

Erweiterung eines mathematischen Modells der Chronischen
Myeloischen Leukämie mit einer immunologischen
Komponente

Dissertationsschrift

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

vorgelegt

der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus
der Technischen Universität Dresden

von

Tom Hähnel

geboren in Chemnitz am 10.02.1995

angefertigt am:

Institut für Medizinische Informatik und Biometrie
in Dresden 2020

Betreuung: Prof. Dr. rer. med. Ingo Röder

Mitbetreuung: Dr. rer. med. Ingmar Glauche

1. Gutachter: Prof. Dr. rer. med. Ingo Röder

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Meinolf Suttorp

Tag der Verteidigung: 09.03.2021

Vorsitzender der Promotionskommission: Prof. Dr. rer. nat. Henning Morawietz

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	IX
Abkürzungsverzeichnis	XI
1. Einleitung und Zielstellung	1
1.1. Einleitung	1
1.2. Fragestellung und Zielsetzung dieser Arbeit	2
2. Medizinischer Hintergrund	5
2.1. Hämatopoese	5
2.2. Chronische Myeloische Leukämie	7
2.2.1. Epidemiologie	7
2.2.2. Ätiologie und Pathogenese	7
2.2.3. Klinik und Verlauf	8
2.2.4. Diagnostik	9
2.2.5. Therapie	10
2.2.6. Immunologische Einflussfaktoren auf das Rezidivverhalten	14
3. Systembiologischer Hintergrund	17
3.1. Statistische Modelle der TKI-Therapie	18
3.2. Mechanistische Modelle der TKI-Therapie	18
3.3. Modellierung von Therapie und Absetzverhalten	19
3.4. Modelle der CML mit einer immunologischen Komponente	20
4. Material und Methoden	23
4.1. Klinische Daten	23
4.1.1. Herkunft der klinischen Daten	23
4.1.2. Selektion geeigneter Patienten	23

4.2.	Statistische Beschreibung	25
4.2.1.	Bi-exponentielles Modell	25
4.2.2.	Modellanpassung	25
4.2.3.	Statistische Tests	27
4.3.	Mechanistisches Modell	28
4.3.1.	CML-Modell <i>ohne</i> immunologische Komponente	28
4.3.2.	CML-Modell <i>mit</i> immunologischer Komponente (Immunmodell)	29
4.3.3.	Allgemeines Vorgehen zur Modellanpassung	32
4.3.4.	Berechnung der Anfangsbedingungen	34
4.3.5.	Anpassungsstrategien	35
4.3.6.	Sensitivitätsanalysen	38
4.3.7.	Phasenportraits	39
4.3.8.	Regressionsmodelle	39
4.3.9.	Statistische Tests	39
5.	Ergebnisse	41
5.1.	Patientencharakteristika	41
5.2.	Struktureller Vergleich der Patienten mit und ohne Rezidiv	44
5.3.	CML-Modell <i>ohne</i> immunologische Komponente	47
5.3.1.	Aufbau des Modells	47
5.3.2.	Sensitivitätsanalyse	47
5.3.3.	Anpassung an die klinischen Daten	52
5.4.	CML-Modell <i>mit</i> immunologischer Komponente (Immunmodell)	55
5.4.1.	Aufbau des Modells	55
5.4.2.	Anpassung an die klinischen Daten	55
5.4.3.	Klassifizierung der Patienten anhand ihrer Immunantwort	67
5.4.4.	Sensitivitätsanalyse	72
5.4.5.	Einfluss der Therapie auf das Rezidivverhalten	79
5.4.6.	Informationsgewinn durch Simulation einer Dosisreduktion	87
6.	Diskussion	91
6.1.	Diskussion der initial formulierten Fragestellungen	91
6.2.	Kritische Betrachtung der Herangehensweise	95
6.2.1.	Patientenselektion	95
6.2.2.	Modellierung der CML	95

6.3. Ausblick	99
6.3.1. Erweiterungsmöglichkeiten des verwendeten mathematischen Modells	99
6.3.2. Unterstützung des Designs klinischer Studien	99
7. Zusammenfassung	101
8. Summary	105
A. Anhang	109
A.1. Berechnung des Immunfensters	109
A.2. Berechnung der Attraktoren	110
A.2.1. Heilungs-Attraktor	110
A.2.2. Remissions- und Rezidiv-Attraktor	110
A.3. Abbildungen und Tabellen	112
Literaturverzeichnis	125
Danksagung	135
Erklärung zur Eröffnung des Promotionsverfahrens	137

