

ORIGINAL ARTIKEL

Adriena Sakalová, Paul R. Bock, Ladislav Dedík,
Jürgen Hanisch, Wilfried Schiess, Slávka Gažová,
Irena Chabroňová, Dagmar Holomanova,
Martin Mistrík, Mikuláš Hrubíško

Retrolektive Kohortenstudie einer additiven Therapie mit einem oralen Enzympräparat bei Patienten mit multiplem Myelom

Abstract Zweck: Die Bewertung der Wirkung einer additiven Therapie mit einem oralen Enzympräparat (OE), das für mehr als 6 Monate zusätzlich zur standardisierten Polychemotherapie mit Vincristin/Melphalan/Cyclophosphamid/Prednison (VMCP) oder mit Methylprednisolon/Vincristin/CCNU/Cyclophosphamid/Melphalan (MOCCA) in der primären Behandlung von Patienten mit multiplem Myelom Stadien I–III eingesetzt wurde. **Methoden:** Eine Kohorte von 265 Patienten mit multiplem Myelom der Stadien I–III wurde in unserem Institut in zwei parallelen Gruppen behandelt [Kontrollgruppe ($n = 99$): Chemotherapie \pm OE für weniger als 6 Monate; OE-Gruppe ($n = 166$): Chemotherapie + OE für mehr als 6 Monate]. Die mediane Follow-up-Zeit in den Stadien I, II und III für die OE-Gruppe betrug 61, 37 bzw. 46,5 Monate; die entsprechenden Zeiträume für die Kontrollgruppe waren 33, 51,5 und 31,5 Monate. Der primäre Endpunkt der Studie war das auf die Erkrankung bezogene Überleben. Sekundäre Endpunkte waren Ansprechen auf die Therapie, Dauer des ersten Ansprechens und Nebenwirkungen. Die hierzu gewählte Studienanordnung war die einer retrolektiven Kohortenstudie mit einer parallelen Kontrollgruppe. Die

Überlebensanalyse wurde nach der Kaplan-Meier-Methode durchgeführt und die multivariate Analyse mittels Cox-Regression. **Ergebnisse:** Signifikant höhere Gesamt-Ansprechraten und eine längere Dauer der Remissionen wurden in der OE-Gruppe beobachtet. Primär-Responder zeigten eine längere mittlere Überlebenszeit als Non-Responder. Eine zusätzliche Therapie mit OE über mehr als 6 Monate verringerte das Todesrisiko für Patienten in allen Krankheitsstadien um ca. 60%. Die Beobachtungszeit war nicht lang genug, um das mediane Überleben für Patienten in den Stadien I und II zu ermitteln; für Patienten des Stadiums III betrug es 47 Monate in der Kontrollgruppe und 83 Monate in der OE-Testgruppe ($p = 0,0014$), was einen Zugewinn von 3 Jahren Überlebenszeit bedeutet. In der Analyse mittels Cox-Regression waren Krankheitsstadium und OE-Behandlung signifikante Prognosefaktoren für das Überleben. Die OE-Therapie wurde allgemein gut vertragen (3,6% der Patienten zeigten leichte bis mäßige gastrointestinale Symptome). **Schlussfolgerung:** OEs stellen eine vielversprechende neue additive Therapie beim multiplem Myelom dar, die in einer randomisierten Phase III Studie in den USA weiter untersucht werden wird.

Key Words: retrolektive Kohortenstudie, additive Therapie, multiples Myelom, orales Enzympräparat, Überleben

Diese Studie wurde von MUCOS Pharma, Geretsried, Deutschland mit wissenschaftlichen Fördergeldern unterstützt. Sie wurde vorgestellt bei der ECCO 10, The European Cancer Conference, Wien, 12.–16. September 1999

A. Sakalová (✉), S. Gažová, I. Chabroňová
D. Holomanova, M. Hrubíško, M. Mistrík
Clinic of Haematology and Transfusion Medicine,
University of Bratislava, Partizánzka ul. 4,
81103 Bratislava, Slowakei
Tel.: +421-7-54413080; Fax: + 421-7-54413085

L. Dedík
Institute for Experimental Pharmacology,
Slovak Technical University, Bratislava, Slowakei

J. Hanisch, P.R. Bock
IFAG Basel, Rümlingen (BL), Schweiz

W. Schiess
Abteilung Klinische Forschung, Mucos Pharma,
Geretsried, Deutschland

Einleitung

Das multiple Myelom ist eine unheilbare hämatologische Erkrankung, die gekennzeichnet ist durch die maligne Umwandlung eines B-Lymphozyten-Klons mit einer Enddifferenzierung der Tumorzellen in Immunglobulin-produzierende Plasmazellen, die im Knochenmark akkumulieren. Mit einer jährlichen Inzidenz von 2–4 pro 100.000 zeichnet es verantwortlich für 1% aller Krebsfälle und 14% aller hämatologischen Krebserkrankungen. Obwohl das Myelom zunächst auf eine Chemotherapie anspricht und viele Patienten eine klinische Remission erleben, beträgt das mediane Überleben für Patienten im fortgeschrittenen Stadium III nur 36 Monate. Auch nach hochdosierter Chemotherapie und autologer

Transplantation persistieren resistente Zellen des malignen Klons, und bei fast allen Patienten schreitet die Krankheit letztendlich fort.

Das Überleben der Patienten kann durch verschiedene prognostische Faktoren (β_2 -Mikroglobulin im Serum, Plasmaplazma-Labeling-Index, C-reaktives Protein, Serumkreatinin, Alter), das Krankheitsstadium und auch die Art der Behandlung vorhergesagt werden. Seit den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts besteht die konventionelle Standardbehandlung aus der Verabreichung von Melphalan und Prednison, die Ansprechrate liegt bei 40-50%. Kombinationen aus Alkylanzien führen zu höheren Ansprechraten, aber in verschiedenen randomisierten Studien konnte keine Verlängerung des medianen Überlebens gezeigt werden [1-3]. Eine Erhaltungstherapie mit Interferon verlängert für gewöhnlich die Remissionszeit, hat aber in den meisten Studien keine signifikante Auswirkung auf das Überleben [4]. Der Einsatz von Bisphosphonaten bei Patienten mit Knochenläsionen jedoch führte zu verringerten Knochen-Komplikationen, einer verlängerten Remission und sogar in einer Untergruppe von Patienten zu einem verlängerten Überleben [5].

