

Aus dem  
Charité Centrum 14 für Tumormedizin  
Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie  
Campus Benjamin Franklin  
Direktor: Professor Dr. Dr. h.c. E. Thiel

## **HABILITATIONSSCHRIFT**

### **Untersuchungen zur Prophylaxe und Therapie der invasiven Aspergillose bei immunsupprimierten Patienten**

zur Erlangung der Lehrbefähigung

für das Fach Innere Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Stefan Schwartz

eingereicht: November 2007

Dekan: Professor Dr. M. Paul

1. Gutachter: Prof. Dr. G. Höffken

2. Gutachter: Prof. Dr. H. Einsele

<b>1</b>	<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>1</b>
2	Zusammenfassung	2
3	Einleitung	3
4	Klinik invasiver Aspergillosen	10
4.1	Klinische Manifestationen der invasiven Aspergillose Publikation I	10
4.2	Orbitalphlegmone und Gaumendestruktion: eine bedrohliche Komplikation der Aspergillus Sinusitis Publikation II	16
5	Untersuchungen zur Prophylaxe der invasiven Aspergillose	19
5.1	Pulmonale Deposition und systemische Exposition bei inhalativer Prophylaxe mit Amphotericin B Aerosol Publikation III	19
5.2	Studie zur inhalativen Prophylaxe der invasiven Aspergillose mit Amphotericin B Aerosol Publikation IV	28
5.3	Studie zur systemischen Prophylaxe der invasiven Aspergillose mit niedrig-dosiertem liposomalem Amphotericin B Publikation V	39
6	Therapie der ZNS-Aspergillose	49
6.1	Fehlende Wirksamkeit Amphotericin B basierter Therapien bei Patienten mit ZNS-Aspergillose Publikation VI	49
6.2	Klinische Wirksamkeit und ZNS-Penetration von Voriconazol bei invasiver Aspergillose mit Hirnabszess Publikation VII	57
6.3	Retrospektive Analyse zur Therapie der ZNS-Aspergillose mit Voriconazol Publikation VIII	62
7.	Diskussion	70
8.	Literatur	75
9.	Danksagung	79
10.	Erklärung	80

## **2 Zusammenfassung**

Die invasive Aspergillose ist eine potentiell lebensbedrohliche Infektion, die in steigender Häufigkeit bei immunsupprimierten Patienten auftritt. Primärinfektionen der invasiven Aspergillose manifestieren sich am häufigsten als Pneumonie oder Sinusitis und die Kenntnis charakteristischer Symptome (u.a. Pleura- Gesichtsschädelschmerz, Ulzerationen, Nekrosebildung) erleichtert wesentlich die frühe Entscheidung zu einer gezielten Diagnostik und Therapie.

Die begrenzte Wirksamkeit von Amphotericin B Desoxycholat (D-Amphotericin B) bei der invasiven Aspergillose führte zu Bestrebungen, eine wirksame und verträgliche Prophylaxe zu entwickeln. Inhalativ verabreichtes D-Amphotericin B zeigte in ersten Studien eine ausreichende Verträglichkeit ohne relevante systemische Resorption. In einer prospektiven, randomisierten Studie führte jedoch eine Prophylaxe mit D-Amphotericin B Aerosol zu keiner signifikanten Senkung der Inzidenz invasiver Aspergillosen bei eingeschränkter Durchführbarkeit. Dagegen konnte in einer prospektiven, randomisierten Prophylaxestudie mit liposomal verkapseltem Amphotericin B (L-Amphotericin B) und auch in 2 weiteren, multinationalen Studien mit randomisierter Prüfung einer Prophylaxe mit einem neuen Azol, Posaconazol, eine signifikante Senkung der Inzidenz invasiver Aspergillosen bei Risikopatienten erreicht werden. Interessanterweise zeigte sich in einer der Studien mit Posaconazol zudem eine signifikante Senkung der Mortalität durch invasive Mykosen.

Die Primärtherapieergebnisse bei Patienten mit invasiver Aspergillose konnten mit Einführung von Voriconazol signifikant verbessert werden. Voriconazol zeigt eine exzellente Penetration in das Zentralnervensystem (ZNS), und in retrospektiven Analysen von Patienten mit ZNS-Aspergillose konnte gezeigt werden, dass sich die bisher nahezu infauste Prognose dieser Patienten durch Einsatz von Voriconazol deutlich verbessern lässt und eine Überlebensrate bei diesen Höchstisikopatienten von 31% erreicht werden kann.

In den nächsten Jahren werden weitere Prophylaxestrategien und antimykotische Kombinationstherapien durch z.T. aktuell anlaufende klinische Studien zu entwickeln sein.

### **3 Einleitung**

Mit zunehmender Anwendung intensiver Chemotherapien, Transplantation von Organen, Knochenmark bzw. hämatopoetischen Stammzellen sowie immunsuppressiven Therapien bei Autoimmunopathien hat in den vergangenen Jahrzehnten die Zahl an Patienten mit invasiven Aspergillusinfektionen stetig zugenommen. Auswertungen grosser Obduktionsserien aus den Jahren 1969 bis 1994 belegen eine kontinuierliche Zunahme invasiver Aspergillosen [1-3]. Zusätzlich zeigen epidemiologische Daten aus den USA eine steigende Inzidenz tödlich verlaufender invasiver Mykosen insgesamt in den Jahren 1980 – 1997. Der Mortalitätszuwachs war in diesem Zeitraum für Aspergillusinfektionen am ausgeprägtesten und lag bei 357% [4].

Bis Anfang der neunziger Jahre standen für die systemische Therapie invasiver Mykosen D-Amphotericin B, Flucytosin sowie zwei Imidazole, Miconazol und Ketoconazol, zur Verfügung. Amphotericin B wurde erstmals in den fünfziger Jahren aus Streptomyceskulturen isoliert und besitzt fungizide Aktivität gegenüber den meisten Aspergillusarten. Amphotericin B ist nahezu unlöslich in Wasser und kann jedoch mittels Zusatz von Desoxycholsäure in Lösung gebracht werden, so dass hierdurch eine parenterale Therapie möglich ist [5]. D-Amphotericin B besitzt jedoch eine enge therapeutische Breite, die durch seine ausgeprägte Nephrotoxizität bedingt ist [6]. Das Ansprechen (komplette und partielle Remissionen) auf eine Therapie mit D-Amphotericin B ist bei immunsupprimierten Patienten mit invasiver Aspergillose unbefriedigend und liegt nur bei etwa 32% [7, 8].

Im Rahmen der Entwicklung antineoplastischer Substanzen wurde 1957 Flucytosin synthetisiert. Überraschenderweise zeigte Flucytosin ausgeprägte antimykotische Eigenschaften und nur marginale antineoplastische Effekte, so dass diese Substanz als Antimykotikum weiterentwickelt wurde [9]. Eine häufige Keimresistenz limitiert jedoch den alleinigen Einsatz von Flucytosin bei invasiven Mykosen. Einen festen Stellenwert hat Flucytosin nur in Kombinationstherapien bei Sprosspilzinfektionen (v.a. Kryptokokkose) erlangt, und bis heute fehlen überzeugende Daten, die den Einsatz von Flucytosin bei der invasiven Aspergillose rechtfertigen [9].

Miconazol war nur in einer parenteralen Formulierung verfügbar, die aufgrund eines hohen Gehalts an Castoröl häufig gravierende Nebenwirkungen verursachte. Dagegen stand Ketoconazol, welches eine variable Bioverfügbarkeit und ein hohes Nebenwirkungs- und Interaktionspotential besitzt, nur in einer oralen Darreichungsform zur Verfügung [6]. Beide Substanzen zeigten eine enttäuschend geringe klinische Wirksamkeit bei invasiven Aspergillosen und sind für eine systemische Therapie nicht mehr am Markt erhältlich.

Angesichts der sehr begrenzten Wirksamkeit der wenigen verfügbaren Antimykotika konzentrierte sich das wissenschaftliche Interesse Anfang der neunziger Jahre auf eine Früherkennung invasiver Aspergillosen bei Risikopatienten, um einen frühen Beginn einer antimykotischen Therapie zu ermöglichen, auf die Entwicklung von Prophylaxestrategien sowie die Entwicklung neuer antimykotischer Substanzen mit verbesserter therapeutischer Breite und höherer klinischer Wirksamkeit.

Infektionen mit *Aspergillus Spezies* werden nahezu ausschliesslich aerogen durch Inhalation von Pilzsporen erworben und manifestieren sich daher primär am häufigsten als Pneumonie oder Sinusitis [7]. Um die Diagnose einer invasiven Aspergillose eindeutig zu belegen, wird der Nachweis invasiven Pilzwachstums in Biopsiematerial oder der kulturelle Nachweis von *Aspergillus Spezies* aus sterilen Organbereichen gefordert [10]. Invasive Prozeduren mit Biopsieentnahmen sind jedoch bei immunsupprimierten Patienten medizinisch meist nicht vertretbar. Zudem ist die diagnostische Ausbeute und Sensitivität bronchoskopischer Untersuchungen in Hinblick auf invasive pulmonale Aspergillosen limitiert und liegt nur bei etwa 50% [11, 12]. Daher basiert bis heute die Entscheidung zur antimykotischen Therapie bei einem hohen Anteil der Risikopatienten auf klinischen und radiologischen Befunden, ohne dass bei diesen zu Beginn der antimykotischen Therapie eine invasive Aspergillose sicher nachgewiesen wurde.

