserer Analyse die Gruppe mit unbekanntem IgG4 Status und auch bei getrennter Betrachtung der Hämoglobinkonzentrationen der Männer und Frauen, kam es in beiden Gruppen zu einem geringen Anstieg. Damit entspricht dies den Ergebnissen von Scheel et al [34] auch hier kam es zum Therapieende zum Anstieg der Hämoglobinkonzentration. Der Effekt des Anstiegs der Hämoglobinkonzentration tritt bei den Frauen deutlicher hervor.

#### **4.4.3 Thrombozytenkonzentration**

Die IgG4-negativen PatientInnen hatten signifikant höhere Thrombozytenkonzentrationen als die IgG4-positiven PatientInnen. Dies zeigt sich insbesondere zu Therapiebeginn. In der Literatur sind Fälle von initialer Thrombozytose bei RPF beschrieben [5]. Tchebiner [48] et al fanden heraus, dass eine Thrombozytose vor allen Dingen bei subakuten chronisch verlaufenden Entzündungen auftritt. Auch dies könnte für die Hypothese sprechen, dass IgG4-negative Fibrosen ausgebranntten, inaktiveren IgG4-positiven Fibrosen entsprechen [7, 9]. Somit würde sich die initial signifikante Thrombozytose der IgG4-negativen PatientInnen gegenüber den positiven erklären. Es ist zu bedenken, dass eine Thrombozytose häufiger als zusätzliches Phänomen bei PatientInnen mit Anämie, nach Einnahme von Glukokortikoiden, häufiger bei Frauen, bei anderen rheumatischen Erkrankungen und generell Erkrankungen mit schlechter Prognose auftritt [48]. Dies wurde in unserer Analyse nicht berücksichtigt.

#### **4.5 Nierenfunktionsparameter**

In der Literatur ist beschrieben, dass über 50% der PatientInnen mit RPF erhöhte Kreatininkonzentrationen aufweisen [30]. In unserer Analyse waren es mit 79% sogar deutlich mehr als die Hälfte.

Auffallend ist, dass die Gruppe mit unbekanntem IgG4 Status, die 47% unseres gesamten Patientenkollektivs ausmacht, sich mit den höchsten Werten deutlich von den anderen Gruppen abhebt. Laut Khosroshahi [12] ist die Gruppe der IgG4-negativen PatientInnen, die mit den höchsten Kreatininkonzentrationen. In unserem Patientenkollektiv hatten sie jedoch die niedrigsten und sogar Konzentrationen im Normbereich.

Basierend auf der Annahme, dass eine hohe IgG4-Plasmazell-Infiltration für eine aktivere Entzündung spricht [7, 9], könnte man betreffend unsere Analyse schlussfolgern, dass eine aktive Entzündung mit einer schlechteren Nierenfunktion einher geht, da in unserer Auswertung die IgG4-positiven PatientInnen signifikant höhere Kreatininkonzentrationen als die IgG4-negativen PatientInnen hatten. Jedoch war keine Änderung der Retentionswerte über den Therapiezeitraum zu sehen, trotz Abnahme der entzündlichen Masse. Unter der Therapie mit Tamoxifen und Prednisolon ist eine signifikante Reduktion der Kreatininkonzentration beschrieben [30]. Hier erstreckt sich jedoch der Therapie- und Follow-up- Zeitraum über eine deutlich längere Zeit als in unserer Studie. Auch Heidenreich et al [14] konnten nach der Therapie in der Mehrzahl der Fälle eine normale Nierenfunktion vorzeigen. Viele unserer PatientInnen waren zum Zeitpunkt des Therapiebeginns bereits mit Ureterschienen versorgt. Bei einer ausgeprägten Funktionsstörung der Niere ist denkbar, dass der ausgewählte Zeitraum von 6 Monaten ungenügend ist, um die Funktion der Niere unter der Therapie mit Cyclophosphamid und Prednisolon wieder vollkommen normalisieren zu können. Ein längerer Beobachtungszeitraum könnte notwendig sein. Weiterhin wurden renale Vorerkrankungen der PatientInnen nicht in der Analyse berücksichtigt und viele PatientInnen waren auch am Ende der Therapie noch mit Ureterschienen versorgt.