In unserer Klinik verwenden wir in den Stadien IB, IIA und IIB das Vincristin/ Melphalan/ Cyclophosphamid/ Prednison (VMCP)-Protokoll [1, 6] und in den Stadien IIB, IIIA und IIIB die Methylprednisolon/ Vincristin/ CCNU/ Cyclophosphamid/ Melphalan (MOCCA)-Polychemotherapie [7, 8] als primäre zytoreduktive Therapie. Die Therapie wird bis zum Ansprechen (Remission oder Stabilisierung), oder aber kontinuierlich durchgeführt (maximal 5 Zyklen in 1 Jahr, mit Intervallen von 4-8 Wochen zwischen den Zyklen abhängig von der vollständigen Normalisierung der hämatologischen Parameter nach jedem Zyklus). Seit der Verfügbarkeit des oralen Enzympräparats (OE) im Jahr 1989 wurden einige unserer Patienten zusätzlich zur Chemotherapie mit diesem Kombinationspräparat, das die pflanzliche Proteinase Papain und die Proteasen Trypsin und Chymotrypsin enthält, behandelt.

Der Wirkungsmechanismus von Enzymen ist nicht vollständig bekannt, aber es gibt eine Vielzahl von Effekten, die zum Teil für ihre klinische Wirksamkeit verantwortlich gemacht werden: Durch die irreversible Bindung der oral verabreichten Proteasen an Antiproteinasen wie α_2 -Makroglobulin und α_1 -Antitrypsin wird die Synthese dieser Antiproteinasen induziert. Erhöhte Antiproteinasen-Spiegel inaktivieren andere Proteinasen wie z.B. Kathepsine, von denen angenommen wird, dass sie bei der Tumorbildung und Metastasierung eine Rolle spielen. Bei Cystein-Proteinasen pflanzlichen Ursprungs (Papain) kann eine Beeinflussung des Gleichgewichts zwischen Proteinase und Antiproteinase möglicherweise auch die Tumormetastasierung beeinflussen [9, 10]. Überdies ist bekannt, dass Enzyme mit dem Zytokin-Netzwerk interagieren: Die Bindung von Proteinasen an α_2 -Makroglobulin führt zu α_2 -Makroglobulin-Proteinase-Komplexen mit einer erhöhten Bindung und Clearance von Zytokinen wie IL-1 β , IL-6 (das bekanntlich bei der Entstehung des multiplen Myeloms eine Rolle spielt), TNF- α , IFN- γ und TGF- β . TGF- β fördert die Immunsupprimierung des Organismus und trägt dazu bei, dass sich der Tumor der Immunüberwachung entziehen kann was wiederum Auswirkungen

auf das Tumorwachstum hat [11]. Enzyme verringern die TGF- β -Überproduktion auf mRNA- und Protein-Ebene [12, 13]. Außerdem interagieren sie mit Adhäsionsmolekülen, die eine wichtige Rolle bei der Tumorbildung und Metastasierung spielen. Die Beeinflussung oder Down-Regulation der Adhäsionsmoleküle durch Enzyme wurde unter anderem für B7-1, CD4, CD29, CD44, CD49, CD51, CD54, CD58 demonstriert und könnte zu ihrer Anti-Tumor-Wirkung beitragen [10]. Bei Patienten mit multiplen Myelom konnte nach der oralen Verabreichung von Enzymen eine signifikante Verringerung von CD29, CD54 und CD58 festgestellt werden, was gut mit der positiven klinischen Wirkung für diese Patienten korreliert [14]. Zu guter Letzt beeinflussen Enzyme die Spiegel von antioxidierenden Enzymen und von Sauerstoffradikalen. Ein Anstieg der Synthese von anti-oxidativen Schutzmechanismen durch geringfügigen chronischen oxidativen Stress wurde für Patienten mit Verbrennungen gezeigt [15, 16]. Kürzlich wurde eine neue Rolle für extrazelluläre Proteasen als Hemmer von intrazellulären Signalübermittlungswegen beschrieben [17].

In Untergruppen unserer Patienten haben wir die Wirkung von OE nicht nur auf die klinischen Wirkungsparameter wie Remission/Ansprechen, Dauer von Remission/Ansprechen und Langzeit-Resultat, sondern auch auf die Korrelation der Wirksamkeit mit Progressions-Markern der Krankheit untersucht. Wir beobachteten, dass Serumkonzentrationen der löslichen TNF-Rezeptoren sTNF-R p55, sTNF-R p75 und β_2 -Mikroglobulin mit dem Fortschreiten des multiplen Myeloms der Stadien II und III vor der Behandlung zunahm. Die Chemotherapie verringerte die Konzentrationen dieser Moleküle. In noch größerem Ausmaß traf dies auf die Chemotherapie mit zusätzlicher OE-Gabe zu [18]. Dasselbe gilt für TGF- β . Außerdem beobachteten wir eine klare Korrelation zwischen der Konzentration des immunreaktiven IL-6 und der Schwere der Krankheit [12, 19].

Die Zielsetzung der hier vorgestellten Studie ist eine Analyse der Daten aller Patienten, die länger als 6 Monate zusätzlich zu einer Chemotherapie OE erhalten haben, um unsere früheren Ergebnisse bezüglich der therapeutischen Wirksamkeit und Sicherheit zu untermauern. Referenzgruppe ist eine Gruppe von Patienten, die zum gleichen Zeitpunkt ausschließlich eine Standard-Chemotherapie oder eine Kurzzeit-Enzymtherapie (< 6 Monate) erhielt. Das von uns gewählte Studiendesign ist das einer retrospektiven Kohortenstudie mit einer parallelen Kontrollgruppe, das valide Rückschlüsse auf die therapeutische Wirksamkeit und die Verträglichkeit der Behandlung zulässt, wenn bestimmte Vorbedingungen erfüllt sind. In diesem Zusammenhang ist ein vorher festgelegter Prüfplan besonders wichtig, der den Studienaufbau, Kriterien zur Auswahl der Studienzentren, Auswahlkriterien für Patienten, eine Definition der Haupt-Endpunkte zusammen mit der Bewertung der klinischen Relevanz der beobachteten Veränderungen, eine Definition der Behandlungsgruppen, statistische Methoden, Testhypothesen und Maßnahmen zur Qualitätssicherung bei den Daten enthält [20].