Pleuraschmerzen sind neben anderen weniger spezifischen Symptomen als charakteristisch für die invasive pulmonale Aspergillose beschrieben. Interessanterweise kann dieser Pleuraschmerz auftreten, noch bevor pulmonale Infiltrate radiologisch nachweisbar sind und somit einen sehr frühzeitigen, klinischen Hinweis auf eine invasive pulmonale Aspergillose

geben [13]. Invasive Aspergillusinfektionen zeichnen sich insbesondere durch Schmerzen im Gesichtsschädel, Ulkus- und Nekrosebildung sowie eine ausgeprägte Tendenz zur Destruktion benachbarter Strukturen aus, so dass im Verlauf eine Orbitalphlegone oder Hirnabszesse entstehen können [14, 15]. Die Einführung der Computertomografie bedeutete einen deutlichen Fortschritt in der Diagnostik der invasiven pulmonalen Aspergillose. Mittels Computertomografie lassen sich hochauflösend pulmonale Infiltrate darstellen die in der Frühphase der Infektion nodulär, z.T. mit perifokaler Verschattung (halo sign), konfiguriert sind und im Verlauf eine charakteristische Luftsichel (air crescent sign) ausbilden können [16].

Eine Vermehrung von *Aspergillus Spezies* findet vor allem auf organischen Materialien in Verbindung mit Feuchtigkeit statt und die Sporen werden aerogen freigesetzt. Daher besteht ubiquitär eine Exposition, die bei entsprechender Risikokonstellation (z.B. Neutropenie, Steroidtherapie) zu einer invasiven Infektion führen kann. Fehlende oder kontaminierte Raumluftechnische Anlagen und Bauarbeiten begünstigen eine Sporenfreisetzung und können ursächlich für eine Häufung nosokomialer Aspergillosen sein [17]. Die Raumlufkonzentration von Aspergillussporen lässt sich durch Verwendung von HEPA-Filtern (high-efficiency particulate air) wesentlich senken, wobei diese Form der Prophylaxe sehr kostenintensiv ist und von Patienten als einschränkend und unangenehm empfunden wird [17]. Der prophylaktische Einsatz von systemisch appliziertem, niedrig dosiertem D-Amphotericin B führte in 2 grossen Studien, die Anfang der neunziger Jahre publiziert wurden, zu widersprüchlichen Ergebnissen. Bei 110 Patienten nach allogener Knochenmarktransplantation, die täglich 0,15 – 0,25 mg/kg D-Amphotericin B intravenös erhielten, lag die Inzidenz invasiver Aspergillosen bei nur 9% und war damit signifikant geringer im Vergleich zu einer Inzidenz von 23 – 25% in zwei historischen Kontrollkollektiven mit insgesamt 76 Patienten [18]. In einer weiteren, prospektiv angelegten, randomisierten, Plazebo-kontrollierten Studie mit 182 Patienten nach autologer Knochenmarktransplantation konnte jedoch ein protektiver Effekt einer systemischen Prophylaxe mit D-Amphotericin B (0,1 mg/kg täglich i.v.) nicht bestätigt werden. Zudem

traten in dieser Studie unter prophylaktischer Gabe von D-Amphotericin B signifikant häufiger Nebenwirkungen auf [19].

Da invasive Aspergillosen aerogen erworben werden, erschien angesichts dieser Datenlage Anfang der neunziger Jahre eine inhalative Prophylaxe mit Amphotericin B vielversprechend. In Pilotstudien konnte gezeigt werden, dass tägliche Inhalationen mit D-Amphotericin B bei akzeptablem Nebenwirkungsprofil über einen längeren Zeitraum durchführbar sind und eine langanhaltende pulmonale Deposition von Amphotericin B nach Inhalation erreicht werden kann [20, 21]. Tierexperimentelle Untersuchungen konnten zudem einen protektiven Effekt von inhalativ appliziertem Amphotericin B in Hinblick auf die Keimdichte im Lungengewebe und das Überleben nachweisen [22]. In ersten klinischen, nicht randomisierten Studien zur inhalativen Prophylaxe mit D-Amphotericin B zeigte sich unter dieser Prophylaxe bei Risikopatienten eine bemerkenswert niedrige Inzidenz ( $\leq 1,9\%$ ) invasiver Aspergillosen [23-25]. In einer dieser Studien wurde ein historisches Patientenkollektiv ohne Prophylaxe evaluiert bei dem eine deutlich höhere Inzidenz (11,4%) invasiver Aspergillosen zu verzeichnen war [23]. Die Überprüfung dieser vielversprechenden Daten zur inhalativen Prophylaxe mit D-Amphotericin B in einer prospektiv angelegten, randomisierten Studie war somit nahe liegend, um eine generelle Empfehlung zur inhalativen Prophylaxe abzuleiten.

Im Verlauf der neunziger Jahre wurden ein neues Azol mit Aspergilluswirksamkeit, Itraconazol, und L-Amphotericin B zugelassen. Beide Substanzen erschienen aufgrund eines günstigen Nebenwirkungsprofils besser zur Prophylaxe geeignet als D-Amphotericin B. Itraconazol stand zunächst nur für eine orale Therapie zur Verfügung, wobei die Bioverfügbarkeit dieser lipophilen Substanz in Kapselform eingeschränkt ist und erst durch eine veränderte Galenik, die den Lösungsvermittler Cyclodextrin beinhaltet, deutlich verbessert werden konnte. Inzwischen steht Itraconazol auch in einer parenteralen Darreichungsform, die ebenfalls Cyclodextrin enthält, zur Verfügung [26]. Zur antimykotischen Prophylaxe mit Itraconazol sind 13 randomisierte Studien mit insgesamt 3597 Patienten durchgeführt worden. In keiner dieser Studien konnte ein protektiver Effekt

in Hinblick auf invasive Aspergillosen belegt werden [27]. Interessanterweise zeigte sich jedoch in einer 2003 publizierten Metaanalyse dieser Studien, dass im Gegensatz zur Kapselgalenik ohne Cyclodextrin eine Prophylaxe mit Itraconazol-Cyclodextrinlösung mit einer signifikant niedrigen Inzidenz invasiver Aspergillosen assoziiert war [27].

L-Amphotericin B besitzt im Gegensatz zu D-Amphotericin B ein deutlich verbessertes Toxizitätsprofil, so dass höhere Tagesdosen bei einer insgesamt geringeren Nephrotoxizität verabreicht werden können [28]. In zwei doppelt-geblindeten, Plazebo-kontrollierten, randomisierten Studien zum prophylaktischen Einsatz von L-Amphotericin B (1mg/kg/Tag bzw. 2mg/kg/3xwöchentlich) bei Patienten mit Chemotherapie-induzierter Neutropenie oder Knochenmarktransplantation konnte eine protektive Wirkung dieser Prophylaxe in Hinblick auf invasive Aspergillosen nicht belegt werden, da insgesamt nur bei einem einzigen Studienpatienten eine invasive Aspergillose aufgetreten war [29, 30]. Insgesamt gab es bis über die Jahrtausendwende hinaus keine Daten die die Wirksamkeit einer systemischen Aspergillusprophylaxe belegten bzw. deren Einsatz ausserhalb klinischer Studien rechtfertigte. Es erschien daher sinnvoll den prophylaktischen Einsatz von L-Amphotericin B in einem Risikopatientenkollektiv, in dem eine höhere Inzidenz invasiver Aspergillosen erwartet wurde, erneut zu überprüfen.