Abbildungsverzeichnis

2.1. Hämatopoese	6
2.2. Philadelphia-Chromosom	8
4.1. Vorgehen zur Patientenselektion	24
4.2. Bi-exponentielles Modell	26
4.3. Schematische Darstellung des CML-Modells <i>ohne</i> immunologische Komponente	29
4.4. Schematische Darstellung des CML-Modells <i>mit</i> immunologischer Komponente	30
4.5. Definition des Immunfensters	31
4.6. Funktion zur Optimierung der Behandlungsintensität	32
5.1. Patientencharakteristika	43
5.2. Anwendung des bi-exponentiellen Modells auf einzelne Patienten	45
5.3. Vergleich des BCR-ABL/ABL Abfalls zwischen Patienten mit und ohne Rezidiv	46
5.4. Sensitivitätsanalyse: Proliferationsrate p_Y (CML-Modell <i>ohne</i> immunologische Komponente)	48
5.5. Sensitivitätsanalyse: TKI-Eliminationsrate e_{TKI_0} (CML-Modell <i>ohne</i> immunologische Komponente)	49
5.6. Sensitivitätsanalyse: Kompartimentgröße K_Y (CML-Modell <i>ohne</i> immunologische Komponente)	50
5.7. Sensitivitätsanalyse: Transitionsrate p_{XY} (CML-Modell <i>ohne</i> immunologische Komponente)	50
5.8. Sensitivitätsanalyse: Transitionsrate p_{YX} (CML-Modell <i>ohne</i> immunologische Komponente)	51
5.9. Einfluss der Behandlungsdauer (CML-Modell <i>ohne</i> immunologische Komponente)	52
5.10. Anwendung des CML-Modells <i>ohne</i> immunologische Komponente auf einzelne Patienten	53

5.11. Kaplan-Meier-Schätzer für das Rezidivverhalten des CML-Modells <i>ohne</i> immunologische Komponente	54
5.12. Kaplan-Meier-Schätzer für das Rezidivverhalten des Immunmodells mit <i>generischer</i> immunologischer Komponente	56
5.13. Parametervergleich: Immunmodell mit <i>individueller</i> immunologischer Komponente (Anpassung an Daten <i>vor</i> dem Absetzen)	58
5.14. Vergleich der Immunparameter: Immunmodell mit <i>individueller</i> immunologischer Komponente (Anpassung an Daten <i>vor</i> dem Absetzen): . .	59
5.15. Kaplan-Meier-Schätzer für das Rezidivverhalten des Immunmodell mit <i>individueller</i> immunologischer Komponente (Anpassung an Daten <i>vor</i> dem Absetzen)	60
5.16. Kaplan-Meier-Schätzer für das Rezidivverhalten des Immunmodell mit <i>individueller</i> immunologischer Komponente (Anpassung an Daten <i>vor und nach</i> dem Absetzen)	62
5.17. Anwendung des Immunmodells mit <i>individueller</i> immunologischer Komponente (Anpassung an Daten <i>vor und nach</i> dem Absetzen) auf einzelne Patienten	63
5.18. Parametervergleich: Immunmodell mit <i>individueller</i> immunologischer Komponente (Anpassung an Daten <i>vor und nach</i> dem Absetzen)	64
5.19. Vergleich der Immunparameter: Immunmodell mit <i>individueller</i> immunologischer Komponente (Anpassung an Daten <i>vor und nach</i> dem Absetzen)	65
5.20. Vergleich der Kaplan-Meier-Schätzer der verschiedenen Anpassungsstrategien	66
5.21. Klassifikation der Patienten anhand ihrer Attraktorlandschaft (1)	70
5.22. Klassifikation der Patienten anhand ihrer Attraktorlandschaft (2)	71
5.23. Medianer Patient	73
5.24. Sensitivitätsanalyse nicht-immunologische Parameter (Immunmodell) . .	75
5.25. Sensitivitätsanalyse immunologische Parameter (Immunmodell)	78
5.26. Eradikation aller leukämischen Zellen	80
5.27. Verkürzung der Therapiedauer	82
5.28. Optimierung der Therapiedauer	85
5.29. Optimierung der Therapieintensität	86
5.30. Informationsgewinn durch Simulation einer Dosisreduktion	89

A.1. Klinische Daten mit korrespondierenden bi-exponentiellen Anpassungen (1)	113
A.2. Klinische Daten mit korrespondierenden bi-exponentiellen Anpassungen (2)	114
A.3. Anpassungen des CML-Modells <i>ohne</i> immunologische Komponente (1)	115
A.4. Anpassungen des CML-Modells <i>ohne</i> immunologische Komponente (2)	116
A.5. Anpassungen des Immunmodell mit <i>individueller</i> immunologischer Kom- ponente (Anpassung an Daten <i>vor und nach</i> dem Absetzen)(1)	118
A.6. Anpassungen des Immunmodell mit <i>individueller</i> immunologischer Kom- ponente (Anpassung an Daten <i>vor und nach</i> dem Absetzen)(2)	119
A.7. Phasenportaits (Klasse A)	121
A.8. Phasenportaits (Klasse B)	122
A.9. Phasenportaits (Klasse C)	123

