

### **3. Patientenkollektiv und Methoden**

#### **3.1 Studiendesign**

Inhalt der Arbeit ist die Verlaufsuntersuchung zur Prognose des kutanen Lupus erythematoses (LE) und die Überprüfung, ob etablierte klinische und serologische Parameter als Marker für die Früherkennung einer ungünstigen Prognose stehen.

Die Verlaufsuntersuchung basierte auf den klinisch dokumentierten Befunden von 296 Patienten, die im Zeitraum von 1985 bis 1994 im Rahmen einer prospektiven Multizenterstudie in fünf verschiedenen Universitäts-Hautkliniken in Deutschland und Österreich (Klinik und Poliklinik für Dermatologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin; Klinik für Hautkrankheiten, Klinikum der Friedrich-Schiller-Universität Jena; Hautklinik am Klinikum Minden, Minden; Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie, Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg Medizinische Fakultät; Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie, Medizinische Universität Graz) erstmalig erfasst wurden. Der zeitliche Abstand zwischen Erst- und Zweiterfassung betrug mindestens 10 bis maximal 17 Jahre.

Ausgehend von den 296 ersterfassten LE-Patienten wurden 68 Patienten mit kutanem LE in die Studie aufgenommen und im Zeitraum von Oktober 2002 bis Februar 2003 in der Klinik und Poliklinik für Dermatologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin im Rahmen einer Nachuntersuchung zum zweiten Mal erfasst. Von insgesamt 68 Patienten mit kutanem LE waren 14 zum Zeitpunkt der Zweiterfassung bereits verstorben, wobei bei 13 dieser Patienten keine Information zu einem möglichen Zusammenhang mit der untersuchten Erkrankung vorlag. Eine Patientin verstarb infolge des LE. Mit Hilfe eines Dokumentationsbogens (Anlage 1) wurden insgesamt 54 Patienten mit kutanem LE zum zweiten Mal erfasst.

Während der Zweiterfassung wurde das Patientenkollektiv eingehend untersucht und einer gründlichen Befragung unterzogen, um prospektiv zu evaluieren, inwiefern vorhandene klinische und serologische Parameter den Krankheitsverlauf und die Prognose des kutanen LE beeinflussen. Die Untersuchung umfasste die Erhebung einer Anamnese, eine körperliche Untersuchung, sowie eine Blutentnahme und Urindiagnostik. Ausgehend von der Manifestation des Lupus erythematoses (LE) am Hautorgan erfolgte eine Klassifikation der Patienten in chronisch-diskoiden LE (CDLE), subakut-kutanen LE (SCLE) und systemischen LE (SLE).

Der für die Zweiterfassung entworfene Dokumentationsbogen war konzeptionell gleich aufgebaut wie der der Ersterfassung. Um eine Vergleichbarkeit der Erfassungen zu garantieren,

wurden die einzelnen Befunde durch Bejahen (=1) oder Verneinen (=2) von geschlossenen Fragen dokumentiert.

Aus einer Reihe von dokumentierten Daten der Ersterfassung wurden neun klinische und serologische Parameter zum Zeitpunkt der Zweiterfassung nachuntersucht. Neben „spezifisch“ kutanen LE-Manifestationen, das heißt für einen speziellen kutanen LE-Typ charakteristische Effloreszenzen, wurden auch „unspezifische“ kutane Manifestationen untersucht. Als kutan-vaskuläre Phänomene wurden akral-lokalisierte Vaskulitis, Livedo racemosa sowie Raynaud-Phänomen erfasst. Des Weiteren gehörte die Erfassung einer erhöhten Photosensitivität zum Untersuchungsgegenstand. Unter extrakutanen Manifestationen wurden Gelenkbeteiligung, Nierenbeteiligung und die Beteiligung des Nervensystems erfasst. Zu den serologischen Parametern gehörte die Titerbestimmung von antinukleären Antikörpern (ANA) und anti-ds-DNS Antikörpern (AK). Zudem erfolgte die Erfassung einer erhöhten Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG). Weiterhin wurden bei der Zweiterfassung neue Aspekte berücksichtigt. Akral-lokalisierte Vaskulitis in Korrelation mit einer Gelenkbeteiligung wurden in die Untersuchung mit eingeschlossen, da in einer vorangegangenen Studie unserer Arbeitsgruppe eine signifikante Korrelation zwischen diesen Parametern bestand. Berücksichtigt wurden ebenfalls die Bestimmung der Krankheitsdauer und die Beschreibung des Krankheitsverlaufs, ob eine Remission, Progression oder ein rezidivierender Verlauf beobachtet werden konnte. Auch Todeszeitpunkt und Ursache wurden erfasst. Diese basierten auf Nachforschungen bei Angehörigen und Informationen des Bürgeramtes.