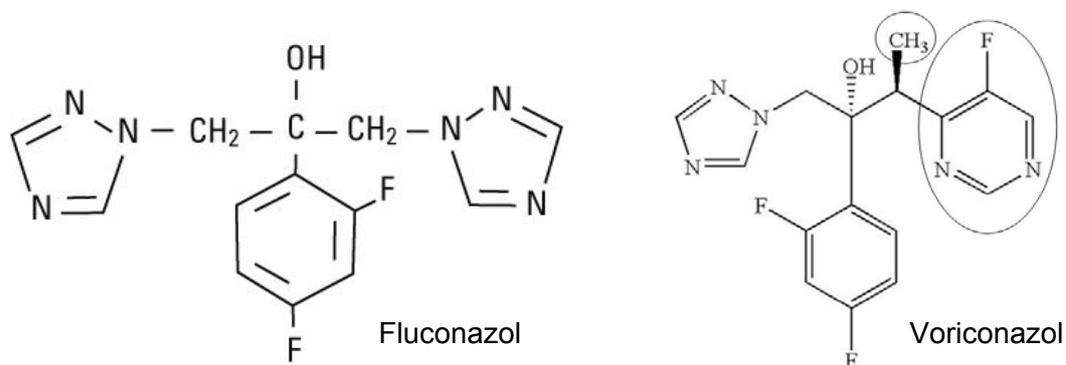
Die Prognose invasiver Aspergillosen ist nicht nur vom eingesetzten Antimykotikum sondern auch von der Art und Schwere der Immunsuppression sowie dem Organbefallsmuster abhängig. So ist die Prognose von Patienten mit invasiver Aspergillose nach allogener Blutstammzell- oder Knochenmarktransplantation besonders ungünstig. Die Ansprechrate unter einer Amphotericin B- bzw. Itraconazol-basierten Therapie liegt bei diesen Hochrisikopatienten nur bei 13% im Gegensatz zu einer Ansprechrate von 45% bei Patienten ohne allogene Knochenmark- bzw. Blutstammzelltransplantation [7]. In einer umfangreichen, Literatur-basierten Analyse von 1941 Studienpatienten mit invasiver Aspergillose zeigte sich bei Patienten mit disseminierter Infektion (>1 diskontinuierlich betroffenes Organsystem) oder Beteiligung des ZNS eine bemerkenswert hohe ‚case-fatality-rate‘ von 88% [31]. Insbesondere die Prognose von Patienten mit zerebraler

Aspergillose war als nahezu infaust zu bezeichnen, da unter Therapie mit Amphotericin B oder Itraconazol eine Ansprechrate von nur 9% und eine Mortalität von 99% beobachtet wurden [7, 32]. In einer detaillierten Obduktionsanalyse von Patienten mit maligner Grunderkrankung und Pilzinfektionen fand sich interessanterweise als zweithäufigste Organmanifestation bei 28 (21%) von 137 Patienten mit invasiver Aspergillose eine cerebrale oder meningeale Beteiligung durch die invasive Aspergillose [33].

Pharmakologische Untersuchungen an Obduktionsmaterial konnten nur sehr geringe Amphotericin B Konzentrationen im Hirngewebe Verstorbener, die mit D-Amphotericin B oder L-Amphotericin B behandelt wurden, nachweisen. Die Gewebskonzentrationen lagen nach Extraktion ohne Verwendung einer alkoholischen Lösung im Bioassay im Vergleich zu Messungen mit Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie bei <50%, so dass ein wesentlicher Teil der im Gewebe vorhandenen Menge an Amphotericin B biologisch inaktiv ist [34, 35]. Itraconazol ist lipophil, besitzt eine hohe Plasmaeiweissbindung (95%) und weniger als 0,2% ist als freie Substanz im Blut nachweisbar [36]. Itraconazol penetriert nur sehr eingeschränkt die Blut-Hirn-Schranke. In einem Kaninchenmodell betrug die Itraconazolkonzentration im Liquor nur  $\leq 9\%$  der korrespondierenden Serumspiegel, obwohl bei einem Teil der Versuchstiere gleichzeitig eine bakterielle Meningitis induziert wurde [37]. Beim Menschen konnte nur  $\leq 0,2\%$  der korrespondierenden Itraconazolplasmakonzentration im Liquor nachgewiesen werden [36]. Daten zu Hirngewebespiegeln von Itraconazol beim Menschen liegen nicht vor, jedoch lag in einem Hundemodell nach 12-monatiger Gabe von Itraconazol das Verhältnis zwischen Hirngewebs- und Talwertkonzentrationen im Plasma nur unter 0,3 [36]. Insgesamt ist es somit wahrscheinlich, dass die geringe Penetration von Amphotericin B und Itraconazol in das Zentralnervensystem die wesentliche Ursache für die nur marginale klinische Wirksamkeit dieser beiden Substanzen bei der cerebralen Aspergillose darstellt.

Fluconazol, ein Azol mit geringer Plasmaeiweissbindung, wurde in den achtziger Jahren entwickelt und zeigt eine exzellente Penetration in das ZNS. Beim Menschen betragen die Liquorspiegel von Fluconazol 60-80% der korrespondierenden Serumspiegel und das

Konzentrationsverhältnis zwischen gesundem Hirngewebe und Plasma liegt zwischen 0,99 und 2,39 [38]. Da Fluconazol keine Wirksamkeit gegenüber *Aspergillus Spezies* besitzt, wurden strukturanaloge Substanzen getestet mit dem Ziel ein Derivat mit ähnlich günstigen pharmakologischen Eigenschaften wie Fluconazol und breiterer antimykotischer Wirksamkeit zu identifizieren. Durch Modifikation von Fluconazol, Substitution einer Triazolringstruktur durch ein fluoriertes Pyrimidin, sowie Anfügen einer Methylgruppe, entstand Voriconazol (Abbildung 1).



**Abbildung 1:** Strukturformeln von Fluconazol und Voriconazol.

Voriconazol besitzt im Gegensatz zu Fluconazol eine sehr gute in vitro Aktivität gegenüber *Aspergillus Spezies* [39]. In einer frühen Tiermodellstudie konnte eine sehr gute Penetration von Voriconazol in das Zentralnervensystem nachgewiesen werden. Die Liquor- bzw. Hirngewebsspiegel lagen bei der Hälfte bzw. dem Doppelten der korrespondierenden Serumspiegel [40]. Voriconazol wurde ab 1994 in klinischen Studien eingesetzt und es ergab sich neben der Hauptfragestellung, ob dieses Azol eine bessere klinische Wirksamkeit im Vergleich zu den bisher verfügbaren Substanzen besitzt, auch die Frage ob die Penetration von Voriconazol in das ZNS zu einer verbesserten Wirksamkeit bei der cerebraler Aspergillose führt.

## **4 Klinik invasiver Aspergillosen**

### **4.1 Klinische Manifestationen der invasiven Aspergillose**

Antibiotikarefraktäres Fieber wird nahezu regelhaft als erstes Zeichen einer invasiven Aspergillose bemerkt. Da invasive Aspergillosen meist durch Sporeninhalation erworben werden, treten häufig unspezifische Symptome einer Pneumonie (Husten, Rasselgeräusche) und ein charakteristischer Pleuraschmerz auf, der sich noch vor radiologischem Nachweis eines Infiltrats bemerkbar machen kann. Hämoptoe ist ein weiteres charakteristisches Symptom bei der invasiven pulmonalen Aspergillose, welches jedoch meist erst im weiteren Verlauf nach Neutrophilenregeneration auftritt und lebensbedrohliche Blutungen verursachen kann. Daneben können sich Aspergillusinfektionen der oberen Atemwege im Nasen- und Nebenhöhlenbereich manifestieren und zu Nasenatmungsbehinderung, Epistaxis, Gesichtsschmerz, periorbitalen Schwellungen und Substanzdefekten im Gaumenbereich führen. Primäre Hautmanifestationen sind selten, zeigen sich typischerweise als nicht-eitrige Ulzera und werden gehäuft assoziiert im Eintrittsbereich von Venenkathetersystemen beobachtet. Andere Manifestationen, z.B. im Bereich des ZNS, entstehen im Rahmen einer Keimdisseminierung und können zu fokalen neurologischen Symptomen oder Meningismus führen. Bei Auftreten Aspergillose-assoziiertes Symptome bei Risikopatienten sollte eine rasche und gezielte Diagnostik erfolgen, da eine frühzeitige Diagnosestellung sowie der unverzügliche Beginn einer antimykotischen Therapie das Therapieergebnis bei dieser lebensbedrohlichen Infektion verbessern kann.

## **Publikation I**

Schwartz S, Thiel E.

**Clinical presentation of invasive aspergillosis.**

*Mycoses*, 40S2: 21-24 (1997)

**Publikation I**  
Seite 21

**Publikation I**  
Seite 22

**Publikation I**  
Seite 23

**Publikation I**  
Seite 24

## **4.2 Orbitalphlegmone und Gaumendestruktion: eine bedrohliche Komplikation der Aspergillus sinusitis**

Ein 24-jähriger Patient mit akuter myeloischer Leukämie entwickelte nach Rezidivchemotherapie eine ausgeprägte Epistaxis, die nur mit einer Nasentamponade zu stillen war. Drei Tage nach diesem Ereignis traten Schmerzen im Bereich der rechten Kieferhöhle sowie eine rechtsseitige periorbitale Schwellung auf. Die Computertomografie zeigte Verschattungen in den Siebbeinzellen sowie eine periorbitale Weichteilschwellung rechtsseitig. In Proben, die im Rahmen eines Debridements entnommen wurden, war histologisch Fadenpilzmyzel erkennbar mit einer für *Aspergillus Spezies* typischen Morphologie, ohne Nachweis anderer Keime. Im weiteren Verlauf entwickelte sich ein Ulkus und nachfolgend ein Defekt im Bereich des harten Gaumens. Nach Neutrophilenregeneration wurde eine Gaumenprothese angepasst. Unter einer Therapie mit Amphotericin B für 46 Tage und Itraconazol für weitere 10 Monate bildeten sich die entzündlichen Veränderungen vollständig zurück bei Persistenz des Gaumendefekts. Trotz wiederholter Neutropeniephasen im Rahmen von Konsolidierungstherapien kam es unter der antimykotischen Therapie zu keiner Reaktivierung der Aspergillusinfektion. Während eines insgesamt 2-jährigen Nachbeobachtungszeitraums traten erfreulicherweise weder ein Rezidiv der invasiven Aspergillose noch der Leukämie auf.