Patienten und Methoden

Studienteilnehmer

Von Januar 1987 bis Juli 1997 wurden in der Klinik für Hämatologie und Transfusionsmedizin der Universität Bratislava 333 Patienten mit multiplem Myelom diagnostiziert, behandelt und beobachtet. Diagnose und Staging wurden nach Durie und Salmon vorgenommen, wobei die Art des Myeloms (sekretorisch oder nicht-sekretorisch) und die Subklassifizierungen A und B (A mit normalen, B mit pathologischen Nierenbefunden definiert durch erhöhte Serum-Kreatin-Werte) berücksichtigt wurden. Zur Charakterisierung der Patienten wurden Alter, Geschlecht, Körpergröße und Gewicht bei der Aufnahme, Beschäftigung, Risikofaktoren für Komorbidität (Kreislauferkrankungen in der Familie, Rauchen, Alkohol- und/oder Drogenmissbrauch, etc.), Risikofaktoren der Erkrankung (β 2-Mikroglobulin, Krankheitsstadium, sekretorisches Myelom, Osteolyse, Infektionen) sowie Myelom-spezifischen Laborparameter erhoben. Alle Patienten, die die Einschlusskriterien (primäre Diagnose eines multiplem Myeloms der Stadien I-III/A und B, Alter 18-80 Jahre, Behandlung mit Chemotherapie) erfüllten und für die die Ausschlusskriterien (adjuvante Therapie mit anderen Enzympräparaten, adjuvante Immuntherapie mit anderen Produkten, Vorhandensein eines zweiten Karzinoms oder eines anderen Malignoms bei Aufnahme) nicht zutrafen, wurden in die Datenanalyse einbezogen.

Behandlung und Follow-up

Chemotherapie: Patienten der Stadien IB, IIA und IIB erhielten das VMPC-Schema, bestehend aus Vincristin 1 mg i.v. Tag 1, Melphalan 6 mg/m² per os Tage 1 + 4, Cyclophosphamid 125 mg/m² per os Tage 1-4, Prednison 60 mg per os Tage 1-4. Patienten der Stadien IIB, IIIA und IIIB erhielten das MOCCA-Protokoll: Methylprednisolon 0,8 mg/kg i.m. Tage 1-7, 0,4 mg/kg i.m. Tage 8-14, Vincristin 0,03 mg/kg i.v. Tag 1, CCNU 40-80 mg per os Tag 1, Cyclophosphamid 10 mg/kg i.v. Tag 1, Melphalan 0,25 mg/kg per os Tage 1 + 5. In Chemotherapie-resistenten Fällen oder nach einem Rezidiv wurde das Vincristin/ Adriamycin/ Dexamethason (VAD) -Schema [21] eingesetzt (Vincristin 0,4 mg/Tag kontinuierlich i.v. Tage 1-4, Adriamycin 9 mg/m²/Tag kontinuierlich i.v. Tage 1-4, Dexamethason 40 mg/Tag per os Tage 1-4, 17-20). Die Chemotherapie wurde zum Zeitpunkt der Diagnose begonnen und bis zum Ansprechen (Remission oder Stabilisierung) oder kontinuierlich (maximal 5 Zyklen pro Jahr; Intervalle von 4-8 Wochen zwischen den Zyklen abhängig von der vollständigen Normalisierung der hämatologischen Parameter nach jedem Zyklus) verabreicht. Die Patienten blieben unter enger Beobachtung und im Falle einer klinischen oder durch Laborwerte belegten Progression (Erhöhung von ESR, Paraproteine, etc.) wurde eine Reinduktions-Chemotherapie begonnen. Im Stadium IIA erhielten alle Patienten mit osteolytischen oder osteoporotischen Knochenveränderungen zusätzlich Bisphosphonate (Clodronsäure, 400 mg 2 x 1), Kalzium und Vitamin D.

OE (Wobe-Mugos E, MUCOS Pharma, Geretsried, Deutschland; magensaftresistente Dragees mit 100 mg Papain, 40 mg Trypsin, 40 mg Chymotrypsin) wurden im ersten Jahr beginnend mit Tag 1 der Chemotherapie in der Dosierung 3 x 2 täglich oral verabreicht. Die Zuteilung zur OE-Gruppe oder zur Nicht-OE-Gruppe wurde individuell vom verantwortlichen Arzt per Zufall entschieden, nur abhängig davon, ob am ersten Tag der Chemotherapie des betreffenden Patienten OE verfügbar waren oder nicht. Die Dosis wurde für gewöhnlich ab dem zweiten Jahr auf eine Tablette dreimal täglich reduziert, uns dann so während des weiteren Beobachtungszeitraums beibehalten.

Die Bewertung des Therapie-Response erfolgte nach Standard-SWOG-Kriterien [2, 22, 23]. Eine komplette Remission wurde definiert als ein mehr als 75%iger Rückgang der Paraproteine und/oder > 90% Rückgang der Proteinurie, Rückgang der Plasmazellen im Knochenmark auf unter 5%, normale Werte von β 2-Mikroglobulin und der Nierenfunktion, sowie eine Verbesserung der klinischen Parameter (Schwäche, Knochenschmerz, oder neue osteolytische Herde). Partielle Remission war definiert als eine klinische Verbesserung sowie durch

Reduzierung der Plasmozytose im Knochenmark, mit einer Verminderung von Paraprotein im Serum um 50-75%. Objektive Remission oder stabile Erkrankung wurde definiert als eine klinische Verbesserung mit einer Verminderung von Paraprotein um 25-50%.

Statistische Methoden/Datenerhebung

Das Studiendesign, das für diese Analyse gewählt wurde, war das einer kontrollierten, unizentrischen, longitudinalen, retropektiven Kohortenstudie mit zwei parallelen Gruppen mit einer vorwärts gerichteten Datenerhebung[20]. Patienten qualifizierten sich für die Enzym-Gruppe, wenn die Behandlung mit OE länger als 6 Monate andauerte hatte. Patienten, deren Enzymtherapie kürzer war als 6 Monate, wurden nicht ausgeschlossen, sondern als „nicht-enzymbehandelt“ in die Analyse einbezogen. Intent-to-Treat-Analysen, die alle Patienten umfassten, die zumindest einmal OE erhalten hatten, wurden ebenfalls durchgeführt. Der primäre Endpunkt der Studie war auf die Erkrankung bezogene Überleben berechnet ab dem Tag der Erstdiagnose. Sekundäre Endpunkte waren das Ansprechen (Response) auf die Therapie (Response-rate und -qualität) während des ersten Jahres der Behandlung, die Dauer der ersten Remission und die Nebenwirkungen der Therapie. Alle Daten wurden auf standardisierte Prüfbögen übertragen, die von einem unabhängigen Institut (IFAG Basel) gesammelt auf Vollständigkeit und Plausibilität überprüft und kontrolliert wurden (Daten-Audit). Krankheitsbezogene Überlebensraten wurden mittels der Methode nach Kaplan-Meier geschätzt. Multivariate Analysen wurden mittels des Cox-Regressionsmodells mit festen Kovariablen ohne Einschluss von Interaktionstermen durchgeführt. Alle *p*-Werte waren zweiseitig, mit Hazard- oder Odds-Ratios und 95% Konfidenzintervallen.