Zu Therapiebeginn waren lediglich die Harnstoffkonzentrationen der PatientInnen mit unklarem IgG4 Status erhöht. Dieses Ergebnis entspricht dem von Heidenreich et al [14]. Auch hier hatten nur wenige PatientInnen zum Therapiebeginn erhöhte Harnstoffkonzentrationen. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren identisch denen der Kreatininkonzentrationen. Auch hier hatten die IgG4-negativen PatientInnen die signifikant geringsten Konzentrationen, die der PatientInnen mit unklarem Status waren am höchsten und über den Therapiezeitraum gab es keine Änderung.

#### **4.6 Volumenausdehnung im Therapieverlauf**

Bei allen PatientInnen kam es zu einer Reduktion des Volumens der RPF nach Therapie. Wie bereits vielfach in der Literatur [12, 13, 18, 29, 27, 31, 34, 35, 37, 40] vorbeschrieben, ist dies aktuell somit der einzige Parameter, durch den sich der Therapieerfolg evaluieren lässt. Er ist eindeutig bestimmbar, steht für das Ausmaß des pathologischen Prozesses und ist damit der Parameter, der die höchste Spezifität aufweist. Die größten Volumina traten bei den PatientInnen mit IgG4-negativen Status auf. Im Vergleich zu den anderen Gruppen besteht hier jedoch keine signifikante Volumenänderung über den betrachteten Zeitraum. Greift man nun auf, dass das Ausmaß der IgG4 Infiltration dem Ausmaß der Entzündungsaktivität nahe kommt [7, 9], kann davon ausgegangen werden, dass IgG4-negative Patienten auf Grund des inaktiveren bzw. fortgeschrittenem Entzündungsprozesses, eine erhöhte Fibrosierung mit mehr Masse aufweisen und somit schlechter auf die antiinflammatorische Therapie ansprechen. Besser geeignet zur Entscheidung des Therapieregimes könnte demnach die diffusionsgewichtete Bildgebung [49] oder die FDG PET [44] sein. Hierbei kann die Entzündungsaktivität im Gewebe sichtbar gemacht werden, somit ist ggf. eine individuelle auf die Entzündungsaktivität angepasste Therapie möglich [44, 49]. Bisher ist in der Literatur noch keine Untersuchung der Volumenreduktion unter Berücksichtigung des IgG4 Status bei einheitlicher Therapie erfolgt.

Auch die Gruppe mit unklarem IgG4 Status liegt in unserer Analyse mit ihren Volumina über denen der IgG4-positiven Gruppe. Sie stellt damit die Gruppe mit der schlechtesten Nierenfunktion und vergleichsweise großen Volumina da. Man kann davon ausgehen, dass Biopsien dieser Gruppe nicht vorliegen, da auf Grund der klinisch ausgeprägten Merkmale bei der Diagnostik der RPF auf die Biopsie verzichtet wurde. Insbesondere bei den PatientInnen ohne Aneurysma bzw. positiven ANA-Titer, fiel eine signifikante Volumenreduktion über den Therapiezeitraum auf ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Dies kann darauf hindeuten, dass Cyclophosphamid bei ausgeprägter chronischer Periaortitis weniger wirksam ist. Die Erfolgskontrolle der Therapie erfolgt aktuell mittels aufwendiger radiologischer Verfahren wie CT und MRT, bei typischer Lokalisation der RPF könnte als kostengünstigere und apparativ weniger aufwendige Variante die Sonografie in Zukunft mehr in den Focus rücken [23].

#### **4.7 Therapie der retroperitonealen Fibrose**

Über den Zeitraum von 6 Monaten war die immunsuppressive Therapie mit Cyclophosphamid und Prednisolon nebenwirkungsarm. Bei unseren PatientInnen zeigte sich keine Leukopenie. Die Therapie mit Cyclophosphamid musste bei keinem der PatientInnen abgebrochen werden.