## Publikation II

Schwartz S, Thiel E.

**Palate destruction by Aspergillus.**

*The New England Journal of Medicine, 337: 241 (1997)*

**Publikation II**  
Seite 241

## **5 Untersuchungen zur Prophylaxe der invasiven Aspergillose**

### **5.1 Pulmonale Deposition und systemische Exposition bei inhalativer Prophylaxe mit Amphotericin B Aerosol**

Um die Grundlagen für die Anwendung einer inhalativen Prophylaxe mit D-Amphotericin B zu erarbeiten, wurden Partikelgrössenmessungen von Amphotericin B Aerosolen, die pulmonale Deposition von Amphotericin B nach inhalativer Applikation bei gesunden Probanden sowie eine inhalative Prophylaxe mit D-Amphotericin B bei Risikopatienten im Rahmen einer Pilotstudie untersucht.

Mittels Phasen-Doppler-Messung wurden Partikelgrössen von D-Amphotericin B Aerosolen, die mit unterschiedlichen Verneblergeräten erzeugt wurden (3 Druckluftvernebler, 2 Ultraschallvernebler), bestimmt. Der mediane Partikeldurchmesser lag bei allen getesteten Verneblergeräten  $\leq 1,85\mu\text{m}$ , so dass insgesamt deutlich mehr als 50% der Aerosolpartikel einen Durchmesser von  $\leq 5\mu\text{m}$  und somit eine potentielle Alveolargängigkeit aufwiesen. Um die pulmonale Deposition von Amphotericin B näher zu untersuchen, wurde 5 gesunden Probanden  $^{99\text{m}}$ Technetium-markiertes Amphotericin B inhalativ verabreicht. Da eine  $^{99\text{m}}$ Technetium-Markierung von D-Amphotericin B nicht gelang, wurde Amphotericin B als Reinsubstanz in Suspension eingesetzt. Unmittelbar nach Inhalation konnte 69,7 - 83,8% der als Aerosol freigesetzten Aktivität im Lungenbereich detektiert werden und 14 Stunden nach Inhalation lag die Aktivität im Lungenbereich noch bei 47,5 - 50%. Da die mediane Aerosolpartikelgrösse von Amphotericin B Suspension um den Faktor 1,43 höher lag im Vergleich zu D-Amphotericin B, war eine noch höhere pulmonale Deposition bei Inhalation von D-Amphotericin B Aerosolen anzunehmen.

Im Rahmen einer Pilotstudie erhielten 40 Patienten nach Hochdosischemotherapie und autologer Knochenmarktransplantation zweimal täglich Inhalationen mit je 10mg D-Amphotericin B für 15 - 20 Minuten. Bei 15 Patienten wurden mehrfach Serumproben vor und 1 Stunde nach Inhalation gewonnen um eine mögliche, systemische Resorption von inhalativ verabreichtem D-Amphotericin B Desoxycholat nachzuweisen. Nur bei 11% der

gewonnenen Proben konnte ein niedriger ( $\leq 0,2\text{mg/l}$ ) Amphotericin B Spiegel detektiert werden, wobei dies mit einer meist höhergradigen, Chemotherapie-induzierten Mukositis assoziiert war.

### **Publikation III**

Beyer J, Schwartz S, Barzen G, Risse G, Dullenkopf K, Weyer C, Siegert W.

**Use of Amphotericin B aerosols for the prevention of pulmonary aspergillosis.**

*Infection, 22: 143-148 (1994)*

**Publikation III**  
Seite 143

**Publikation III**  
Seite 144

**Publikation III**  
Seite 145

**Publikation III**  
Seite 146

**Publikation III**  
Seite 147

**Publikation III**  
Seite 148

## **5.2 Studie zur inhalativen Prophylaxe der invasiven Aspergillose mit Amphotericin**

### **B Aerosol**

Aufgrund der vielversprechenden Daten aus präklinischen Untersuchungen und ersten, nicht-randomisierten Studien zur inhalativen Prophylaxe mit D-Amphotericin B wurde 1993 eine prospektive, randomisierte Studie initiiert, um die bisher beobachteten ersten Hinweise auf protektive Effekte dieser Inhalationsprophylaxe zu bestätigen. In dieser multizentrischen Studie erhielten 382 Patienten randomisiert, unverblindet entweder eine inhalative Prophylaxe mit 10mg D-Amphotericin B 2 x täglich oder keine inhalative Prophylaxe. Das Haupteinschlusskriterium war eine erwartete Neutropeniedauer von mindestens 10 Tagen bei Patienten mit Chemotherapie und maligner hämatologischer Grunderkrankung oder Patienten mit Hochdosischemotherapie und autologer Knochenmarktransplantation. Die Fallzahlkalkulation (Mindestzahl Studienpatienten: 2 x 165) basierte auf der Hypothese, dass durch die inhalative Prophylaxe eine Senkung der Inzidenz invasiver Aspergillosen um mindestens 9% erreicht werden kann. Zusätzlich wurden 50 Patienten der Gruppe mit inhalativer Prophylaxe randomisiert zugeordnet, da bei etwa 30% der Patienten eine vorzeitige Beendigung der inhalativen Prophylaxe erwartet wurde. Im Studienverlauf auftretende invasive Aspergillosen wurden nach diagnostischen Kriterien, die vor Studienbeginn festgelegt waren, in gesicherte, wahrscheinliche und mögliche invasive Aspergillosen klassifiziert. Bis auf einen häufigeren Einsatz von Wachstumsfaktoren (G-CSF, GM-CSF) in der Prophylaxegruppe lagen keine signifikanten Unterschiede in Hinblick auf Risikofaktoren zwischen beiden Patientengruppen vor. Bei 14 - 27% der Patienten in der Inhalationsgruppe traten ein Hustenreiz, unangenehmer Geschmack oder Übelkeit in moderater oder schwerwiegender Ausprägung auf. Insgesamt 31% der Patienten (71 von 221 Patienten) beendeten die Inhalationsprophylaxe vorzeitig nach einer medianen Prophylaxedauer von 6 Tagen. Interessanterweise zeigte sich eine signifikant niedrigere Inzidenz an Pneumonien mit oder ohne Keimnachweis in der Inhalationsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (19% versus 30%,  $p < 0,02$ ), so dass die Inhalationsprophylaxe zu keinem erhöhten Risiko für Atemwegsinfektionen bei den ausgeprägt immunsupprimierten

Studienpatienten geführt hatte. Die Inzidenz invasiver Aspergillosen war jedoch insgesamt niedrig und lag in der Prophylaxegruppe bei 4% (10 von 227 Patienten) und war somit nicht signifikant geringer im Vergleich zu einer Inzidenz von 7% (11 von 155 Patienten) in der Kontrollgruppe. Ausserdem zeigten sich keine Unterschiede in der Gesamtmortalität und Infektions-bedingten Mortalität, so dass ein relevanter protektiver Effekt einer Inhalationsprophylaxe mit D-Amphotericin B durch diese Studie nicht bestätigt werden konnte.

#### **Publikation IV**

Schwartz S, Behre G, Heinemann V, Wandt H, Schilling E, Arning M, Trittin A, Kern WV, Boenisch O, Bosse D, Lenz K, Ludwig WD, Hiddemann W, Siegert W, Beyer J.

**Aerosolized Amphotericin B Inhalations as Prophylaxis of Invasive Aspergillosis Infections During Prolonged Neutropenia: Results of a Prospective Randomized Multicenter Trial.**

*Blood*, 93: 3654-3661 (1999)

**Publikation IV**  
Seite 3654

**Publikation IV**  
Seite 3655

**Publikation IV**  
Seite 3656

**Publikation IV**  
Seite 3657

**Publikation IV**  
Seite 3658

**Publikation IV**  
Seite 3659

**Publikation IV**  
Seite 3660

**Publikation IV**  
Seite 3661

### **5.3 Studie zur systemischen Prophylaxe der invasiven Aspergillose mit niedrig-dosiertem liposomalem Amphotericin B**

In zwei früheren, prospektiv angelegten, randomisierten Studien konnte ein relevanter, protektiver Effekt einer systemischen Aspergilloseprophylaxe mit L-Amphotericin B nicht nachgewiesen werden, wobei die Aussagekraft dieser Studien aufgrund einer geringen Patientenzahl (n=76) bzw. einer niedrigen Inzidenz invasiver Aspergillosen limitiert war [29, 30]. Es erschien daher sinnvoll, eine systemische Prophylaxe mit L-Amphotericin B bei einer grösseren Zahl an Patienten mit langandauernder Neutropenie (>10 Tage) und somit erhöhtem Risiko für eine invasive Aspergillose erneut zu überprüfen. In der vorliegenden, prospektiven, randomisierten Studie erhielten 132 Patienten mit hämatologischen Neoplasien und Chemotherapie-induzierter Neutropenie unverblindet 50mg L-Amphotericin B intravenös jeden 2. Tag (n=75) oder keine Prophylaxe (n=57). Alle auftretenden invasiven Mykosen wurden erfasst und nach standardisierten diagnostischen Kriterien als gesichert, wahrscheinlich und möglich klassifiziert [10]. Acht weitere randomisierte Patienten waren nicht auswertbar. Von den 132 auswertbaren Patienten wurden 92 zu Beginn einer weiteren Chemotherapie-induzierten Neutropenie erneut randomisiert (Prophylaxe mit L-Amphotericin B: n = 35, keine Prophylaxe: n = 52, nicht auswertbare Patienten: n = 5). Insgesamt wurde nach 1. Randomisierung bei 13 (9,8%) von 132 Studienpatienten eine gesicherte (n=5) oder wahrscheinliche (n=8) invasive Aspergillose registriert. Die Häufigkeit gesicherter oder wahrscheinlicher invasiver Aspergillosen lag in der Neutropeniephase nach 1. Randomisierung in der Prophylaxegruppe signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe (2 von 75 Patienten, 2,6% versus 11 von 57 Patienten, 19%; p = 0,0057). Unter den Patienten, die im Rahmen einer 2. Neutropeniephase erneut randomisiert wurden, trat nur bei einem einzigen Patienten in der Kontrollgruppe eine wahrscheinliche invasive Aspergillose auf.