Ergebnisse

Patienten

Von den 333 von Januar 1987 bis Juli 1997 aufgenommenen Patienten wurde bei 75 das Krankheitsstadium I diagnostiziert, bei 160 Patienten Stadium II und bei 98 Patienten Stadium III. Patienten, die keine Behandlung erhielten (Chemotherapie oder Chemotherapie mit zusätzlichen OE; *n* = 39) oder Patienten, die nur OE erhielten (*n* = 29) wurden von der Bewertung ausgeschlossen. Von den 333 Patienten mit multiplem Myelom, die behandelt und Follow-up-Untersuchungen unterzogen wurden, konnten 265 in diese Analyse einbezogen werden. Wie im Prüfplan definiert, wurden 14 Patienten, die für weniger als 6 Monate additive OE erhielten (Beobachtungszeit < 6 Monate), der Kontrollgruppe zugewie-

Tabelle 1: Patienten, und ihre Gruppen-Zuordnung für die statistische Analyse (OE = orale Enzyme)

Patienten mit multiplem Myelom	Anzahl	%
Patientendaten gesamt	333	100
Therapie		
keine Therapie	39	11,7
nur OE	29	8,7
Chemotherapie ± OE	265	79,6
Patienten, die in die Auswertung aufgenommen wurden nach Prüfplan(OE > 6 Monate)		
Chemotherapie + OE	166	62,6
Chemotherapie	99	37,4
Intent-to Treat (OE > 0 Monate)		
Chemotherapie + OE	180	67,9
Chemotherapie	85	32,1

Tabelle 2: Demographische und Krankheitsdaten bei Behandlungsbeginn (alle Stadien, per Protokoll) (*SD* = Standard-Abweichung)

	OE-Gruppe	Kontrollgruppe	<i>p</i> -Wert
Alter (Jahre): Mittelwert (SD)	62,45 (11,30)	66,17 (10,95)	0,009 ^a
Geschlecht (<i>n</i>): männlich/weiblich (%)	79 (47,6)/87 (52,4)	50 (50,5)/49 (49,5)	0,646 ^b
Körpergewicht (kg): Mittelwert (SD)	74,13 (13,66)	72,25 (10,96)	0,277 ^a
Stadium (Durie & Salmon) <i>n</i> (%)			
I	19 (11,4)	11 (11,1)	0,813 ^b
II	93 (56,0)	52 (52,5)	
III	54 (32,5)	36 (36,4)	
Art des Myeloms			
sekretorisch	121 (73,3)	73 (74,5)	0,538 ^b
nichtsekretorisch (mikromolekular)	4 (2,4)	3 (3,1)	
sonstige (diffus, latent)	5 (3,0)	0	
nachgewiesene Paraproteine <i>n</i> (%)	124 (76,5)	71 (73,2)	0,609 ^b
Osteolyse, Osteoporose, Frakturen <i>n</i> (%)	105 (70,5)	58 (70,7)	0,667 ^b
Knochenschmerz vorhanden <i>n</i> (%)	113 (72,0)	68 (71,6)	0,250 ^b
wiederkehrende Infektionen <i>n</i> (%)	22 (13,7)	18 (18,6)	0,293 ^b
Karnofsky Index: Mittelwert (SD)	80,67 (9,60)	76,39 (11,50)	0,002 ^a
Laborwerte: Mittelwert (SD)			
Thrombozyten 1000/ul	225,5 (103,6)	229,3 (78,5)	0,768 ^a
Hämoglobin (g/dl)	12,3 (1,89)	11,8 (2,0)	0,053 ^a
C-reaktives Protein mg/l	19,9 (29,2)	26,0 (31,3)	0,376 ^a
BSR mm/1Std	58,1 (42,9)	71,0 (42,8)	0,023 ^a
Gesamtprotein g/l	80,6 (15,7)	81,2 (18,5)	0,767 ^a
IgA g/l	5,44 (10,19)	4,92 (9,33)	0,695 ^a
IgG g/l	26,7 (25,8)	28,5 (24,1)	0,589 ^a
IgM g/l	2,89 (12,97)	1,22 (1,24)	0,227 ^a
β2-Mikroglobulin (mg/l)	4,22 (4,18)	5,07 (3,89)	0,263 ^a
Plasmazellen (%)	19,6 (18,6)	25,1 (20,3)	0,038 ^a

^a = Zweiseitiger t-Test

^b = X²-Test (Pearson)

Tabelle 3: Häufigkeit der Verteilung von Chemotherapie-Schemata und -Sequenzen (*OE*: orale Enzymtherapie, *VMCP*: Vincristin/ Melphalan/ Cyclophosphamid/ Prednison, *MOCCA*: Methylprednisolon/ Vincristin/ CCNU/ Cyclophosphamid/ Melphalan, *VAD*: Vincristin/ Adriamycin/ Dexamethason)

Behandlungsschema <i>n</i> (%)	OE-Gruppe	Kontrollgruppe	<i>p</i> -Wert
VMCP	38 (22,9)	35 (35,4)	0,120 ^a
MOCCA	53 (31,9)	33 (33,3)	
VAD	0	1 (1,0)	
VMCP/VAD	1 (0,6)	0	
MOCCA/VAD	9 (5,4)	2 (2,0)	
MOCCA/VMCP	57 (34,3)	26 (26,3)	
alle drei kombiniert	8 (4,8)	2 (2,0)	

^a = X²-Test (Pearson)

sen, in einer Intent-to-Treat-Analyse jedoch auch für die Enzym-Gruppe mitbewertet. Die zu evaluierende Grundgesamtheit bestand aus der OE-Gruppe (*n* = 166) und der Kontrollgruppe (*n* = 99) (Tabelle 1). Die Behandlungsgruppen waren bezüglich Alter, Geschlecht, Risikofaktoren in ihrer Krankengeschichte (Daten nicht abgebildet), Risikofaktoren der Erkrankung und Laborparameter gut vergleichbar. Allerdings wurden in der nach Krankheitsstadium adjustierten Gesamtstichprobe statistisch signifikante Unterschiede bezüglich des Alters beobachtet (aber der mediane Altersunterschied von 4 Jahren wurde als klinisch irrelevant angesehen), sowie für C-reaktives Protein (OE-Gruppe < Kontrollgruppe) und Hämoglobin (OE-Gruppe > Kontrollgruppe) bei Patienten im Stadium I und β2-Mikroglobulin

(OE-Gruppe < Kontrollgruppe) bei Patienten im Stadium II. 74% der Patienten in beiden Gruppen hatten ein sekretorisches multiples Myelom; osteolytische und andere Knochenveränderungen lagen bei 71% der Fälle vor, rezurrente Infektionen bei 15% (Tabelle 2).