Durch unsere Analyse konnten wir die Angaben der Literatur [18, 27, 33] bestätigen, dass Cyclophosphamid eine wirksame Therapie bei PatientInnen mit isolierter RPF aber auch Periaortitis darstellt. In der oben angegebenen Literatur wurde der IgG4 Status nicht berücksichtigt. In unserer Studie ergab sich eine geringere Volumenreduktion bei den IgG4-negativen PatientInnen. Ein Vergleich von verschiedenen immunsuppressiven Therapieformen innerhalb der Gruppen könnte Aufschluss darüber geben, ob die Therapiewahl vom IgG4 Status abhängig ist. Ähnlich wie in der Literatur beschrieben, war es auch in unserer Analyse nicht möglich, einen eindeutigen Parameter zum Therapiemonitoring bzw. zur Diagnostik zu identifizieren. Bei der komplexen Ätiologie der RPF bzw. IgG4-assoziierten Erkrankung sollte in Erwägung gezogen werden, dass auch mehrere Faktoren für die Diagnose und das Monitoring ausschlaggebend sein können [11, 26].

Die Pathogenese der idiopathischen RPF ist noch nicht eindeutig geklärt. Die erfolgreiche antiinflammatorische Therapie mit Cyclophosphamid lässt jedoch diesbezüglich Rückschlüsse zu. Das Medikament wirkt über die Apoptose von regulativen T-Zellen [50]. Diese sind also im Entzündungsprozess, der letztendlich zur Fibrosierung führt, involviert und bestätigen damit das Model von Della Torre [21]. Dennoch ist für einen eindeutigen Wirksamkeitsnachweis von Cyclophosphamid der Vergleich unterschiedlicher Therapieformen notwendig. Nach neueren Angaben verspricht die Therapie der RPF mit Rituximab mehr Behandlungserfolg und weniger Rezidive [16, 36, 39]. Aber auch durch die Therapie mit Tocilizumab konnten bereits erste Behandlungserfolge erzielt werden [51]. Aufgrund der retrospektiven Daten unserer Analyse konnten keine PatientInnen, die mit Rituximab oder Tocilizumab therapiert wurden, in diese Studie eingeschlossen werden. Ein Vergleich dieser neuen Therapien mit Cyclophosphamid könnte für die zukünftige Therapie der RPF interessante Ergebnisse liefern.

#### **4.8 Limitationen des Studiendesigns**

Auf Grund der retrospektiven Datenanalyse lagen nicht von jedem der PatientInnen zum entsprechenden Zeitpunkt die gewünschten Parameter zur Auswertung vor. Insbesondere bei den Harnstoffkonzentrationen ist die Auswertung dadurch sehr lückenhaft. Von einigen PatientInnen lagen keine Serumproben vor, von anderen keine Biopsien. Daraus folgt, dass bei fast der Hälfte

(n=8/19) unseres Patientenkollektivs wegen der fehlenden Biopsie keine Aussage über eine IgG4-assoziierte Erkrankung getroffen werden kann. Diese Gruppe kann somit nur begrenzt in die Analyse einbezogen werden und verringert die Aussagekraft.

In diese Analyse wurden nur PatientInnen eines Zentrums mit entsprechender Therapie eingeschlossen, sodass die Aussagekraft dieser Studie mit 19 Probanden eingeschränkt ist. Dies ist zum einen der niedrigen Inzidenz der Erkrankung, zum anderen der noch nicht einheitlich etablierten Therapie geschuldet.

Die Ausmessung der Volumina der fibrotisch entzündlichen Masse mittels Bildgebung erfolgte nicht verblindet.

Nicht berücksichtigt wurden Begleiterkrankungen und vorausgegangene Therapien. Bei einigen PatientInnen lagen Jahre zwischen Erstdiagnose und Therapiebeginn mit Cyclophosphamid. Einige von Ihnen erhielten bereits vor Cyclophosphamid eine andere Therapie. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass diese einen Einfluss auf die erhobenen Parameter hatte.