Insgesamt waren die Häufigkeiten einer Niereninsuffizienz oder Hypokaliämie in der Prophylaxegruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht signifikant unterschiedlich. Allerdings zeigten sich in der Prophylaxegruppe ein Hautausschlag bei 4 Patienten, Übelkeit bei 3 Patienten und Fieber bei 1 Patienten in zeitlichem Zusammenhang mit der Gabe von

L-Amphotericin B. Bei 3 dieser Patienten wurde daraufhin die Prophylaxe beendet.  
Schwerwiegende (Grad 3 oder 4) Toxizitäten wurden nicht beobachtet.

## **Publikation V**

Penack O, Schwartz S, Martus P, Reinwald M, Schmidt-Hieber M, Thiel E, Blau IW.

**Low-dose liposomal amphotericin B in the prevention of invasive fungal infections in patients with prolonged neutropenia: results from a randomized, single-center trial.**

*Annals of Oncology, 17: 1306-1312 (2006)*





**Publikation V**  
Seite 1308

**Publikation V**  
Seite 1309

**Publikation V**  
Seite 1310

**Publikation V**  
Seite 1311

**Publikation V**  
Seite 1312

## **6 Therapie der ZNS-Aspergillose**

### **6.1 Fehlende Wirksamkeit Amphotericin B basierter Therapien bei Patienten mit ZNS-Aspergillose**

Invasive Aspergillosen mit ZNS-Beteiligung sind mit einer ausserordentlich hohen Mortalität verbunden. In 2 frühen retrospektiven Analysen mit insgesamt 31 Patienten, die in den Jahren 1956 – 1992 behandelt wurden, lag die Mortalität bei 100% bei einem medianen Überleben von nur 5 Tagen [41, 42]. Die vorliegende retrospektive Analyse wurde vorgenommen um die Effekte einer Amphotericin B oder Itraconazol-basierten Therapie in einer aktuelleren Kohorte von Patienten mit ZNS-Aspergillose zu überprüfen. Hierzu wurden in einer Datenbank anhand zuvor festgelegter Diagnosekriterien 17 Patienten mit gesicherter oder wahrscheinlicher ZNS-Aspergillose identifiziert die in den Jahren 1993 – 1999 behandelt wurden. Bei allen Patienten lagen Grunderkrankungen vor oder waren Therapien vorgenommen worden die mit einer klinisch relevanten Immunsuppression einhergingen (Blutstammzelltransplantation: n = 7, akute Leukämie: n = 4, Plasmozytom: n = 1, malignes Lymphom: n = 1, Lebertransplantation: n = 3, HIV-Infektion: n = 1). Bei 10 Patienten wurde D-Amphotericin B, bei 2 Patienten lipid-verkapseltes Amphotericin B und bei 3 Patienten wurde sowohl D-Amphotericin B als auch lipid-verkapseltes Amphotericin B gegeben. Zusätzlich wurde bei 2 Patienten Flucytosin, bei 1 Patienten Itraconazol und bei einem weiteren Patienten Flucytosin und Itraconazol eingesetzt. Der Beginn der antimykotischen Therapie lag bei 12 Patienten im Median 7 Tage vor und bei 3 weiteren Patienten 2 – 3 Tage nach Auftreten erster Symptome oder radiologischem Nachweis einer ZNS-Infektion. Ein einzelner Patient erhielt keine antimykotische Therapie, da die Diagnose einer invasiven Aspergillose erst postmortem gesichert wurde. Bei einem weiteren Patienten entwickelte sich die ZNS-Aspergillose unter antimykotischer Prophylaxe mit Itraconazol. Auch bei diesem Patienten wurde die Diagnose einer invasiven Aspergillose erst postmortem gestellt, ohne dass zuvor eine Erweiterung der antimykotischen Therapie vorgenommen wurde. Bei 4

Patienten erfolgte eine Hirnbiopsie, wobei bei keinem dieser Patienten eine Resektion betroffener Bereiche erfolgte.

Die Mortalität lag bei 100% bei einem medianen Überleben von nur 10 Tagen nach Auftreten erster Symptome oder radiologischem Nachweis einer ZNS-Infektion. Diese retrospektive Analyse ergab somit keine Hinweise, dass eine Amphotericin B oder Itraconazol-basierte Therapie einen Stellenwert in der Therapie der ZNS-Aspergillose besitzt.

## **Publikation VI**

Schwartz S, Ruhnke M, Ribaud P, Reed E, Troke P, Thiel E.

### **POOR EFFICACY OF AMPHOTERICIN B BASED THERAPY IN CNS ASPERGILLOSIS.**

*Mycoses*, 50: 196-200 (2007)

**Publikation VI**  
Seite 196

**Publikation VI**  
Seite 197

**Publikation VI**  
Seite 198

**Publikation VI**  
Seite 199

**Publikation VI**  
Seite 200

## **6.2 Klinische Wirksamkeit und ZNS-Penetration von Voriconazol bei invasiver Aspergillose mit Hirnabszess**

Aufgrund der im Tiermodell nachgewiesenen, guten Penetration von Voriconazol in das ZNS wurde bei einem 18-jährigen Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie und Hirnabszessen bei cerebraler Aspergillose erstmals Voriconazol erfolgreich eingesetzt [40]. Bei diesem Patienten kam es unter systemischer Therapie mit D-Amphotericin B, L-Amphotericin B und Itraconazol sowie intrathekaler und intracerebraler Applikation von D-Amphotericin B zu einer Progredienz der Hirnabszesse. Im Rahmen der Leukämiebehandlung waren routinemässig Liquorpunktionen erforderlich, so dass in den gewonnenen Liquorproben die Konzentration von Voriconazol bestimmt werden konnte. In 5 Liquorproben, die jeweils 1 Stunde nach Gabe von Voriconazol entnommen wurden, lag die Konzentration von Voriconazol bei 1,36 – 2,65µg/ml und somit deutlich im Bereich fungizider Konzentrationen für *Aspergillus Spezies*. Die zu 3 Zeitpunkten synchron gemessenen Plasmaspiegel von Voriconazol lagen bei 3,31 – 3,9µg/ml. Die Liquorkonzentrationen von Voriconazol entsprachen somit 41 – 68% der korrespondierenden Plasmakonzentrationen. Unter fortgesetzter Therapie mit Voriconazol über insgesamt 175 Tage konnte eine kontinuierliche Rückbildung der Hirnabszesse dokumentiert werden. Trotz wiederholter Phasen mit Chemotherapie-induzierter Neutropenie kam es unter fortgesetzter Therapie mit Voriconazol zu keiner Reaktivierung der invasiven Aspergillose. Leider verstarb der Patient 220 Tage nach Auftreten erster Symptome der cerebralen Aspergillose aufgrund erneuter Progredienz der therapierefraktären Leukämie.

Erstmals konnte somit gezeigt werden, dass auch beim Menschen fungizide Voriconazolkonzentrationen im ZNS erreicht werden können und ein objektives Ansprechen einer cerebralen Aspergillose und Langzeitüberleben durch eine Therapie mit Voriconazol möglich ist.

## Publikation VII

Schwartz S, Milatovic D, Thiel E.

**Successful treatment of cerebral aspergillosis with a novel triazole (voriconazole) in a patient with acute leukaemia.**

*British Journal of Haematology, 97: 663-665 (1997)*

**Publikation VII**  
Seite 663

**Publikation VII**  
Seite 664

**Publikation VII**  
Seite 665

### 6.3 Retrospektive Analyse zur Therapie der ZNS-Aspergillose mit Voriconazol

Um die kasuistischen Berichte über erfolgreiche Behandlungen der cerebralen Aspergillose mit Voriconazol und den Stellenwert dieser Therapie zu überprüfen, wurde eine retrospektive Analyse an einem grossen Patientenkollektiv mit ZNS-Aspergillose durchgeführt. Mittels Datenbankauswertung wurden Patienten mit ZNS-Aspergillose und Voriconazolbehandlung identifiziert. In die Auswertung wurden 81 Patienten aufgenommen, bei denen zuvor definierte Diagnosekriterien einer gesicherten (n = 48) oder wahrscheinlichen (n = 33) ZNS-Aspergillose erfüllt waren. Die Mehrzahl der Patienten (78 von 81 Patienten, 96%) hatte vor Beginn der Voriconazoltherapie eine antimykotische Vorbehandlung mit D-Amphotericin B (n = 57), lipid-verkapseltem Amphotericin B (n = 46), Itraconazol (n = 37), Flucytosin (n = 22) oder Caspofungin (n = 5) erhalten. Die Umstellung auf Voriconazol erfolgte bei 62 dieser 78 vorbehandelten Patienten aufgrund eines ungenügenden Therapieansprechens.