Die mediane Beobachtungszeit, vom Beginn bis zum Ende der Studie oder bis zum Tod des einzelnen Patienten, war 40,8 Monate in der OE-Gruppe und 39,5 Monate in der Kontrollgruppe, während die mediane Behandlungsdauer in der OE-Gruppe 24,2 (Mittelwert = 33,9) Monate betrug. Die mediane Beobachtungszeit nach Krankheitsstadium war in der OE-Gruppe 61 Monate, 37 Monate, bzw. 46,5 Monate für die Stadien I, II, und III. Für die Kontrollgruppe lagen die entsprechenden Werte bei 33 Monaten (I), 51,5 Monaten (II) und 31,5 Monaten (III). Die Häufigkeitsverteilung der einzelnen Chemotherapie-Schemata ist in Tabelle 3 dargestellt. In der OE-Gruppe wurden in Fällen von multiplem Myelom des Stadiums III (*p* = 0,011) und in der nach Stadien korrigierten Gesamtstichprobe (*p* = 0,0086) sequentielle Polychemotherapie-Kombinationen signifikant häufiger eingesetzt als in der Kontrollgruppe. Dies kann nur teilweise mit längeren Beobachtungszeiten erklärt werden. Ein möglicher Einfluss auf das Überleben wurde analysiert, und durch entsprechende Adjustierung des Cox-Regressionsmodells berücksichtigt. Die Kovariable „Art der Chemotherapie“ hatte jedoch keinen signifikanten, unabhängigen Einfluss auf die Überlebenszeit-Funktion.

Tabelle 4: Ansprechen auf die Behandlung; Häufigkeit und Art des ersten Ansprechens (OE: orale Enzymtherapie, CR: komplette Remission, PR: Partielle Remission, OR: Objektive Remission oder Stabile Erkrankung, NR: kein Ansprechen)

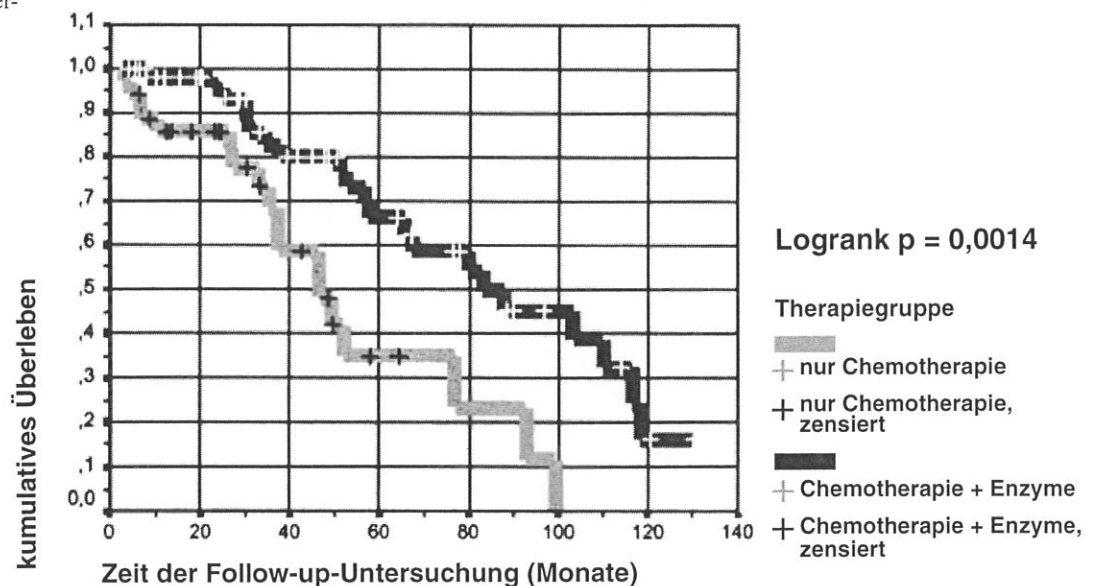
Ansprechen	Stadium I		Stadium II		Stadium III	
	OE-Gruppe n (%)	Kontrollgruppe n (%)	OE-Gruppe n (%)	Kontrollgruppe n (%)	OE-Gruppe n (%)	Kontrollgruppe n (%)
CR	0	2 (18,2)	3 (3,2)	0	0	0
PR	7 (36,8)	1 (9,1)	27 (29,0)	6 (11,5)	16 (29,6)	4 (11,1)
OR	12 (63,2)	2 (18,2)	61 (65,5)	36 (69,2)	36 (66,7)	18 (50,0)
NR	0	6 (54,5)	2 (2,2)	10 (19,2)	2 (3,7)	14 (38,9)
Responder (CR + PR + OR)	19 (100)	5 (45,5)	91 (97,8)	42 (80,8)	52 (96,3)	22 (61,1)
p^a	$p = 0,001$	$p = 0,001$	$p < 0,001$			

^a = Fisher's Exact Test

Tabelle 5: Krankheitsspezifisches Überleben nach Stadien in der Intent-to-Treat-Analyse und der Per-Protocol-Analyse (OE: orale Enzymtherapie, MM: multiples Myelom)