Das mutagene Potential des Medikamentes ist nicht zu unterschätzen. Zur abschließenden Beurteilung der Therapieverträglichkeit des Cyclophosphamids ist ein Follow-up über mehrere Jahre notwendig. Zudem können Rezidive der RPF auch noch lange Zeit nach Therapieende auftreten.

#### **4.9 Zusammenfassung und Ausblick**

In dieser retrospektiven monozentrischen Analyse wird der Therapieerfolg der Cyclophosphamidtherapie bei retroperitonealer Fibrose vor dem Hintergrund des Vorliegens einer IgG4-assoziierten Erkrankung betrachtet.

Die Therapie mit Cyclophosphamid ist erfolgreich im Sinne einer Volumenreduktion, die bei jedem der PatientInnen über den Therapiezeitraum von 6 Monaten nachgewiesen werden konnte und bei den IgG4-positiven Patienten Signifikanz erreicht.

Die untersuchten laborchemischen Parameter (BSG, CRP, Nierenfunktionsparameter sowie IgG4-Konzentration im Serum) zeigten keine relevanten Veränderungen über den Therapiezeitraum, sodass diesen keine Beurteilungskraft bezüglich des Therapieerfolgs zugeschrieben werden kann. Die IgG4-negativen PatientInnen hatten die signifikant geringsten Kreatinin- und Harnstoffkonzentrationen. Weiterführende Untersuchungen sind notwendig, um zu klären, ob es mit Hilfe der Nierenfunktion auch ohne Biopsie gelingen könnte, eine nicht IgG4-assoziierte RPF zu definieren.

Das unterschiedliche Ansprechen auf die Therapie zwischen den verschiedenen Gruppen mit signifikanter Volumenreduktion bei der IgG4-assoziierten RPF unterstreicht die Aussage, dass die Entzündungsaktivität bzw. die Histologie entscheidend ist für das Therapieansprechen und deshalb schon vor Einleiten einer Therapie differenziert werden sollte.

Zur Bestätigung der Ergebnisse dieser Studie, ist eine prospektive Analyse einer möglichst großen Kohorte über einen längeren Follow-up Zeitraum notwendig, um Nebenwirkungen und Rückfälle auch über den Therapiezeitraum von 6 Monaten hinaus erfassen zu können. Zudem sollte zum Wirksamkeitsnachweis der Therapie mit Cyclophosphamid ein Vergleich mit einem neueren medikamentösen Therapieoptionen wie z. B. Rituximab erfolgen.