Tabellenverzeichnis

2.1. Remissionskriterien	11
4.1. Parameterbereiche der Modellanpassung	34
4.2. Anpassungsstrategien	38
5.1. Patientencharakteristika	42
5.2. Vorhersage des CML-Modells <i>ohne</i> immunologische Komponente . . .	54
5.3. Vorhersage des Immunmodells mit <i>generischer</i> immunologischer Komponente	57
5.4. Vorhersage des Immunmodell mit <i>individueller</i> immunologischer Komponente (Anpassung an Daten <i>vor</i> dem Absetzen)	59
5.5. Vorhersage des Immunmodells mit <i>individueller</i> immunologischer Komponente (Anpassung an Daten <i>vor und nach</i> dem Absetzen)	61
A.1. Anpassungen des CML-Modells <i>ohne</i> immunologische Komponente . .	117
A.2. Anpassungen des Immunmodell mit <i>individueller</i> immunologischer Komponente (Anpassung an Daten <i>vor und nach</i> dem Absetzen)	120

Abkürzungsverzeichnis

ABL	Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1: Gen auf Chromosom 9, wird bei der CML durch eine Translokation auf Chromosom 22 verschoben
ABC	Approximate Bayesian Computation: numerische Berechnungsmethode, kann zur Schätzung von Modellparametern verwendet werden
AP	Akzelerationsphase: fortgeschrittene Krankheitsphase der CML, Übergangsphase zwischen chronischer Phase (CP) und Blastenphase (BP)
A-STIM	According to Stop Imatinib: multizentrische Studie, untersucht die Häufigkeit des Auftretens eines Rezidivs bei CML-Patienten nach Absetzen der Imatinib-Therapie (NCT00478985)
BCR	breakpoint cluster region: Gen auf Chromosom 22, bei der CML wird in dieses Gen das ABL-Gen durch eine Translokation eingefügt
BP	Blastenphase: auch Blastenkrise genannt, schwerste Form der CML, ähnelt einer akuten Leukämie, verläuft unbehandelt im Allgemeinen letal
CCyR	complete cytogenetic response: vollständiges zytogenetisches Therapieansprechen, durch das Fehlen von Philadelphia-Chromosomen in der zytogenetischen Diagnostik definiert
CHR	complete hematologic response: vollständiges hämatologisches Therapieansprechen, definiert anhand hämatologischer und klinischer Kriterien

CLP	common lymphoid progenitor: Vorläuferzelle der lymphoiden Zelllinie der Hämatopoese
CML	Chronische Myeloische Leukämie: myeloproliferative Erkrankung mit gesteigerter Bildung von Granulozyten und myeloischen Vorläuferzellen
CMP	common myeloid progenitor: Vorläuferzelle der myeloiden Zelllinie der Hämatopoese
CP	chronische Phase: häufigste initiale Phase der CML, kann im Verlauf in die Akzelerationsphase und Blastenphase übergehen
DESTINY	De-Escalation and Stopping Treatment of Imatinib, Nilotinib or sprYcel in Chronic Myeloid Leukaemia: klinische Studie, untersucht die Häufigkeit des Auftretens eines Rezidivs bei CML-Patienten, die nach einer 12-monatigen Dosisreduktion ihre TKI-Therapie beendet haben (NCT01804985)
DADI	Dasatinib Discontinuation: multizentrische Studie, untersucht die Häufigkeit des Auftretens eines Rezidivs bei CML-Patienten nach Absetzen der Dasatinib-Therapie
D-STOP	Dasatinib Stop Trial: multizentrische Studie, untersucht die Häufigkeit des Auftretens eines Rezidivs bei CML-Patienten nach Absetzen der Dasatinib-Therapie (NCT01627132)
EURO-SKI	European Stop Tyrosine Kinase Inhibitor Study: multizentrische Studie, untersucht die Häufigkeit des Auftretens eines Rezidivs bei CML-Patienten nach Absetzen der TKI-Therapie (NCT01596114)
HSC	hematopoietic stem cell: hämatopoetische Stammzelle; Stammzelle, von der die Blutbildung ausgeht
IS	internationaler Standard: internationale Skala zur Angabe der Zahl der BCR-ABL Transkripte, ermöglicht eine Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen Laboren
mCyR	minor cytogenetic response: schwaches zytogenetisches Therapieansprechen, anhand des Auftretens von