	OE-Gruppe				Kontrollgruppe				
	n	Todesfälle aufgrund von MM	medianes Überleben (Monate)	95% Konfidenz- intervall	n	Todesfälle aufgrund von MM	medianes Überleben (Monate)	95% Konfidenz- intervall	P (Logrank)
OE > 0 Monate (Intent-to-Treat)									
Stadien I–III	181	31	-	-	84	24	-	-	0,0051
Stadium I	20	0	-	-	10	1	-	-	0,1573
Stadium II	98	6	-	-	47	9	-	-	0,1217
Stadium III	63	25	83	55–112	27	14	49	44–55	0,0342
OE > 6 Monate (Per-Protocol)									
Stadien I–III	166	27	-	-	99	28	-	-	0,0003
Stadium I	19	0	-	-	11	1	-	-	0,1888
Stadium II	93	6	-	-	52	9	-	-	0,1493
Stadium III	54	21	83	50–117	36	18	47	32–62	0,0014

Abbildung 1: Kaplan-Meier-Schätzung des Überlebens und Logrank-Test (Logrank $p = 0,0014$) von Patienten im Stadium III



Therapie-Response

In der OE-Gruppe war der Anteil der Patienten, die eine komplette Remission, eine partielle Remission oder eine stabile Erkrankung nach First-Line-Chemotherapie erreichten („Responder“), signifikant größer als in der Kontrollgruppe

(97,6% zu 69,7%), und zwar in allen Stadien ($p = 0,001$) (Tabelle 4). Die Dauer der ersten Remission oder Dauer der stabilen Erkrankung war in der OE-Gruppe in den Stadien II und III signifikant länger als in der Kontrollgruppe, wobei der Durchschnitt im Stadium III bei 37,3 zu 11,6 Monaten lag.

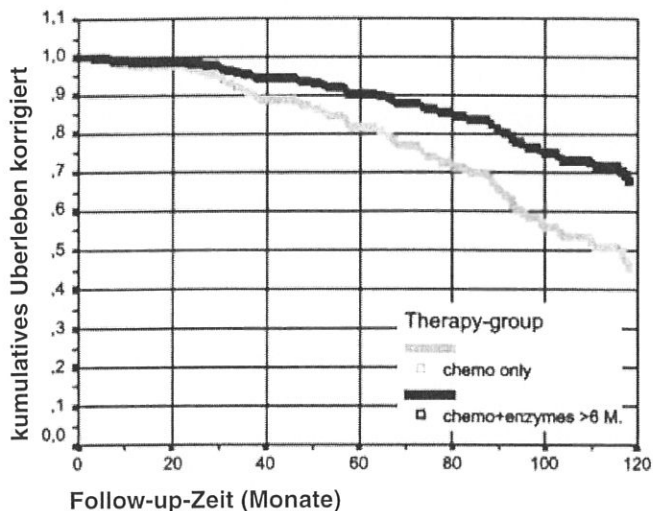


Abbildung 2: Cox-Regression des Überlebens von Patienten (alle Stadien) korrigiert nach demographischen und Risiko-Störfaktoren. p (Therapie) = 0,0288, OR = 0,496 (95 % Konfidenzintervall = 0,27–0,93)

Überleben

Während einer medianen Beobachtungszeit von 41 Monaten wurde in der Kontrollgruppe eine Gesamtzahl von 28 (28,3%) krankheitsbedingten Todesfällen erfasst: 18 in Stadium III, 9 in Stadium II und 1 im Stadium I. In der OE-Gruppe (OE-Gabe über mehr als 6 Monate) lag während einer medianen Beobachtungszeit von 40 Monaten die Gesamtzahl der Vorfälle bei 27 (16,3%) mit 21 in Stadium III und 6 im Stadium II. Die univariate Kaplan-Meier-Analyse mit Logrank-Test zeigte, dass die mediane krankheitsbezogene Überlebenszeit in der Kontrollgruppe im Stadium III 47 Monate betrug (95% Konfidenzintervall: 32–36 Monate) und in der OE-Gruppe 83 Monate (95% Konfidenzintervall: 50–117 Monate) ($p = 0,0014$), was einem Zugewinn von 3 Jahren Überlebenszeit entspricht (Tabelle 5; Abbildung 1). Wegen der geringen Anzahl von Ereignissen in den Stadien I und II konnte in diesen Untergruppen die mediane Überlebenszeit nicht bestimmt werden. Dennoch konnte in einer globalen Analyse für Myelome der Stadien I bis III eine hoch signifikante Verlängerung der Überlebenszeit festgestellt werden (nach Stadien korrigiertes Ergebnis: $p = 0,0003$; Abbildung 2). Die mittlere Überlebenszeit erwies sich als abhängig vom initialen Ansprechen auf die Therapie. Nach der Überlebens-Analyse mit zensierten Daten (Kaplan-Meier-Schätzung mit Logrank-Test) betrug die mittlere Überlebenszeit bei den primären Respondern 130 Monate und bei den primären Non-Respondern 51 (Median = 47) Monate mit einer Myelom-Mortalität von 19,2% zu 29,4% ($p = 0,0000$).

Eine Intent-to-Treat-Analyse, bei der alle Patienten, die jemals Enzyme bekommen hatten, der OE-Gruppe zugerechnet wurden ($n = 181$) – auch wenn die Enzymtherapie früh abgesetzt wurde oder nur eine kurze Zeit (< 6 Monate) andauerte – bestätigte die obigen Ergebnisse (Tabelle 5). Hinsichtlich der Auswirkungen der initialen Chemotherapie-Behandlung auf das Überleben in Stadium III wurden für die

Tabelle 6: Multivarianz-Analyse des krankheitsspezifischen Überlebens. $n = 257$, 67 Todesfälle aufgrund des Myeloms, alle 3 Stadien zusammengenommen, Cox-Regression

Kovariable	p -Wert (Wald)	Hazard-Ratio (95% Konfidenzintervall)
Stadien I–III	0,0000	6,2371 (3,4932–11,136)
Therapie mit/ohne OE	0,0011	0,3965 (0,2276–0,6907)
Alter	0,8502 (nicht signifikant)	0,9975 (0,9716–1,0240)
Geschlecht	0,8341 (nicht signifikant)	1,0592 (0,6185–1,8138)
Art des Myeloms (sekretorisch/nichtsekretorisch)	0,5331 (nicht signifikant)	0,8014 (0,3994–1,6079)

Kontrollgruppe ähnliche mediane Überlebenszeiten (VMCP: 47 Monate, Kombinationen: 49 Monate; MOCCA: 52 Monate) festgestellt, die durch die zusätzliche Gabe von OE verbessert werden konnten (VMCP + OE: 57 Monate; MOCCA + OE: 88 Monate, $P = 0,0093$; Kombinationen + OE: 103 Monate, $P = 0,0027$). Zuletzt zeigte die Analyse nach Subklassifizierungen, dass eine beachtliche Verlängerung der medianen Überlebenszeit um 29 Monate auch im Myelom-Stadium IIIB erreicht werden konnte.