Um den Einflussgrad einzelner klinischer und immuserologischer Parameter auf den Krankheitsverlauf und die Prognose des kutanen Lupus erythematodes näher zu analysieren, erfolgte die Beurteilung des Krankheitszustandes in Form einer Schweregradeinteilung. Die Einteilung umfasste drei Schweregrade (SG): Gering, mäßig, hoch. Patienten, welche eine Nierenbeteiligung, Gelenkbeteiligung, eine Beteiligung des Nervensystems oder andere extrakutane Manifestationen aufwiesen, wurden in den „Schweregrad hoch“ eingestuft. In den „Schweregrad mäßig“ wurden Patienten eingeteilt, die mehr als drei der folgenden klinischen oder serologischen Parameter aufwiesen. Darunter fiel das Vorhandensein mindestens eines kutan-vaskulären Phänomens, eine erhöhte Photosensitivität, ANA-Titer  $\geq 1:320$ , anti-ds-DNS Antikörper, eine erhöhte Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) und Proteinurie/Hämaturie. Alle übrigen Patienten, die bis zu drei dieser Parameter aufwiesen, wurden dem „Schweregrad gering“ zugeordnet (Tab. 1).

Durch den Vergleich der Schweregrade zu zwei Erfassungszeitpunkten konnte eine Schweregradentwicklung beobachtet werden, die drei Entwicklungsgrade umfasste: verbessert, gleich geblieben, verschlechtert.

SG gering (I)	SG mäßig (II)	SG hoch (III)
	Kutan-vaskuläre Phänomene	Nierenbeteiligung
	Erhöhte Photosensitivität	Gelenkbeteiligung
	ANA-Titer $\geq 1:320$	Beteiligung des Nervensystems
	Anti-ds-DNS Antikörper	Andere extrakutane Manifestationen
	Erhöhte BSG	
	Proteinurie/Hämaturie	

**Tab. 1:** Schweregradeinteilung

### 3.2 Befundbewertung und Score

Für die Vergleichbarkeit der Ergebnisse und die richtige Interpretation, ist es notwendig zu wissen, welche Kriterien bei der Befundbewertung zu Grunde lagen. Für beide Erfassungen wurde ein einheitlicher Score gewählt, der eine einheitliche Beurteilung der Ergebnisse ermöglichte.

Dokumentiert wurden jeweils die Ergebnisse von Anamnese, körperlicher Untersuchung, Blutuntersuchung und Urinanalyse.

In die Befundbewertung wurden folgende klinische und serologische Parameter eingeschlossen:

- I. Klinische Daten:** Kutan-vaskuläre Phänomene, erhöhte Photosensitivität, Gelenkbeteiligung, Nierenbeteiligung, Beteiligung des Nervensystems
- II. Laborchemische Parameter:** Proteinurie ( $\geq 0,4\text{g/l}$ ), Hämaturie ( $>5\text{Ery}/\mu\text{l}$ ), Serumkreatinin ( $>100\mu\text{mol/l}$ ), ANA-Titer ( $\geq 1:320$ ), anti-ds-DNS Antikörper, Blutsenkungsgeschwindigkeit ( $>40\text{mm}$  nach 2h)

Das Kriterium *kutan-vaskuläre Phänomene* wurde als positiv gewertet, wenn eine Livedo racemosa, ein Raynaud-Phänomen oder eine akral-lokalisierte Vaskulitis diagnostiziert wurde.

Das Kriterium *Photosensitivität* wurde als positiv gewertet, wenn anamnestisch ein Zusammenhang zwischen Verschlechterung des Hautbefundes oder einem Neuauftreten von LE-spezifischen Läsionen und Sonnenlicht erkennbar war.