Philadelphia-Chromosomen in der zytogenetischen Diagnostik definiert

- minCyR** **minimal cytogenetic response:** minimales zytogenetisches Therapieansprechen, anhand des Auftretens von Philadelphia-Chromosomen in der zytogenetischen Diagnostik definiert
- MMR** **major molecular remission:** Abstufung des molekularen Therapieansprechens, als Reduktion des BCR-ABL/ABL Verhältnisses um 3 \log_{10} -Stufen definiert
- MPP** **multipotent progenitor:** Vorläuferzelle der Hämatopoese, den HSC nachgeschaltet und bei der Bildung aller Blutzelllinien beteiligt
- NCT** **National Clinical Trial:** Die NCT Nummer dient der eindeutigen Zuordnung von klinischen Studien an Menschen innerhalb der internationalen Datenbank ClinicalTrials.gov.
- NK** **natürliche Killerzelle:** bestimmte Klasse von Lymphozyten, der nach aktuellen Studien wahrscheinlich auch eine Rolle bei der Aufrechterhaltung einer therapiefreien Remission bei der CML zukommt
- ODE** **ordinary differential equation:** gewöhnliche Differentialgleichung; Differentialgleichung, bei der nur nach einer Variable abgeleitet wird
- PCyR** **partial cytogenetic response:** partielles zytogenetisches Therapieansprechen, anhand des Auftretens von Philadelphia-Chromosomen in der zytogenetischen Diagnostik definiert
- pDC** **plasmazytoide dendritische Zellen:** bestimmte Klasse von Lymphozyten, der nach aktuellen Studien wahrscheinlich auch eine Rolle bei der Aufrechterhaltung einer therapiefreien Remission bei der CML zukommt

Ph	Philadelphia-Chromosom: verkürztes Chromosom 22, entsteht durch die balancierte, reziproke Translokation $t(9;22)(q34;q11)$ bei der CML
QL	quantification limit: Nachweisgrenze eines Messverfahrens
qRT-PCR	quantitative real time polymerase chain reaction: Verfahren zur Amplifizierung einer spezifischen DNA-Sequenz, erlaubt die Quantifizierung der vervielfältigten Gensequenz
STIM	Stop Imatinib: multizentrische Studie, untersucht die Häufigkeit des Auftretens eines Rezidivs bei CML-Patienten nach Absetzen der Imatinib-Therapie (NCT00478985)
STIM2	Stop Imatinib 2: multizentrische Studie, untersucht die Häufigkeit des Auftretens eines Rezidivs bei CML-Patienten nach Absetzen der Imatinib-Therapie (NCT01343173)
TIGER	TKI and Interferon Alpha Evaluation Initiated by the German Chronic Myeloid Leukemia Study Group: Aktuell laufende, klinische Studie, die die Häufigkeit des Auftretens einer MMR bei CML-Patienten, die mit einer Kombination aus Nilotinib und Interferon- α oder einer Nilotinib-Monotherapie behandelt wurden, untersucht. Weiterhin wird die Häufigkeit einer Langzeitremission nach Absetzen der Nilotinib-Therapie untersucht. (NCT01657604)
TKI	Tyrosinkinase-Inhibitor: Wirkstoffgruppe, Standardtherapie der CML, hemmt spezifisch die Tyrosinkinase BCR-ABL

1. Einleitung und Zielstellung

1.1. Einleitung

Die Chronische Myeloische Leukämie (CML) ist eine maligne, hämatologische Erkrankung, welche auf der unregulierten Proliferation von leukämischen myeloischen Zellen im Knochenmark beruht. Ursache der CML stellt in den meisten Fällen die balancierte Translokation $t(9;22)(q34;q11)$ dar, durch welche es zur Expression der konstitutiv aktiven Tyrosinkinase BCR-ABL und somit zur malignen Transformation der hämatopoetischen Stammzelle kommt. Die Folge ist eine Verdrängung der normalen Hämatopoese mit einem unbehandelt letalen Verlauf (Chereda & Melo, 2015; Jabbour & Kantarjian, 2016).

Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKIs) wie Imatinib hemmen spezifisch die Tyrosinkinase BCR-ABL und stellen die Therapie der ersten Wahl bei der CML dar (Hochhaus et al., 2017). Das Absetzen des TKI wird hierbei als experimentelle Option bei Patienten mit langer Vortherapie und gutem Therapieansprechen verstärkt untersucht. Mehrere entsprechende Studien zeigten, dass etwa die Hälfte der Patienten nach dem Absetzen innerhalb von 6 Monaten ein Rezidiv erleidet und eine erneute Therapie begonnen werden muss, während die andere Hälfte der Patienten langfristig in stabiler Remission verbleibt (Mahon et al., 2010; Rousselot et al., 2014; Saussele et al., 2018). Viele Patienten weisen dabei, trotz lang anhaltender Remission, wiederholt niedrige BCR-ABL Konzentrationen im Blut auf, welche auf eine persistierende, residuale leukämische Zellpopulation hindeuten (Rousselot et al., 2014). Welche Mechanismen dabei eine Kontrolle dieser residualen leukämischen Zellpopulation ermöglichen und eine erneute, unkontrollierte Proliferation mit daraus resultierendem Rezidiv verhindern, ist aktuell nicht geklärt. Aktuelle experimentelle Studien ergaben allerdings Hinweise auf eine immunologische Komponente, welche zum Erhalt der Remission nach dem Absetzen der TKI-Therapie beitragen könnte (Hughes & Yong, 2017; Ilander et al., 2017; Rea et al., 2017; Schütz et al., 2017).

Mathematische Modelle haben das konzeptuelle Verständnis der Mechanismen der CML-Therapie in den letzten Jahren vorangebracht und erlauben eine Beschreibung

1. Einleitung und Zielstellung

des individuellen Verhaltens unter TKI-Behandlung (Komarova & Wodarz, 2005; Michor et al., 2005; Roeder et al., 2006; Komarova & Wodarz, 2007, 2009; Stein et al., 2011; Clapp et al., 2015; Fassoni et al., 2018). Es existieren allerdings keine Modelle, welche in der Lage sind, das individuelle Rückfallverhalten nach Absetzen einer TKI-Therapie vorherzusagen. Ebenso ist unklar, ob hierzu eine immunologische Modellkomponente berücksichtigt werden muss und auf welche Art und Weise sich diese auf das individuelle Rezidivverhalten auswirken würde.

1.2. Fragestellung und Zielsetzung dieser Arbeit

Aus den dargestellten Punkten ergeben sich folgende zentrale Fragen, welche im Rahmen dieser Dissertation beantwortet werden sollen:

- **Fragestellung 1:** Ist ein um eine immunologische Komponente erweitertes mathematisches Modell in der Lage, das Verhalten von Patienten unter TKI-Therapie und nach Absetzen dieser korrekt zu beschreiben?
- **Fragestellung 2:** Welche Mechanismen liegen dem Rückfallverhalten innerhalb eines solchen Modells zugrunde? Welche Rolle spielt die immunologische Komponente in diesem Zusammenhang?
- **Fragestellung 3:** Kann das Rückfallverhalten von Patienten unter Nutzung dieses Modells bereits vor dem Absetzen des TKI vorhergesagt werden?
- **Fragestellung 4:** Kann durch eine Anpassung der Therapie (z.B. Veränderung von Dauer und Dosierung der TKI-Gabe) innerhalb des Modells das Rückfallverhalten von Patienten positiv beeinflusst werden, d.h. für manche Patienten ein Rezidiv verhindert werden?

In der folgenden Arbeit werden initial die medizinischen Hintergründe der CML dargestellt (Kapitel 2), wobei ein Fokus auf Monitoring und Therapie der Patienten sowie aktuelle Absetzstudien und immunologische Einflussfaktoren gelegt wird. Anschließend wird ein Überblick über bestehende mathematische Modelle der CML gegeben (Kapitel 3).

Grundlage dieser Arbeit stellen BCR-ABL Verlaufsmessungen von 21 CML-Patienten aus klinischen Studien und Registerdaten lokaler Behandlungszentren dar, für welche Daten über den Zeitraum unter TKI-Therapie und nach Absetzen der Therapie vorliegen. Im Methodenteil (Kapitel 4) wird auf die Kriterien zur Auswahl dieser Patienten eingegangen (Abschnitt 4.1). Im Anschluss erfolgt eine Einführung der in dieser Arbeit

1.2. Fragestellung und Zielsetzung dieser Arbeit

verwendeten mathematischen Modelle der CML (Abschnitt 4.2 und 4.3).

Im Ergebnisteil (Kapitel 5) wird initial die zugrundeliegende Patientenkohorte analysiert (Abschnitt 5.1 und 5.2). Anschließend erfolgt eine detaillierte mathematische Analyse der verwendeten CML-Modelle (Abschnitt 5.3 und 5.4), wobei der Einfluss einer immunologischen Modellkomponente auf das Rezidivverhalten der Patienten untersucht wird. Weiterhin wird der Einfluss einer Veränderung von Therapiedauer und Therapieintensität auf das Rückfallverhalten analysiert. Darüber hinaus werden Vorhersagen des hier verwendeten Modells mit den Ergebnissen einer klinischen Studie (DESTINY, NCT01804985) verglichen.