## 5. Literaturverzeichnis

- 1 Ormond JK. Idiopathic Retroperitoneal Fibrosis. *The Journal of the American Medical Association* 1960;174:89-96.
- 2 Mitchinson MJ. The pathology of idiopathic retroperitoneal fibrosis. *J clin Path* 1970;23:681-9.
- 3 Corradi D, Maestri R, Palmisano A, Bosio S, Greco P, Manenti L, Feretti S, Cobelli R, Morono G, Dei Tos AP, Buzio C, Vaglio A. Idiopathic retroperitoneal fibrosis: Clinicopathologic features and differential diagnosis. *Kidney International* 2007;72:742-53.
- 4 Hamano H, Arakura N, Muraki T, Ozaki Y, Kiyosawa K, Kawa S. Prevalence and distribution of extrapancreatic lesions complicating autoimmune pancreatitis. *Journal of Gastroenterology* 2006;41:1197-1205
- 5 Neild GH, Rodriguez-Justo M, Wall C, Connolly JO. Hyper-IgG4 disease: report and characterisation of a new disease. *BMC Med* 2006;4:23
- 6 Umehara H, Okazaki K, Masaki Y, Kawano M, Yamamoto M, Saeki T, Matsui S, Yoshino T, Nakamura S, Kawa S, Hamano H, Kamisawa T, Shimosegawa T, Shimatsu A, Nakamura S, Ito T, Notohara K, Sumida T, Tanaka Y, Mimori T, Chiba T, Mishima M, Hibi T, Tsubouchi H, Inui K, Ohara H. Comprehensive diagnostic criteria for IgG4-related disease (IgG4-RD), 2011. *Mod Rheumatol* 2012;22:21-30.
- 7 Zen Y, Nakanuma Y. IgG4-Related Disease - A Cross-sectional Study of 114 Cases. *Am J Surg Pathol* 2010;34:1812-9.
- 8 Miyajima N, Koike H, Kawaguchi M, Zen Y, Takahashi K, Hara N. Idiopathic retroperitoneal fibrosis associated with IgG4-positive-plasmacyte infiltrations and idiopathic chronic pancreatitis. *International Journal of Urology* 2006;13:1442-4.
- 9 Zen Y, Onodera M, Inoue D, Kitao A, Matsui O, Nohara T, Namiki M, Kasashima S, Kawashima Y, Matsumoto Y, Katayanagi K, Murata T, Ishizawa S, Hosaka N, Kuriki K, Nakanuma Y. Retroperitoneal Fibrosis: A Clinicopathologic Study With Respect to Immunoglobulin G4. *Am J Surg Pathol* 2009;33:1833-9.
- 10 Detlefsen S. Die IgG4-assoziierte Erkrankung - Mikroskopische Diagnose und Differenzialdiagnose. *Pathologe* 2019;40:619-26.
- 11 Wallace ZS, Naden RP, Chari S, Hyon C, Della-Torre E, Dicaire JF, Hart PA, Inoue D, Kawano M, Khosroshahi A, Kubota K, Lanzillotta M, Okazaki K, Perugino CA, Sharma A, Saeki T, Sekiguchi H, Schleinitz N, Stone JR, Takahashi N, Umehara H, Webster G, Zen Y, Stone JH. The 2019 American College of Rheumatology/European League against rheumatism classification criteria for IgG4-related disease. *Arthritis & Rheumatology* 2020;72(1):7-19.
- 12 Khosroshahi A, Carruthers MN, Stone JH, Sainani N, Hasserjian RP, Deshpande V. Rethinking Ormond's Disease: "Idiopathic"- Retroperitoneal Fibrosis in the Era of IgG4-Related Disease. *Medicine* 2013;92:82-91.
- 13 Kermani TA, Crowson CS, Achenbach SJ, Luthra HS. Idiopathic Retroperitoneal Fibrosis: A Retrospective Review of Clinical Presentation, Treatment and Outcomes. *Mayo Clin Proc* 2011;86(4):297-303.
- 14 Heidenreich A, Derakhshani P, Neubauer S, Krug B. Behandlungsergebnisse der primären und sekundären retroperitonealen Fibrose. *Der Urologe* 2000;39:141-8.
- 15 Mirault T, Lambert M, Puech P, Argatu D, Renaud A, Duhamel A, Glovacki F, Villers A, Hachulla E, Biserte J, Hatron PJ, Lemaitre L. Malignant Retroperitoneal Fibrosis - MRI Characteristics in 50 Patients. *Medicine* 2012;91:242-50.