Bei 28 von 81 (35%) Patienten lag ein vollständiges (n = 7) oder partielles (n = 21) Therapieansprechen vor. Zum Zeitpunkt der letzten Nachbeobachtung lag ein Überleben bei 25 von 81 (31%) Patienten vor und die dokumentierten Überlebenszeiten lagen insgesamt bei 3 – 1245 Tagen (Median: 69 Tage). In einer multivariaten Analyse zeigte sich ein signifikant geringeres Überleben bei Patienten nach Blutstammzelltransplantation (Hazard Ratio: 2, Konfidenzintervall: 1,1 – 3,6; p = 0,02). Bei 7 von 32 (22%) Patienten mit Überleben nach Blutstammzelltransplantation und ZNS-Aspergillose betrug die registrierte Überlebenszeit 17 – 689 Tage (Median: 203 Tage). Interessanterweise zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen Überleben und neurochirurgischen Interventionen (Hazard Ratio: 2,1, Konfidenzintervall: 1,1 – 3,9; p = 0,02). Bei insgesamt 31 Patienten wurden neurochirurgische Interventionen vorgenommen, die in einer Kraniotomie/Abszessresektion (n = 14), Abszessdrainage (n = 12), Anlage eines Ventrikelshunts (n = 4) oder Implantation eines Ommayareservoirs (n = 1) bestanden.

In dieser Auswertung des bisher grössten Kollektiv an Patienten mit ZNS-Aspergillose zeigte sich eine relevante Verbesserung der Therapieergebnisse durch Einsatz von Voriconazol

und neurochirurgischen Interventionen, so dass dies derzeit den besten Therapieansatz bei diesem lebensbedrohlichen Krankheitsbild darstellt.

## **Publikation VIII**

Schwartz S, Ruhnke M, Ribaud P, Corey L, Driscoll T, Cornely OA, Schuler U, Lutsar I, Troke P, Thiel E.

**Improved outcome in central nervous system aspergillosis, using voriconazole treatment.**

*Blood, 106: 2641-2645 (2005)*

**Publikation VIII**  
Seite 2641

**Publikation VIII**  
Seite 2642

**Publikation VIII**  
Seite 2643

**Publikation VIII**  
Seite 2644

**Publikation VIII**  
Seite 2645

## 7 Diskussion

Nach Jahrzehnten der Stagnation, in denen ausschliesslich Amphotericin B für die Behandlung invasiver Aspergillosen zur Verfügung stand, sind durch Einführung neuer antimykotischer Substanzen in den letzten Jahren deutliche Therapiefortschritte bei dieser opportunistischen Infektion erreicht worden. Die Entscheidung über eine gezielte Diagnostik und den Beginn einer antimykotischen Therapie basiert jedoch bis heute auf der Erkennung von typischen Symptomen und klinischen Befunden bei Patienten mit invasiver Aspergillose. Da invasive Aspergillosen nahezu ausschliesslich aerogen über Inhalation von Pilzsporen erworben werden, finden sich Primärinfektionen am häufigsten in der Lunge und im Nasennebenhöhlenbereich. Daher sollte bei Risikopatienten mit persistierendem Fieber unter breit wirksamer antibakterieller Therapie und Symptomen einer Pneumonie oder Sinusitis in jedem Fall eine gezielte Diagnostik eingeleitet werden und die Hinzunahme einer empirischen antimykotischen Therapie frühzeitig überlegt werden. Bei Pleuraschmerzen als typisches Frühsymptom einer pulmonalen Aspergillose sowie Schmerzen im Gesichtsschädel, Ulzerationen oder Zeichen einer beginnenden Orbitalphlegmone als typische Zeichen einer Aspergillussinusitis empfiehlt sich bei Risikopatienten der unverzügliche Beginn einer antimykotischen Therapie auch wenn eine invasive Aspergillose noch nicht diagnostisch gesichert ist [s. Publikation I, S. 10ff und Publikation II, S. 16ff].

Die zu Beginn der neunziger Jahre verfügbaren Antimykotika zeigen eine unbefriedigende Wirksamkeit bei Patienten mit invasiver Aspergillose mit durchschnittlichen Ansprechraten für D-Amphotericin B von nur 32%, so dass die Entwicklung von Prophylaxestrategien im Mittelpunkt des wissenschaftlichen Interesses stand [7, 8]. Eine Inhalationsprophylaxe mit D-Amphotericin B erschien besonders attraktiv, da eine systemische Resorption nur gelegentlich in geringem Ausmass stattfindet und daher relevante systemische Nebenwirkungen nicht befürchtet wurden. Ausserdem konnte eine pulmonale Deposition bei Verwendung geeigneter Verneblersysteme über einen ausreichend langen Zeitraum erreicht werden [s. Publikation III, S. 19ff]. Die Ergebnisse einer prospektiven, randomisierten Studie zur Prophylaxe mit D-Amphotericin B Aerosol waren jedoch enttäuschend und konnten einen

Nutzen dieser Prophylaxe nicht bestätigen. Da die Fallzahlplanung in dieser Studie angelegt war, um eine Senkung der Inzidenz invasiver Aspergillosen durch die Prophylaxe von mindestens 9% zu detektieren, ergab sich bei einer Gesamtinzidenz invasiver Aspergillosen von unter 6% in dieser Studie kein statistisch signifikantes Ergebnis [s. Publikation IV, S. 28ff]. Prinzipiell erscheint es denkbar, dass eine Prophylaxe mit D-Amphotericin B Aerosol bei Hochrisikopatienten mit einer höheren Inzidenz invasiver Aspergillosen eine Wirksamkeit besitzt. Die Verträglichkeit der Inhalationsprophylaxe war in der vorliegenden Studie jedoch deutlich eingeschränkt und bei 31% der Patienten wurde die inhalative Prophylaxe vorzeitig beendet, so dass allein aus Gründen der Verträglichkeit und Durchführbarkeit weitere Studien zur inhalativen Prophylaxe mit D-Amphotericin B nicht sinnvoll erscheinen.

Da bisherige Studien mit L-Amphotericin B, bei geringen Fallzahlen bzw. niedriger Inzidenz invasiver Aspergillosen, keinen Effekt in der Prophylaxe invasiver Aspergillosen belegen konnten, wurde eine Studie mit einer grösseren Zahl an Risikopatienten und einer erwarteten Neutropeniedauer von über 10 Tagen nach Chemotherapie initiiert [29, 30]. In dieser Studie zeigte sich unter prophylaktischer Gabe von 50 mg L-Amphotericin B jeden 2. Tag eine signifikant geringere Rate an gesicherten und wahrscheinlichen invasiven Aspergillosen im Vergleich zur Kontrollgruppe (2 von 75 Patienten, 2,6% versus 11 von 57 Patienten, 19%;  $p = 0,0057$ ). Diese Studie wurde jedoch unverblindet durchgeführt, die individuelle Dosis L-Amphotericin B pro kg Körpergewicht variierte, da eine Absolutdosis von 50 mg L-Amphotericin B jeden 2. Tag für alle Patienten festgelegt war, und es konnte kein Überlebensvorteil für Patienten mit L-Amphotericin B Prophylaxe gezeigt werden [s. Publikation V, S. 39ff]. Daher ist eine Überprüfung dieser Studienergebnisse in einer prospektiven, randomisierten, doppelt-verblindeten Studie mit individuell angepasster Dosierung zu fordern, bevor eine Prophylaxe mit L-Amphotericin B generell empfohlen werden kann.