Abschließend erfolgt im letzten Kapitel (Kapitel 6) eine Beantwortung und Diskussion der oben genannten Fragen (Abschnitt 6.1) sowie eine kritische Betrachtung der angewandten Methoden (Abschnitt 6.2). Die Ergebnisse werden in den aktuellen wissenschaftlichen Kontext eingebettet und es wird ein Ausblick gegeben, wie diese in zukünftige Forschungsarbeiten einfließen können (Abschnitt 6.3).

2. Medizinischer Hintergrund

2.1. Hämatopoese

Die Hämatopoese beschreibt die kontinuierliche Bildung von reifen Blutzellen über eine baumartige Hierarchie, ausgehend von multipotenten Stammzellen über oligopotente und unipotente Vorläuferzellen (siehe Abbildung 2.1). Aufgrund der kurzen Lebenszeit der meisten Blutzellen ist eine Neubildung von etwa 10^{11} bis 10^{12} Zellen pro Tag notwendig (Hoffbrand et al., 2001). Multipotente Zellen wie hämatopoetische Stammzellen (HSCs, hematopoietic stem cells) und multipotente hämatopoetische Vorläuferzellen (MPPs, multipotent progenitors) mit hoher Lebensdauer stellen dabei die Spitze dieser Hierarchien dar (Busch et al., 2015). Die HSCs befinden sich überwiegend in einem ruhenden Zustand, in welchem keine Zellteilung stattfindet (Morrison & Weissman, 1994; Foudi et al., 2009; Busch et al., 2015) und wechseln nur selten zur Replikation in einen aktiven Zustand (Wilson et al., 2008). Sie besitzen als Stammzellen die einzigartige Fähigkeit, sich durch Zellteilung ohne begleitende Differenzierung selbst zu erneuern und somit ihre Zellpopulation eigenständig aufrecht zu erhalten bzw. sogar zu vergrößern. Gleichzeitig besitzen sie die Fähigkeit, sich weiter zu differenzieren und zur Bildung von nachgeschalteten Vorläuferzellen beizutragen, während sie gleichzeitig ihre Zellpopulation aufrecht erhalten. (Potten & Loeffler, 1990; Loeffler & Roeder, 2002). Dieses Gleichgewicht aus Regeneration und Differenzierung wird dabei durch intrinsische Faktoren und die Mikroumgebung der HSCs innerhalb des Knochenmarks, die sogenannte Stammzellnische, gesteuert (Moore, 2006; Jones & Wagers, 2008).

Nachgeschaltete oligopotente und unipotente Vorläuferzellen besitzen eine kürzere Lebensdauer, kommen in höherer Anzahl vor und zeigen eine fortschreitende Differenzierung. Hierbei wird eine lymphatische und myeloische Differenzierungslinie, ausgehend von myeloischen und lymphatischen Vorläuferzellen, den common myeloid progenitors (CMPs) und common lymphoid progenitors (CLPs), unterschieden. CMPs bilden über weitere Stufen von Vorläuferzellen schließlich Megakaryozyten, Erythrozyten, Mastzellen, Monozyten und Granulozyten, während die Differenzierungslinie der CLPs die