Hinsichtlich der Gesamt-Mortalität (einschließlich der nicht mit dem Myelom in Verbindung stehenden Todesfälle) betrug der mediane Überlebenszeit-Vorteil in der OE-Gruppe 33 Monate im Stadium III ($p = 0,0059$) und war auch in der nach Stadien korrigierten Grundgesamtheit signifikant ($p = 0,0039$).

Multivariate Analysen: Um mögliche Störfaktoren bei den beobachteten Auswirkungen der Behandlung zu überprüfen, wurde das Cox-Regressionsmodell eingesetzt, um das Überleben neben der Hilfsvariable für die zwei Behandlungsgruppen noch nach einer Anzahl anderer möglicher Störfaktoren wie Stadium, Alter, Geschlecht, Art des Myeloms, Myelom-Subklassifizierung und Chemotherapie-Schema zu korrigieren. Ein relevanter prognostischer Faktor für das Überleben war das Krankheitsstadium. Von den 265 Studien-Patienten konnten 257 multivariat bewertet werden, und der geschätzte Wert des stadienbezogenen, unabhängigen Todesrisikos stieg mit dem Krankheitsstadium um mehr als das sechsfache. Die additive Therapie mit OE in allen Stadien zusammengenommen führte zu einer geschätzten Verringerung des Todesrisikos um ca. 60% ($p = 0,0011$; Tabelle 6, Abbildung 2). Alter, Geschlecht, Art des Myeloms, Myelom-Subklassifizierung, Art der Chemotherapie, Karnofsky Index und Prozentsatz an Plasmazellen des Knochenmarks hatten keinen signifikanten unabhängigen Einfluss auf das Überleben in dieser Analyse.

Anwendungssicherheit

Insgesamt wurden relativ wenig Nebenwirkungen berichtet. Nach der Dokumentation des behandelnden Arztes standen sechs Nebenwirkungen mit der OE-Therapie in Verbindung, während 28 mit der Chemotherapie zusammenhingen. Alle Nebenwirkungen, die durch die OE begründet waren, waren

gastrointestinale Beschwerden (Meteorismus: $n = 2$, Diarrhöe: $n = 1$, Übelkeit: $n = 1$, sonstige: $n = 2$), die als leicht bis mittel eingestuft wurden. In fünf Fällen waren die Nebenwirkungen vorübergehender Natur, nur in einem Fall normalisierten sie sich nicht wieder völlig. Es gab keine schweren Nebenwirkungen, die mit OE in Verbindung gebracht wurden und es gab keine Therapie-Abbrüche wegen Unverträglichkeit. Eine OE-Therapie als zusätzliche Behandlung bei multiplem Myelom wurde deshalb bezüglich Nebenwirkungen als sicher eingestuft. Die Nebenwirkungen der Chemotherapie waren hauptsächlich Leukopenie ($n = 24$), Thrombozytopenie ($n = 2$) und Anämie ($n = 2$); ihre Schwere wurde in 13 Fällen als leicht eingestuft, in 15 Fällen als mittel.

Diskussion

In der Behandlung des multiplen Myeloms sind in den letzten Jahren bedeutende Veränderungen eingetreten. Als klassische Therapie wird noch immer die Standardtherapie mit Melphalan und Prednison empfohlen, jedoch enttäuscht die damit einhergehende beobachtete Überlebenszeit von nur 3–4 Jahren. Zur Zeit gibt es viele Hinweise, dass eine kombinierte Chemotherapie eine höhere Remissionsrate aufweist und zu einer Verlängerung des medianen Überlebens auf mehr als 5 Jahre führen kann. Dies besonders dann, wenn sie zusammen mit einer Strahlentherapie, Immuntherapie, osteoprotektiver Therapie und anderen Supportiv-Behandlungen eingesetzt wird. Eine Intensiv-Behandlung des multiplen Myeloms mit hochdosiertem Melphalan ($100\text{--}200\text{ mg/m}^2$) in Kombination mit autologer oder allogenetischer Knochenmarkstransplantation oder Transplantation peripherer Blutstammzellen erhöht die Rate an kompletten Remissionen auf 30%, kann die Dauer der Remission und sogar des medianen Überlebens auf mehr als 5 Jahre verlängern und wird daher für jüngere Patienten ($< 60\text{--}65$ Jahre) empfohlen [24, 25]. Aufgrund der hohen Morbidität und Mortalität im ersten Jahr (bis zu 50%) kann die Allotransplantation beim multiplen Myelom außerhalb klinischer Studien nicht empfohlen werden. Das schwerwiegendste Problem ist, dass nach Jahren intensiver Behandlung und Transplantation viele Patienten ein Rezidiv erleiden und eine Salvage-Chemotherapie benötigen. Für eine wirksame Verlängerung des Überlebens wird eine Kombination aus Chemotherapie mit immunmodulatorischen oder komplexen supportiv-therapeutischen Modalitäten notwendig sein. Die Möglichkeit einer günstigen Beeinflussung durch die Enzymtherapie wurde aus der Beobachtung einer Verminderung von sTNF-, IL-6-, β_2 -Mikroglobulin- und Paraprotein-Spiegeln geschlossen [12]. Nach unserer klinischen Erfahrung mit der Behandlung des multiplen Myeloms und der vorliegenden statistischen Analyse verbessert die zusätzliche Gabe von Enzymen den klinischen Status und das Gesamt-Überleben beträchtlich. Der Wirkungsmechanismus von Enzymen ist noch nicht völlig geklärt. Orale Enzym-Kombinationspräparate mit Papain, Trypsin und Chymotrypsin beeinflussen das Zytokin-Netzwerk und die Adhäsionsmoleküle (Integrine, Immunoglobulin-Superfamilie und viele andere Membran-Rezeptoren, wie verschiedene Studien belegen). Sie tragen zur Antitumor- und Antimetasta-

stasewirkung bei (Verringerung des CD44 Hyaluronat-Homing-Rezeptors) [9, 10, 12–14, 26]. Ähnliche Resultate wurden bei unseren Patienten gefunden: Nach der oralen Einnahme der Enzyme durch die Patienten beobachteten wir nach 24 Stunden eine signifikante Verringerung der Dichte von CD29, CD38, CD44, CD54 und CD58 auf peripheren Lymphozyten. Die Bindung von Proteinasen an den α_2 -Makroglobulin-Komplex kann die Zytokinspiegel (TNF- α , TGF- β , IL-1, IL-6, IFN) im Plasma von Tumorpatienten verringern. Wir glauben, dass die OE-Therapie in Kombination mit einer zytostatischen Chemotherapie neue Möglichkeiten von Behandlungsstrategien für das multiple Myelom eröffnet. Diese vielversprechenden Ergebnisse werden in einer prospektiven randomisierten Phase-III-Studie weiter verfolgt werden, die zur Zeit in den USA und in Kanada unter einem Orphan-Drug durchgeführt wird.