Kürzlich wurden zwei prospektive, randomisierte Studien zur antimykotischen Prophylaxe mit einem neuen Azol, Posaconazol, bei Patienten mit Chemotherapie-induzierter Neutropenie  $\geq 7$  Tage (602 Patienten mit unverblindeter Prophylaxe mit Posaconazol versus Fluconazol

oder Itraconazol) und Patienten mit immunsuppressiver Therapie bei Graft-versus-Host Erkrankung nach allogener Blutstammzelltransplantation (600 Patienten mit verblindeter Prophylaxe mit Posaconazol versus Fluconazol) publiziert [43, 44]. Die Inzidenz invasiver Aspergillosen war in beiden Studien insgesamt niedrig und lag unter 6%. In beiden Studien wurde unter Prophylaxe mit Posaconazol eine signifikant niedrigere Inzidenz invasiver Aspergillosen registriert (1% versus 7% bei Patienten mit Chemotherapie-induzierter Neutropenie,  $p < 0,001$ ; 2,3% versus 7% bei Patienten mit Graft-versus-Host Erkrankung,  $p = 0,006$ ). Interessanterweise zeigte sich in der Studie zur Posaconazolprophylaxe bei Patienten mit prolongierter Neutropenie erstmals eine signifikante Senkung der Gesamtmortalität und Mortalität durch invasive Mykosen, wobei am häufigsten invasive Aspergillosen austraten (22 invasive Aspergillosen bei insgesamt 32 invasiven Mykosen) [43]. Das errechnete Verhältnis zwischen der Zahl von Patienten, die mit einer Posaconazolprophylaxe zu behandeln waren, um statistisch einen Todesfall zu vermeiden, lag in dieser Studie zu Patienten mit Chemotherapie-induzierter Neutropenie bei 14:1 [43]. Bemerkenswerterweise war in dieser Studie der Anteil an Patienten, bei denen die Diagnose einer invasiven Aspergillose auf einem serologischen Nachweis von Aspergillusgalaktomannan basierte, mit bis zu 82% (bis zu 18 von 22 Patienten) sehr hoch, wobei eine präzise Zahl hierzu nicht angegeben wurde [43]. In dieser Studie wurde in der Kontrollgruppe neben dem bei Aspergillose unwirksamen Fluconazol auch Itraconazol eingesetzt. Publierte Daten belegen, dass eine gegen *Aspergillus Spezies* gerichtete Therapie zu niedrigen bis nicht messbaren Aspergillusgalaktomannanspiegeln führt und eine begleitende Therapie mit Piperacillin/Tazobactam zu falsch-positiven Testresultaten führen kann [45, 46]. Lässt man die 18 Patienten unberücksichtigt, bei denen in dieser Studie die Diagnose einer invasiven Aspergillose zumeist auf einem serologischen Nachweis basierte, ist kein Unterschied in der Inzidenz invasiver Aspergillosen bei Patienten mit Posaconazol- bzw. Fluconazol- oder Itraconazolprophylaxe mehr feststellbar [43]. Posaconazol ist bisher nur für die orale Therapie verfügbar und weist eine bis zu 400% variable Bioverfügbarkeit in Abhängigkeit von der Nahrungsaufnahme und dem Fettgehalt der Nahrung auf, so dass die

Wirksamkeit der Prophylaxe bei Patienten mit reduzierter oraler Nahrungszufuhr eingeschränkt sein kann [47].

Trotz dieser insgesamt positiven Studienergebnisse zur Prophylaxe mit L-Amphotericin B und Posaconazol erscheint, angesichts immenser Gesamtkosten einer breit angelegten Prophylaxestrategie und möglicher Nebenwirkungen, der gezielte Einsatz einer systemischen Prophylaxe vor allem bei Hochrisikopatienten oder in Zentren mit einer hohen Inzidenz invasiver Aspergillosen sinnvoll [48].

Mit Voriconazol konnte erstmals seit Einführung von D-Amphotericin B ein substantieller Fortschritt in der Primärtherapie der invasiven Aspergillose erreicht werden. In einer prospektiven Studie, in der Voriconazol in randomisiertem Vergleich mit dem bisherigen Standardtherapeutikum, D-Amphotericin B, bei Patienten mit invasiver Aspergillose eingesetzt wurde, lag die Ansprechrate für Voriconazol mit 52,8% im Vergleich zu einer Ansprechrate für D-Amphotericin B von 31,6% und die Überlebensrate 12 Wochen nach Therapiebeginn für Voriconazol mit 70,8% im Vergleich zu 57,9% für D-Amphotericin B signifikant höher [8]. Auch in der Hochrisikogruppe mit Patienten nach allogener Blutstammzelltransplantation zeigte sich in dieser Studie eine verbesserte Ansprechrate unter Therapie mit Voriconazol (32,4% für Voriconazol versus 13,3% für D-Amphotericin B) [8]. Voriconazol besitzt im Vergleich zu allen anderen bei der invasiven Aspergillose eingesetzten Antimykotika eine deutlich bessere ZNS-Penetration und es können fungizide Konzentrationen dieses Azols im ZNS erreicht werden. Im Liquor sind Voriconazolkonzentrationen bis 3,93µg/ml berichtet worden mit einem Verhältnis zwischen Plasma- und Liquorkonzentration von 22% - 100% [s. Publikation VII, S. 57ff][49]. Im Hirngewebe von 2 Patienten ohne ZNS-Infektion fanden sich hohe Voriconazolkonzentrationen (11,8µg/g und 58,5µg/g) und bei einer mit Voriconazol behandelten Patientin mit Aspergillus sinusitis und Hirnabszess betrug die Voriconazolkonzentration im Abszessbereich 1,2 – 1,4µg/g [50].

Unter Therapie mit Amphotericin B oder Itraconazol lag bisher die Mortalität von Patienten mit ZNS-Aspergillose bei nahezu 100% und es wurde nur sehr selten, meist in Form

kasuistischer Berichte, von einem Überleben bei diesen Höchststrisikopatienten berichtet [s. Publikation VI, S. 49ff][32, 51]. Bei einem Patienten mit akuter Leukämie und ZNS-Aspergillose konnte ein objektives Therapieansprechen erstmals unter Voriconazol dokumentiert werden bei gleichzeitigem Nachweis fungizider Voriconazolkonzentrationen im Liquor dieses Patienten [s. Publikation VII, S. 57ff]. In einer retrospektiven Analyse der grössten, bisher publizierten Patientenkohorte mit ZNS-Aspergillose bestätigte sich ein verbessertes Ansprechen auf eine Therapie mit Voriconazol. Die Ansprechrate der grösstenteils vorbehandelten Patienten lag durchschnittlich bei 35%, und bei 31% der Patienten zeigte sich ein Langzeitüberleben [s. Publikation VIII, S. 62ff]. Das Überleben von 32 Patienten mit ZNS-Aspergillose nach Blutstammzelltransplantation war im Vergleich zu allen anderen Patienten signifikant geringer, jedoch betrug die registrierte mediane Überlebenszeit von 7 (22%) überlebenden Patienten in dieser Gruppe 203 Tage. Interessanterweise zeigte sich ein signifikant positiver Einfluss neurochirurgischer Intervention auf das Überleben, wobei eine Vielzahl unterschiedlicher Eingriffe vorgenommen wurde [s. Publikation VIII, S. 62ff]. Insgesamt sollte daher Voriconazol in Verbindung mit neurochirurgischer Intervention, soweit möglich, derzeit als Therapiestandard bei der ZNS-Aspergillose angesehen werden. Die hierdurch erreichten Ansprech- bzw. Überlebensraten von 35% bzw. 31% bei diesen Patienten sind jedoch weiterhin unbefriedigend und in künftigen Untersuchungen sollten höhere Dosen von Voriconazol, ein verbessertes neurochirurgisches Management und antimykotische Kombinationstherapien geprüft werden [52].

## 8 Literatur

1. Boon AP, O'Brien D, Adams DH. 10 year review of invasive aspergillosis detected at necropsy. *J Clin Pathol* 1991;44:452-454.
2. Groll AH, Shah PM, Mentzel C, et al. Trends in the postmortem epidemiology of invasive fungal infections at a university hospital. *J Infect* 1996;33:23-32.
3. Yamazaki T, Kume H, Murase S, et al. Epidemiology of visceral mycoses: analysis of data in annual of the pathological autopsy cases in Japan. *J Clin Microbiol* 1999;37:1732-1738.
4. McNeil MM, Nash SL, Hajjeh RA, et al. Trends in mortality due to invasive mycotic diseases in the United States, 1980-1997. *Clin Infect Dis* 2001;33:641-647.
5. Dutcher JD. The discovery and development of amphotericin B. *Dis Chest* 1968;54 Suppl 1:296-298.
6. Groll AH, Piscitelli SC, Walsh TJ. Clinical pharmacology of systemic antifungal agents: a comprehensive review of agents in clinical use, current investigational compounds, and putative targets for antifungal drug development. *Adv Pharmacol* 1998;44:343-500.
7. Patterson TF, Kirkpatrick WR, White M, et al. Invasive aspergillosis. Disease spectrum, treatment practices, and outcomes. I3 Aspergillus Study Group. *Medicine (Baltimore)* 2000;79:250-260.
8. Herbrecht R, Denning DW, Patterson TF, et al. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med* 2002;347:408-415.
9. Vermes A, Guchelaar HJ, Dankert J. Flucytosine: a review of its pharmacology, clinical indications, pharmacokinetics, toxicity and drug interactions. *J Antimicrob Chemother* 2000;46:171-179.
10. Ascioglu S, Rex JH, de Pauw B, et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis* 2002;34:7-14.
11. Kahn FW, Jones JM, England DM. The role of bronchoalveolar lavage in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *Am J Clin Pathol* 1986;86:518-523.
12. Peikert T, Rana S, Edell ES. Safety, diagnostic yield, and therapeutic implications of flexible bronchoscopy in patients with febrile neutropenia and pulmonary infiltrates. *Mayo Clin Proc* 2005;80:1414-1420.
13. Gerson SL, Talbot GH, Lusk E, et al. Invasive pulmonary aspergillosis in adult acute leukemia: clinical clues to its diagnosis. *J Clin Oncol* 1985;3:1109-1116.
14. Talbot GH, Huang A, Provencher M. Invasive aspergillus rhinosinusitis in patients with acute leukemia. *Rev Infect Dis* 1991;13:219-232.