- 16 Vaglio A, Maritati F. Idiopathic Retroperitoneal Fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2016;27:1880-9.
- 17 Vaglio A, Corradi D, Manenti L, Feretti S, Garini G, Buzio C. Evidence of Autoimmunity in Chronic Periaortitis: A Prospective Study. *American Journal of Medicine* 2003;114:454-62.
- 18 Warnatz K, Keskin AG, Uhl M, Scholz C, Katzenwadel A, Vaith P, Peter HH, Walker UA. Immunosuppressive treatment of chronic periaortitis: a retrospective study of 20 patients with chronic periaortitis and a review of the literature. *Ann Rheum Dis* 2005;64:828-33.
- 19 Vaglio A, Buzio C. Chronic periaortitis: a spectrum of diseases. *Current Opinion in Rheumatology* 2005;17:34-40.
- 20 Lighaam LC, Aalberse RC, Rispens T. IgG4-Related Fibrotic Diseases from an Immunological Perspective: Regulators out of Control?. *International Journal of Rheumatology* 2012;2012:1-6.
- 21 Della-Torre E, Lanzillotta M, Doglioni C. Immunology of IgG4-related disease. *Clinical and Experimental Immunology* 2015;181:191-206.
- 22 Chiba K, Kamisawa T, Tabata T, Hara S, Kuruma S, Fujiwari T, Kuwata G, Egashira H, Koizumi K, Koizumi S, Fujiwara J, Arakawa T, Momma K, Setoguchi K, Shinohara M. Clinical Features of 10 Patients with IgG4-related Retroperitoneal Fibrosis. *Internal Medicine* 2013;52:1545-51.
- 23 Kamper L, Brandt AS, Ekamp H, Hofer M, Roth S, Haage P, Piroth W. The potential role of modern US in the follow-up of patients with retroperitoneal fibrosis. *Diagn Interv Radiol* 2014;20:3-8.
- 24 Deshpande V, Zen Y, Chan JKC, Yi EE, Sato Y, Yoshino T, Klöppel G, Heathcote JG, Khosroshahi A, Ferry JA, Aalberse RC, Bloch DB, Brugge WR, Bateman AC, Carruthers MN, Chari ST, Cheuk W, Cornell LD, Fernandez-Del Castillo C, Forcione DG, Hamilos DL, Kamisawa T, Kasashima S, Kawa S, Kawano M, Lauwers GY, Masaki Y, Nakanuma Y, Notohara K, Okazaki K, Ryu JK, Saeki T, Sahani DV, Smyrk TC, Stone JR, Takahira M, Webster GJ, Yamamoto M, Zamboni G, Umehara H, Stone JH. Consensus statement on the pathology of IgG4-related disease. *Modern Pathology* 2012;25:1181-92.
- 25 Pelkmans LG, Hendriksz TR, Westenend PJ, Vermeer HJ, van Bommel EFH. Elevated serum IgG4 levels in diagnosis and treatment response in patients with idiopathic retroperitoneal fibrosis. *Clin Rheumatol* 2017;36:903-12.
- 26 Kukuk S, Kretschmer A, Bruck H, Roth S, Brandt AS. Retroperitoneale Fibrose: Entwicklung eines Biomarkerprofils zur Diagnostik und Verlaufskontrolle. *Urologe* 2015;54:52-61.
- 27 Binder M, Uhl M, Wiech T, Kollert F, Sass JO, Walker UA, Peter HH, Warnatz K. Cyclophosphamide is a highly effective and safe induction therapy in chronic periaortitis: a longterm follow-up of 35 patients with chronic periaortitis. *Ann Rheum Dis* 2011;71:311-2.
- 28 Nirula A, Glaser SM, Kalled SL, Taylora FR. What is IgG4? A review of the biology of a unique immunoglobulin subtype. *Current Opinion in Rheumatology* 2011;23:119-224.
- 29 Kardar AH, Kattan S, Lindstedt E, Hanash K. Steroid Therapy for Idiopathic Retroperitoneal Fibrosis: Dose and Duration. *The Journal of Urology* 2002;168:550-5.
- 30 Jadhav KK, Kumar V, Punatar CB, Joshi VS, Sagade SN. Retroperitoneal fibrosis: clinical presentation and outcome analysis from urological perspective. *Investig Clin Urol* 2017;58:371-7.
- 31 Brandt AS, Kamper L, Kukuk S, Haage P, Roth S. Tamoxifen Monotherapy in the Treatment of Retroperitoneal Fibrosis. *Urol Int* 2014;93:320-5.