2. Medizinischer Hintergrund

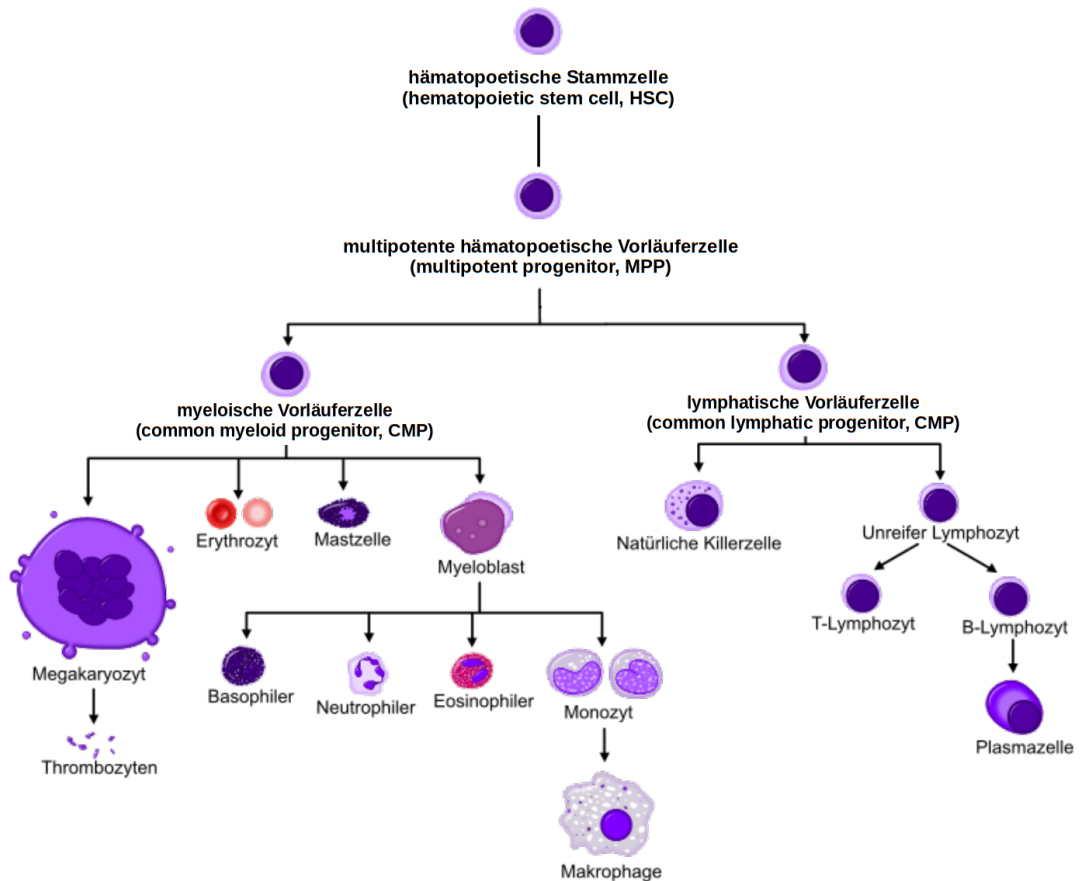


Abbildung 2.1.: **Hämatopoese:** Vereinfachte Darstellung der verschiedenen, hierarchischen Schritte der Hämatopoese. Ausgehend von multipotenten, hämatopoetischen Stammzellen kommt es über verschiedene Vorläuferzellen zur Ausbildung von fertig differenzierten Blutzellen (modifiziert nach Mikael Häggström, 2014).

natürlichen Killerzellen und die T- und B-Lymphozyten bildet (Kondo et al., 1997; Akashi et al., 2000; Kiel et al., 2005; Schmidt & Lang, 2007; Notta et al., 2016). Dieses Standardmodell der Hämatopoese ist in Abbildung 2.1 dargestellt. Neuere Ergebnisse stellen einzelne Punkte des Modells allerdings teilweise in Frage und ergeben Hinweise auf eine frühere Abspaltung der Differenzierungslinie der Megakaryozyten und eine geringere Ausprägung oligopotenter Vorläuferzellen in der adulten Hämatopoese (Adolfsson et al., 2005; Månsson et al., 2007; Notta et al., 2016).

2.2. Chronische Myeloische Leukämie

Die Chronische Myeloische Leukämie (CML) stellt eine chronische, in mehreren Phasen verlaufende, maligne Erkrankung des Knochenmarks dar und wird zur Gruppe der myeloproliferativen Erkrankungen gezählt. Folge einer Mutation ist eine gesteigerte Bildung von Granulozyten und ihren myeloischen Vorläuferzellen im Blut und Knochenmark mit einer fortschreitenden Verdrängung gesunder, blutbildender Zellen. Häufige Symptome stellen eine Abgeschlagenheit und eine Splenomegalie dar. Oft verläuft die Erkrankung zu Beginn allerdings lange Zeit asymptomatisch. Unbehandelt verläuft die Erkrankung tödlich, daher werden die Betroffenen im Allgemeinen lebenslang medikamentös therapiert (Hehlmann et al., 2007; Chereda & Melo, 2015; Baccarani et al., 2013).

2.2.1. Epidemiologie

Die Inzidenz der CML beträgt etwa ein bis zwei Fälle pro 100.000 Einwohner. Männer sind dabei leicht häufiger betroffen als Frauen (Rohrbacher & Hasford, 2009; Jabbour & Kantarjian, 2016). Die CML kann in jedem Alter auftreten, ist aber vor allem eine Erkrankung des höheren Lebensalters. Das mediane Alter bei Diagnosestellung beträgt 56 Jahre (Hoffmann et al., 2015). Seit der Einführung von TKIs im Jahr 2000 hat sich die jährliche Mortalität von 10–20% auf 1–2% vermindert, sodass die Lebenserwartung von neu diagnostizierten CML-Patienten im Durchschnitt um weniger als 3 Jahre im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung reduziert ist (Bower et al., 2016).