15. Drakos PE, Nagler A, Or R, et al. Invasive fungal sinusitis in patients undergoing bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1993;12:203-208.
16. Kuhlman JE, Fishman EK, Siegelman SS. Invasive pulmonary aspergillosis in acute leukemia: characteristic findings on CT, the CT halo sign, and the role of CT in early diagnosis. *Radiology* 1985;157:611-614.
17. Walsh TJ, Dixon DM. Nosocomial aspergillosis: environmental microbiology, hospital epidemiology, diagnosis and treatment. *Eur J Epidemiol* 1989;5:131-142.
18. Rousey SR, Russler S, Gottlieb M, et al. Low-dose amphotericin B prophylaxis against invasive *Aspergillus* infections in allogeneic marrow transplantation. *Am J Med* 1991;91:484-492.
19. Perfect JR, Klotman ME, Gilbert CC, et al. Prophylactic intravenous amphotericin B in neutropenic autologous bone marrow transplant recipients. *J Infect Dis* 1992;165:891-897.
20. Gryn J, Goldberg J, Johnson E, et al. The toxicity of daily inhaled amphotericin B. *Am J Clin Oncol* 1993;16:43-46.
21. Beyer J, Barzen G, Risse G, et al. Aerosol amphotericin B for prevention of invasive pulmonary aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:1367-1369.
22. Schmitt HJ, Bernard EM, Hauser M, et al. Aerosol amphotericin B is effective for prophylaxis and therapy in a rat model of pulmonary aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother* 1988;32:1676-1679.
23. Conneally E, Cafferkey MT, Daly PA, et al. Nebulized amphotericin B as prophylaxis against invasive aspergillosis in granulocytopenic patients. *Bone Marrow Transplant* 1990;5:403-406.
24. Myers SE, Devine SM, Topper RL, et al. A pilot study of prophylactic aerosolized amphotericin B in patients at risk for prolonged neutropenia. *Leuk Lymphoma* 1992;8:229-233.
25. Hertenstein B, Kern WV, Schmeiser T, et al. Low incidence of invasive fungal infections after bone marrow transplantation in patients receiving amphotericin B inhalations during neutropenia. *Ann Hematol* 1994;68:21-26.
26. De Beule K, Van Gestel J. Pharmacology of itraconazole. *Drugs* 2001;61 Suppl 1:27-37.
27. Glasmacher A, Prentice A, Gorschluter M, et al. Itraconazole prevents invasive fungal infections in neutropenic patients treated for hematologic malignancies: evidence from a meta-analysis of 3,597 patients. *J Clin Oncol* 2003;21:4615-4626.
28. Hay RJ. Liposomal amphotericin B, AmBisome. *J Infect* 1994;28 Suppl 1:35-43.
29. Tollemar J, Ringden O, Andersson S, et al. Randomized double-blind study of liposomal amphotericin B (Ambisome) prophylaxis of invasive fungal infections in bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 1993;12:577-582.

30. Kelsey SM, Goldman JM, McCann S, et al. Liposomal amphotericin (AmBisome) in the prophylaxis of fungal infections in neutropenic patients: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Bone Marrow Transplant* 1999;23:163-168.
31. Lin SJ, Schranz J, Teutsch SM. Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature. *Clin Infect Dis* 2001;32:358-366.
32. Denning DW. Therapeutic outcome in invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1996;23:608-615.
33. Bodey G, Bueltmann B, Duguid W, et al. Fungal infections in cancer patients: an international autopsy survey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992;11:99-109.
34. Collette N, van der Auwera P, Lopez AP, et al. Tissue concentrations and bioactivity of amphotericin B in cancer patients treated with amphotericin B-deoxycholate. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:362-368.
35. Collette N, van der Auwera P, Meunier F, et al. Tissue distribution and bioactivity of amphotericin B administered in liposomes to cancer patients. *J Antimicrob Chemother* 1991;27:535-548.
36. Heykants J, Michiels M, Meuldermans W, et al. The pharmacokinetics of itraconazole in animals and man: an overview. In: Fromtling RA, ed. *Recent Trends in the Discovery, Development and Evaluation of Antifungal Agents*. Barcelona: J.R. Prous Science, 1987: 223-249.
37. Perfect JR, Durack DT. Penetration of imidazoles and triazoles into cerebrospinal fluid of rabbits. *J Antimicrob Chemother* 1985;16:81-86.
38. Thaler F, Bernard B, Tod M, et al. Fluconazole penetration in cerebral parenchyma in humans at steady state. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1154-1156.
39. Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ, et al. Antifungal activities of posaconazole, ravuconazole, and voriconazole compared to those of itraconazole and amphotericin B against 239 clinical isolates of *Aspergillus* spp. and other filamentous fungi: report from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2000. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:1032-1037.
40. Jezequel SG, Clark M, Evans K, et al.: UK-109,496, a novel, wide-spectrum triazole derivative for the treatment of fungal infections: disposition in animals. 35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy:126, 1995 (abstr)
41. Walsh TJ, Hier DB, Caplan LR. Aspergillosis of the central nervous system: clinicopathological analysis of 17 patients. *Ann Neurol* 1985;18:574-582.
42. Pagano L, Ricci P, Montillo M, et al. Localization of aspergillosis to the central nervous system among patients with acute leukemia: report of 14 cases. Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto Infection Program. *Clin Infect Dis* 1996;23:628-630.

43. Cornely OA, Maertens J, Winston DJ, et al. Posaconazole vs. fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia. *N Engl J Med* 2007;356:348-359.
44. Ullmann AJ, Lipton JH, Vesole DH, et al. Posaconazole or fluconazole for prophylaxis in severe graft-versus-host disease. *N Engl J Med* 2007;356:335-347.
45. Marr KA, Laverdiere M, Gugel A, et al. Antifungal therapy decreases sensitivity of the Aspergillus galactomannan enzyme immunoassay. *Clin Infect Dis* 2005;40:1762-1769.
46. Sulahian A, Touratier S, Ribaud P. False positive test for aspergillus antigenemia related to concomitant administration of piperacillin and tazobactam. *N Engl J Med* 2003;349:2366-2367.
47. Courtney R, Radwanski E, Lim J, et al. Pharmacokinetics of posaconazole coadministered with antacid in fasting or nonfasting healthy men. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:804-808.
48. de Pauw BE, Donnelly JP. Prophylaxis and aspergillosis--has the principle been proven? *N Engl J Med* 2007;356:409-411.
49. Lutsar I, Roffey S, Troke P. Voriconazole concentrations in the cerebrospinal fluid and brain tissue of guinea pigs and immunocompromised patients. *Clin Infect Dis* 2003;37:728-732.
50. Elter T, Sieniawski M, Gossmann A, et al. Voriconazole brain tissue levels in rhinocerebral aspergillosis in a successfully treated young woman. *Int J Antimicrob Agents* 2006;28:262-265.
51. Coleman JM, Hogg GG, Rosenfeld JV, et al. Invasive central nervous system aspergillosis: cure with liposomal amphotericin B, itraconazole, and radical surgery--case report and review of the literature. *Neurosurgery* 1995;36:858-863.
52. Clemons KV, Espiritu M, Parmar R, et al. Comparative efficacies of conventional amphotericin b, liposomal amphotericin B (AmBisome), caspofungin, micafungin, and voriconazole alone and in combination against experimental murine central nervous system aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:4867-4875.

## 9 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Eckhard Thiel für sein langjährig in mich gesetztes Vertrauen, für Offenheit und grosszügige Rahmenbedingungen, unter denen verschiedenste wissenschaftliche Projekte verwirklicht werden konnten, und für die Möglichkeit einer breit angelegten klinischen Ausbildung.

Herrn Prof. Dr. Jörg Beyer danke ich für die sehr motivierende Kooperation im Rahmen erster wissenschaftlicher Projekte und seine stets sehr konstruktiven und kritischen Anregungen. Herrn Prof. Dr. Markus Ruhnke danke ich für die sehr gute Kooperation auf dem Gebiet der Klinischen Mykologie und seine zahlreichen und sehr hilfreichen Ratschläge. Herrn Prof. Dr. Klaus Borner bin ich sehr dankbar für die unkomplizierte und fruchtbare Kooperation auf dem Gebiet der Klinischen Pharmakologie.

Frau Barbara Komischke und Frau Rita Lippold, die mich im Laborbereich langjährig unterstützt und begleitet haben, fühle ich mich zu grossem Dank verpflichtet.

Meinen Eltern danke ich für die grosse Unterstützung meiner früh getroffenen Berufswahl. Meiner Frau Britta und meinen Kindern Florian, Matthias und Charlotte bin ich sehr dankbar für die ausdauernde Geduld während zahlreicher Abwesenheiten.

## 10 Erklärung

### § 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

.....  
Datum

.....  
Dr. Stefan Schwartz