Bei der Beurteilung einer *Gelenkbeteiligung* im Rahmen eines kutanen Lupus erythematoses, wurde zwischen einer Arthritis, einer Entzündung der Gelenke und einer Arthrose als nichtentzündliche, degenerative Gelenkerkrankung differenziert. Letzteres wurde nicht als Gelenkbeteiligung gewertet. Waren von den drei Merkmalen Morgensteifigkeit, Schwellung und ein häufiges Vorkommen von Gelenkschmerzen in kurzen Abständen oder mindestens 2 mal wöchentlich in einem Zeitraum von drei Monaten zwei positiv, oder eins der Merkmale Deformation, aseptische Nekrosen, so wurde dies als Gelenkbeteiligung im Sinne einer Arthritis/Arthralgie gewertet.

Um eine *Nierenbeteiligung* im Rahmen eines kutanen Lupus erythematoses zu beurteilen, wurde bei jedem Patienten eine Urinanalyse sowie eine Blutuntersuchung durchgeführt. Waren mindestens zwei der drei Merkmale Proteinurie ( $\geq 0,4\text{g/l}$ ), Anstieg von Serumkreatinin über  $100\ \mu\text{mol/l}$  oder Hämaturie ( $>5\text{Ery}/\mu\text{l}$ ) pathologisch, so wurde dieses als Nierenbeteiligung gewertet. Eine Beteiligung des *peripheren* und/oder *zentralen Nervensystems* wurde angenommen bei folgenden Krankheitsbildern und Symptomen: Bei einer vom Neurologen oder Psychiater diagnostizierten Psychose, Epilepsie, peripheren Neuropathie oder bei häufig rezidivierenden Kopfschmerzen, die mehr als einmal pro Woche und über einen Zeitraum von mehr als drei Monaten auftraten.

### **3.3 Statistische Methoden**

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SPSS (Statistical Package for Social Sciences).

Im ersten Teil der statistischen Analyse wurden mit Hilfe des Mc Nemar-Tests dieselben klinischen und serologischen Parameter zu zwei unterschiedlichen Erfassungszeitpunkten mit binärem Zielkriterium (vorhanden/nicht vorhanden) an demselben Patienten untersucht. Es sollte statistisch getestet werden, wie sich die Verteilung der Häufigkeiten der vorhandenen klinischen und serologischen Parameter der Ersterfassung im Vergleich zur Zweiterfassung verhielt. Die

Deskription der Ergebnisse erfolgte in einer Vierfeldertafel. Insgesamt wurde die Frequenz von 9 klinischen oder serologischen Parametern bei 54 Patienten mit kutanem LE untersucht. Bei vier der nachuntersuchten Parameter (Raynaud-Phänomen, erhöhte Photosensitivität, anti-ds-DNS Antikörper, erhöhte Blutsenkungsgeschwindigkeit) wurde die Berechnung des P-Wertes aufgrund der dort vorkommenden, als „nicht beurteilbar“ definierten, Variablen 3 verhindert. Mit Hilfe einer Filterung wurden die Patientenfälle selektiert. Dem zu Folge wurde die Fallzahl bei diesen nachuntersuchten Parametern reduziert. Die Prüfgröße nach McNemar ist Chi-Quadrat verteilt und hat einen Freiheitsgrad. Sie errechnet sich als  $\chi^2 = \frac{(b-c)^2}{b+c}$ .

Die aufgeführten klinischen und serologischen Parameter in Tabelle 2 wurden im Rahmen einer zwischen 1989 bis 1994 durchgeführten Querschnittstudie zusammengetragen. Die Ergebnisse wurden im Acta Derm Venereol 1997, S. 307 (B.Tebbe, U.Mannsmann, U.Wollina, P.Auer-Grumbach, A.Licht-Mbalyohere, M.Arensmeier, C.Orfanos) veröffentlicht. Ziel dieser Studie war die Beurteilung der Signifikanz der aufgeführten klinischen und serologischen Parameter, die als Marker zur Früherkennung einer systemischen Manifestation beim kutanen LE dienen könnten. In der hier durchgeführten Längsschnittstudie sollte untersucht werden, ob sich diese signifikanten Parameter zur Vorhersage der Schweregradentwicklung einer Teilpopulation, der in der Querschnittstudie untersuchten Patienten mit kutanem LE, dienen. Statistischer Ausgangspunkt im zweiten Abschnitt war die in der oben genannten Querschnittstudie durchgeführte univariate Analyse der prognostischen Bedeutung der klinischen und serologischen Parameter zur Unterscheidung zwischen kutanem und systemischem LE (Tab. 2).