Literatur

1. Alexanian R, Dimopoulos M (1994) The treatment of multiple myeloma. *New Engl J Med* 330: 484
2. Gregory WM, Richards MA, Malpas JS (1992) Combination chemotherapy versus melphalan and prednisolone in the treatment of multiple myeloma: an overview of published trials. (Comments) *J Clin Oncol* 10: 334
3. Oken MM (1994) Standard treatment of multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* 69: 781
4. Blade J, Esteve J (2000) Viewpoint on the impact of interferon in the treatment of multiple myeloma: benefit for a small proportion of patients? *Med Oncol* 17: 77
5. Berenson JR, Lichtenstein A, Porter L, Dimopoulos MA, Bordoni R, George S, Lipton A, Keller A, Ballester O, Kovacs MJ, Blacklock HA, Bell R, Simeone J, Reitsma DJ, Heffernan M, Seaman J, Knight RD (1996) Efficacy of pamidronate in reducing skeletal events in patients with advanced multiple myeloma. Myeloma Aredia Study Group. (Comments) *New Engl J Med* 334: 488
6. Salmon SE, Crowley JJ, Grogan TM, Finley P, Pugh RP, Barlogie B (1994) Combination chemotherapy, glucocorticoids, and interferon alpha in the treatment of multiple myeloma: a Southwest Oncology Group study. (Comments) *J Clin Oncol* 12: 2405
7. Hansen OP, Clausen NA, Drivsholm A, Laursen B (1985) Phase III study of intermittent 5-drug regimen (VBCMP) versus intermittent 3-drug regimen (VMP) versus intermittent melphalan and prednisone (MP) in myelomatosis. *Scand J Haematol* 35: 518
8. Sakalová A (1995) Multiple myeloma and paraproteinemias. SAP-Slovak Academic Press, Bratislava
9. Gettins P, Patston PA, Olson ST (1996) Serpins: structure, function and biology. Springer, Berlin Heidelberg New York
10. Gebauer F, Micheel B, Stauder G, Ransberger K, Kunze R (1997) Proteolytic enzymes modulate the adhesion molecule CD44 on malignant cells in vitro. *Int J Immunother* 13: 111
11. Staender M, Naumann U, Wick W, Weller M (1999) Transforming growth factor-beta and p-21: multiple molecular targets of decorin-mediated suppression of neoplastic growth. *Cell Tissue Res* 296: 221
12. Desser L, Sakalová A, Zavadova E, Holomanova D, Mohr T (1997) Concentrations of soluble tumor necrosis factor receptors, beta2-microglobulin, IL-6 and TNF in serum of multiple myeloma patients after chemotherapy and after combined enzyme-chemotherapy. *Int. J. Immunother* 13: 121
13. Lackovic V, Rovensky J, Horvahova M, Malis F (1997) Interferon production in whole blood cultures from volunteers and rheumatoid arthritis patients after medication with oral enzymes. *Int J Immunother* 13: 159

14. Zawadzki V, Perschl A, Rosel M, Hekele A, Zoller M (1998) Blockade of metastasis formation by CD44-receptor globulin. *Int J Cancer* 75: 919
15. Latha B, Ramakrishnan M, Jayaraman V, Babu M (1999) The efficacy of trypsin: chymotrypsin preparation in the reduction of oxidative damage during burn injury (published erratum appears in *Burns* 1999, 25: 192). *Burns* 24: 532
16. Zavadova E, Desser L, Mohr T (1995) Stimulation of reactive oxygen species production and cytotoxicity in human neutrophils in vitro and after oral administration of a polyenzyme preparation. *Cancer Biother* 10: 147
17. Mynott TL, Ladhams A, Scarmato P, Engwerda CR (1999) Bromelain, from pineapple stems, proteolytically blocks activation of extracellular regulated kinase-2 in T cells. *J Immunol* 163: 2568
18. Sakalová A, Herbacek I, Desser L, Holomanova D, Mohr T (1999) Progression markers in serum of patients with multiple myeloma. *Eur J Cancer* 35: 116
19. Sakalová A, Desser L, Bucova M, Stauder G, Ransberger K (1998) Recent immunological approaches and therapy of multiple myeloma. *J Health Manage Public Health* 3: 47
20. Wittenborg A, Bock PR, Hanisch J, Saller R, Schneider B (2000) Comparative epidemiological study in patients with rheumatic diseases illustrated in an example of a treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs versus an oral enzyme combination (in German). *Arzneimittelforschung* 50: 728
21. Barlogie B, Smith L, Alexanian R (1984) Effective treatment of advanced multiple myeloma refractory to alkylating agents. *New Engl J Med* 310: 1353
22. Boccadoro M, Gallone G, Frieri R, Pileri A, Bataille R, Klein B (1993) Plasma cell labeling index, beta 2-microglobulin, and C-reactive protein: what is the best combination for myeloma prognosis? (Letter; Comment) *Blood* 82: 3507
23. Durie BG (1992) Cellular and molecular genetic features of myeloma and related disorders. *Hematol Oncol Clin North Am* 6: 463
24. Attal M, Harousseau JL, Stoppa AM, Sotto JJ, Fuzibet JG, Rossi JF, Casassus P, Maisonneuve H, Facon T, Ifrah N, Payen C, Bataille R (1996) A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. Intergroupe Francais du Myelome. *New Engl J Med* 335: 91
25. Fermand JP, Ravaud P, Chevret S, Divine M, Leblond V, Belanger C, Macro M, Pertuiset E, Dreyfus F, Mariette X, Boccaccio C, Brouet JC (1998) High-dose therapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation in multiple myeloma: up-front or rescue treatment? Results of a multicenter sequential randomized clinical trial. *Blood* 92(9): 3131
26. Pemberton PA (1997) The role of serpin superfamily members in cancer. *Cancer J* 10: 24