- 32 Lees JS, Church N, Langdale-Brown B, Bellamy C, Gibson P, Watson S. IgG4-related disease: a novel, important but easily missed condition. *J R Coll Physicians Edinb* 2013;43:126-33.
- 33 Marcolongo R, Tavolini IM, Laveder F, Busa M, Noventa F, Bassi P, Semenzato G. Immunosuppressive Therapy for Idiopathic Retroperitoneal Fibrosis: A Retrospective Analysis of 26 Cases. *The American Journal of Medicine* 2004;116:194-7.
- 34 Scheel PJ, Sozio SM, Feeley N. Medical Management of Retroperitoneal Fibrosis. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association* 2012;123:283-91
- 35 Marzano A, Trapani A, Leone N, Actis GC, Rizzetto M. Treatment of idiopathic retroperitoneal fibrosis using cyclosporin. *Ann Rheum Dis* 2001;60:427-8.
- 36 Stone JH. IgG4-related disease: pathophysiologic insights drive emerging treatment approaches. *Clin Exp Rheumatol* 2016;34:1-3.
- 37 Grotz W, von Zedtwitz I, Andre M, Schollmeyer P. Treatment of retroperitoneal fibrosis by mycophenolate mofetil and corticosteroids. *The Lancet* 1998;352:1195
- 38 Alberici F, Palmisano A, Urban ML, Maritati F, Oliva E, Manenti L, Ferretti S, Cobelli R, Buzio C, Vaglio A. Methotrexate plus prednisone in patients with relapsing idiopathic retroperitoneal fibrosis. *Ann Rheum Dis* 2013;72:1584-6.
- 39 Wallwork R, Wallace Z, Perugino C, Sharma A, Stone JH. Rituximab for idiopathic and IgG4-related retroperitoneal fibrosis. *Medicine* 2018;97:42(e12631)
- 40 Williams G, Sarkar B, Neilly JB, McKay GA. Spontaneous remission in a case of idiopathic retroperitoneal fibrosis. *Scott Med J* 2013;58(2):e7-e9.
- 41 Carruthers MN, Khosroshahi A, Augustin T, Deshpande V, Stone JH. The diagnostic utility of serum IgG4 concentrations in IgG4-related disease. *Ann Rheum Dis*, 2015;74:14-8.
- 42 Liao S, Zhang X, Zhu F, Wang Y, Zhu J, Zhang J, Huang F. Comparison of two subsets of Chinese patients with retroperitoneal fibrosis in terms of IgG4 immunohistochemical staining. *Rheumatology* 2019;58:455-62.
- 43 Lomborg N, Jakobsen M, Bode CS, Junker P. IgG4-related disease in patients with newly diagnosed idiopathic retroperitoneal fibrosis: a population-based Danish study. *Scandinavian Journal of Rheumatology* 2019;48:4:320-5.
- 44 Fernando A, Pattison J, Horsfield C, D'Cruz D, Cook G, O'Brien T. [<sup>18</sup>F]-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography in the Diagnosis, Treatment Stratification, and Monitoring of Patients with Retroperitoneal Fibrosis: A Prospective Clinical Study. *European Urology* 2017;71:926-33.
- 45 Yamashita K, Haga H, Mikami Y, Kanematsu A, Nakashima Y, Kotani H, Ogawa O, Manabe T. Degree of IgG4+ plasma cell infiltration in retroperitoneal fibrosis with or without multifocal fibrosclerosis. *Histopathology* 2008;52:387-411.
- 46 Bray C, Bell LN, Liang H, Haykal R, Kaiksow F, Mazza JJ, Yale SH. Erythrocyte Sedimentation Rate and C-reactive Protein Measurements and Their Relevance in Clinical Medicine. *WMJ* 2016;115(6):317-21.
- 47 Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Front Immunol* 2018;9:754.
- 48 Tchebiner JZ, Nutman A, Boursi B, Shlomai A, Tal Sella T, Wasserman A, Guzner-Gur H. Diagnostic and Prognostic Value of Thrombocytosis in Admitted Medical Patients. *The Am J Med Sci* 2011;342(5):395-401.
- 49 Kamper L, Brandt AS, Ekamp H, Abanador-Kamper N, Piroth W, Roth S, Haage P. Diffusion-weighted MRI findings of treated and untreated retroperitoneal fibrosis. *Diagn Interv Radiol* 2014;20:459-63.