	<b>Kutaner LE (CDLE/SCLE) Patientenzahl ja/nein</b>	<b>Systemischer LE Patientenzahl ja/nein</b>	<b>p-Wert</b>	<b>Odds ratio</b>	<b>Konfidenz- intervall</b>
<b>BSG</b>	137/108	46/5	0,0002	7,25	2,79-18,88
<b>ANA-Titer ≥ 1:80</b>	150/95	44/7	0,0001	3,98	1,72-9,20
<b>ANA-Titer ≥ 1:320</b>	72/173	35/16	< 0,000009	5,26	2,74-10,09
<b>Anti-ds-DNS Antikörper</b>	85/160	31/20	0,0005	2,92	1,57-5,43
<b>Photosensitivität</b>	166/79	26/25	0,0227	0,49	0,27-0,91
<b>Gelenkbeteiligung</b>	115/130	43/8	< 0,000009	6,1	2,74-13,46
<b>Nierenbeteiligung</b>	22/223	20/31	< 0,000009	6,56	3,21-13-34
<b>Proteinurie</b>	22/225	14/37	0,0004	4,26	2,04-8,90
<b>Hämaturie</b>	11/234	13/38	< 0,00001	7,28	3,20-17,11
<b>Beteiligung des Nervensystems</b>	46/199	17/34	0,0211	2,16	1,11-4,20

**Tab. 2:** Univariate Analyse für Prognosekriterien zur Unterscheidung zwischen kutanem und systemischem LE ( aus Tebbe B, Mansmann U, Wollina U, Auer-Grumbach P, Licht- Mbalyohere A, Arsenmeier M, Orfanos CE (1997) Markers in cutaneous lupus erythematosus indicating systemic involvement. A multicenter study on 296 patients. Acta Derm Venereol 77: 305-308)

Mit der Annahme, dass diese aufgeführten klinischen und serologischen Parameter in ihrer Summe dazu dienen, gute und weniger gute Verläufe des kutanen LE vorherzusagen, wurde aus den odds ratios (OR) ein Score berechnet: Der natürliche Logarithmus des OR einer der zehn in Tabelle drei aufgeführten Parameter ging als Summand in den Score eines individuellen Patienten ein, wenn bei denjenigen dieser Parameter diagnostiziert wurde. Wenn ein klinischer oder serologischer Parameter nicht diagnostiziert wurde, ging er nicht in den Score ein.

$$\text{Score}_j = \sum_{i=1}^{10} \ln(OR_i) \cdot x_{ij}$$

für  $x_{ij} = 0$  oder  $1$  (Dummyvariable), wobei  $i = 1, 2, 3, \dots, 10$  (Nummer des Kriteriums) und  $j = 1, 2, 3, \dots, 68$  (laufende Patientenummer)

Der Score ist ein linearer Prädiktor. Die logarithmierten odds ratios sind die Gewichte, mit welchen die klinischen und serologischen Parameter in den Score eingehen. Je größer das Risiko für einen Patienten, bei dem ein bestimmter Parameter diagnostiziert wurde, eine systemische Manifestation zu entwickeln, desto höher das Gewicht, mit welchem der Parameter zu dem Score beisteuerte.

Beispiel: Für einen Patienten, bei dem zum Zeitpunkt der Ersterfassung eine erhöhte Blutsenkungsgeschwindigkeit und ein ANA Titer  $\geq 1:80$  diagnostiziert wurde, ergab sich:

$$\text{Score} = \ln(7,25) \cdot 1 + \ln(3,98) \cdot 1 = 1,98 + 1,38 = 3,64$$

Die Vorhersage der Schweregradveränderung in Form einer statistischen Analyse zu prognostizieren, war zum einen mit Hilfe einer *ROC-Analyse* und zum anderen mit der *logistischen Regression* möglich.

Die *ROC-Analyse* setzt zwei Variablen voraus: den Score-Wert und die dichotome (0/1) Klassifikation der Schweregradveränderung (guter Verlauf/schlechter Verlauf).