- 50 Heylmann D, Bauer M, Becker H, van Gool S, Bacher N, Steinbrink K, Kaina B. Human CD4+CD25+ Regulatory T Cells Are Sensitive to Low Dose Cyclophosphamide: Implications for the Immune Response. PLoS ONE 2013;8(12):e83384.
- 51 Perrotta FM, Fici M, Guerra G, Brunese L, Salvarani C, Lubrano E. Chronic periaortitis with retroperitoneal fibrosis successfully treated with first line tocilizumab monotherapy: a case report. Clinical and Experimental Rheumatology 2017:S-226-7.

## **6. Eidesstattliche Versicherung**

„Ich, Caroline Lüllwitz, geb. Kumpert, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Therapieeffizienz bei idiopathischer retroperitonealer Fibrose unter Berücksichtigung von IgG4-assoziierten Erkrankungen (Evaluating therapy efficiency in a single-center cohort of patients with idiopathic retroperitoneal fibrosis depending on the IgG4 status) selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit der Erstbetreuerin, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

## **7. Tabellarischer Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## 8. Publikationsliste

Kumpert C, Hahne S, Makowski M, Rudolph B, Burmester GR, Hiepe F, Hoyer BF:  
Therapieeffizienz bei idiopathischer retroperitonealer Fibrose in einer retrospektiven, monozentrischen Analyse. *Der Internist* 2018;Supl.1:S13-14.  
Posterpräsentation beim 124. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin e.V.. Mannheim, Deutschland, 14.-17.04.2018. Poster PS015.

Hoyer BF, Kumpert C, Makowski M, Rudolph B, Schneider U, Burmester GR, Hiepe F:  
Efficacy of Cyclophosphamide Therapy in Idiopathic Retroperitoneal Fibrosis in a Retrospective Monocentric Analysis [abstract]. *Arthritis Rheumatol.* 2016;68;suppl10.  
Posterpräsentation beim Annual Meeting des American College of Rheumatology in Washington DC, United States of America, 11.11.-16.11.2016. Abstract Number 245.

Kumpert C, Schmidt S, Makowski M, Rudolph B, Schneider U, Burmester GR, Hiepe F, Hoyer BF:  
Therapieeffizienz bei idiopathischer retroperitonealer Fibrose in einer retrospektiven, monozentrischen Analyse. Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie. Deutsche Gesellschaft für Orthopädische Rheumatologie. Gesellschaft für Kinder- und Jugendrheumatologie. 44. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie (DGRh); 30. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Orthopädische Rheumatologie (DGORh); 26. Jahrestagung der Gesellschaft für Kinder- und Jugendrheumatologie (GKJR). Düsseldorf: German Medical Science GMS Publishing House; 2016. DocVK.19  
Posterpräsentation und Talk beim 44. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie, 30. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Orthopädische Rheumatologie, 26. Jahrestagung der Gesellschaft für Kinder- und Jugendrheumatologie in Frankfurt am Main, Deutschland, 31.08.-03.09.2016. Poster VK 19.

## **9. Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich bei meiner Betreuerin Frau Prof. Dr. med. Bimba Franziska Hoyer für das Bereitstellen des spannenden Themas und die Unterstützung und Begleitung beim wissenschaftlichen Arbeiten bedanken.

Bei Prof. Dr. med. Falk Hiepe möchte ich mich für die Bereitstellung der Räumlichkeiten und Mittel zur Datenerfassung bedanken.

Ein großer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. Rudolph für die Beurteilung der Biopsien, Frau Dr. rer. nat. Hahne für die Begleitung im Labor des deutschen Rheumaforschungszentrums und Herrn Prof. Dr. med. Makowski für die Einführung in die radiologische Auswertung und die Gewährleistung des Zugriffs auf die entsprechenden Daten und Programme.

Meiner Familie und meinen Freunden danke ich von Herzen für die allumfassende Unterstützung.