Notwendig für die statistische Analyse war die Formulierung einer dichotomen (0/1) Klassifikation der Schweregradveränderung, bedingt durch den Basis-Schweregrad (Schweregrad zum Zeitpunkt der Ersterfassung). Setzt man drei Schweregrade voraus, so können sich diejenigen mit Schweregrad „hoch“ nicht mehr verschlechtern und diejenigen mit Schweregrad „gering“ nicht mehr verbessern. Die Veränderung des Schweregrades unterliegt einem „Regression to the mean“ - Effekt. Das heißt, Patienten mit kutanem LE der Schweregradgruppe „gering“ und „hoch“ tendieren dazu, sich in Richtung des mittleren Schweregrades zu entwickeln. Um Verzerrungen der Ergebnisse zu vermeiden, erfolgte abhängig vom Basis-Schweregrad eine Klassifikation der Schweregradveränderung, die vier mögliche Ausprägungen aufwies, in eine dichotome (0/1), die als „guter Verlauf“ bzw. „schlechter Verlauf“ definiert wurden. Die Scorewerte wurden dem tatsächlichen Zustand „guter Verlauf“ bzw. „schlechter Verlauf“ gegenübergestellt und ein beliebig gewählter „cut-off“ definierte die Grenze des Scorewertes, welche die Diagnose vom „guten Verlauf“ und „schlechten Verlauf“ trennte. Die ROC-Analyse ermöglicht mittels der Höhe des Scorewertes

eine Schätzung für einen „guten“ beziehungsweise „schlechten Verlauf“. Das Zusammentragen der verschiedenen Kombinationen wurde graphisch in einer ROC-Kurve veranschaulicht, bei der auf der x-Achse die zugehörigen Werte der Spezifität (genauer 1-Spezifität), also die Falschpositivrate, und auf der Y-Achse die der Sensitivität, also die Richtigpositivrate aufgetragen wurden.

Mit Hilfe der *logistischen Regressionsanalyse* war es möglich, die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines bestimmten Ereignisses basierend auf mehreren Einflussgrößen zu schätzen. Hierbei wurde die berechnete dreiwertige Zielvariable „Schweregradveränderung“ ebenfalls in eine zweiwertige, mit den Ausprägungen „Schweregrad verschlechtert“ und „Schweregrad verbessert oder gleich geblieben“, umgewandelt. Erklärende Kovariablen in dem Modell, das die beste Anpassung an die Daten aufwies, waren der ordinal skalierte Schweregrad zum Zeitpunkt der Ersterfassung (Basis-Schweregrad) und ein metrisch skaliertes Score, der aus zehn in Tabelle 2 (Seite 19) verzeichneten möglichen Prognosefaktoren gewonnen wurde.

Es konnte unter Verwendung des Score und des Basis-Schweregrades für jeden beliebig ausgewählten Patienten des LE-Patientenkollektivs eine Schätzung der Wahrscheinlichkeit einer Schweregradverschlechterung erfolgen.

Die Ausgangswahrscheinlichkeit eines jeden Patienten des kutanen LE-Kollektivs sich zu verschlechtern, ohne die Merkmale der Einzelnen zu berücksichtigen, kann folgendermaßen geschätzt werden: Quotient aus der Anzahl an Patienten mit kutanem LE mit einer Schweregradverschlechterung geteilt durch die Gesamtanzahl des kutanen LE-Patientenkollektivs.

Eine Schweregradverschlechterung wurde für einen Patienten mit kutanem LE prognostiziert, wenn die durch das Regressionsmodell geschätzte Wahrscheinlichkeit einer Verschlechterung größer war als die Ausgangswahrscheinlichkeit. Andernfalls wurde prognostiziert, dass dieser Patient sich verbessert habe oder im Schweregrad gleich geblieben sei. Zur Schätzung der individuellen Wahrscheinlichkeiten wurden mehrere Parameter berücksichtigt, die im Modell bestimmt wurden: Ein konstanter Term  $\beta_0$  (Regressionskoeffizient), die Regressionskoeffizienten der Einflussgrößen  $\beta_1$  (Scorewert),  $\beta_2$  (Basis-Schweregrad), die in das Modell aufgenommen wurden, und die Werte des individuellen Patienten ( $x_{1i}$  (Scorewert),  $x_{2i}$  (Basis-Schweregrad)), die für diese Einflussgrößen beobachtet wurden. Für jeden beliebigen Patienten mit kutanem LE lässt sich die Wahrscheinlichkeit folgendermaßen schätzen:

$$P(SG - Verschlechterung)_{Patient i} = \frac{1}{1 + e^{-(\beta_0 + \beta_1 \cdot x_{1i} + \beta_2 \cdot x_{2i})}}$$