2.2.2. Ätiologie und Pathogenese

Die Ursache der CML stellt bei über 95% der Patienten die balancierte, reziproke Translokation $t(9;22)(q34;q11)$ dar (siehe Abbildung 2.2). Hierbei wird das Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1 (ABL)-Gen von Chromosom 9 in das breakpoint cluster region (BCR)-Gen auf Chromosom 22 eingefügt und es kommt zur Bildung eines verkürzten Chromosom 22. Dieses wird als Philadelphia-Chromosom (Ph) bezeichnet. Folge ist die Bildung des Fusionsprotein BCR-ABL, welches als konstitutiv aktive Tyrosinkinase agiert und über verschiedene Signaltransduktionswege eine unregulierte Proliferation der Philadelphia-positiven Zelle (Ph+) bewirkt, die Apoptose hemmt und somit zur Manifestation der CML führt (Jabbour & Kantarjian, 2016).

2. Medizinischer Hintergrund

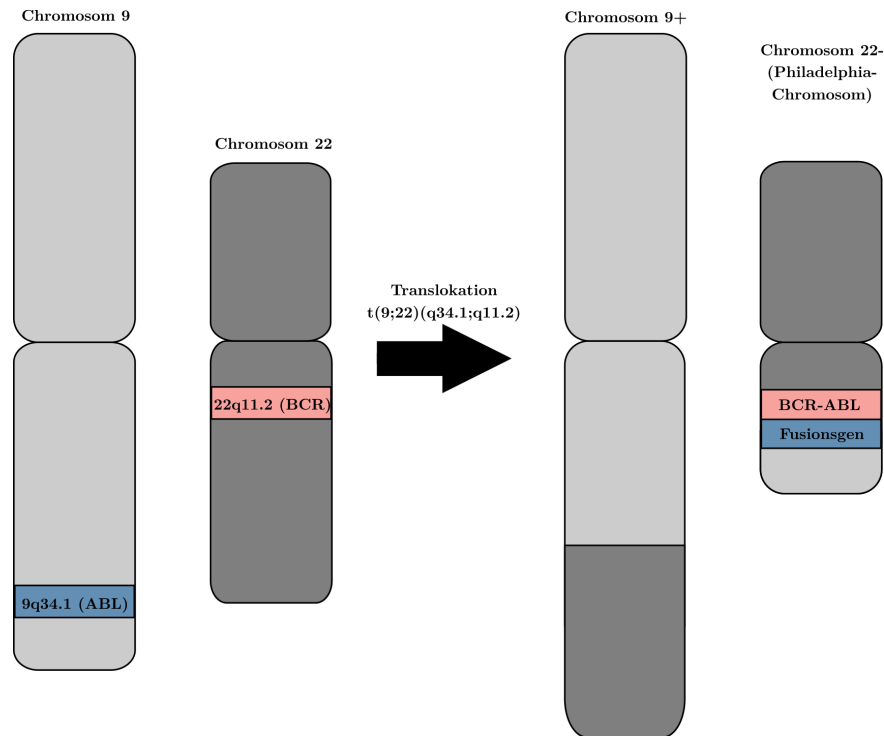


Abbildung 2.2.: **Philadelphia-Chromosom:** Durch die balancierte, reziproke Translokation $t(9;22)(q34;q11)$ kommt es zur Bildung des BCR-ABL Fusionsproteins auf dem entstandenen Philadelphia-Chromosom.

2.2.3. Klinik und Verlauf

Die Diagnosestellung der CML erfolgt zu 90–95% in der chronischen Phase (CP), welche bei etwa 50% der Patienten asymptomatisch verläuft (Jabbour & Kantarjian, 2016; Hehlmann et al., 2007). Häufig handelt es sich dabei um eine Zufallsdiagnose (Jabbour & Kantarjian, 2016). Die Symptome sind Folge der unregulierten Proliferation leukämischer Zellen, welche zu einer Leukozytose und Verdrängung der Erythropoese und Thrombopoese führen. Neben einer chronischen Müdigkeit und einer B-Symptomatik kommt es bei 40–50% der Patienten durch eine extramedulläre Hämatopoese zu einer oft deutlich ausgeprägten Splenomegalie (Faderl et al., 1999; Jabbour & Kantarjian, 2016; Hochhaus et al., 2017). Akute Blutungen, Thrombosen, Gicht und Priapismus stellen seltenere Symptome dar. Infolge einer Hyperleukozytose kann es zu einem Leukostasesyndrom mit Atemnot und neurologischen Ausfällen kommen (Jabbour & Kantarjian, 2016). Unbehandelt kommt es innerhalb von 3 bis 5 Jahren durch einem Anstieg der Blasten im Blut zum Übergang in die Akzelerationsphase (AP) und schließlich zur Blastenphase (BP), einer akuten Leukämie (Chereda & Melo, 2015).

Aufgrund der zunehmenden Leukozytose und Verdrängung der normalen Hämatopoese kommt es zu Infektionen, Thrombosen und ausgeprägten Anämien, welche zu einer hohen Mortalität führen (Jabbour & Kantarjian, 2016).

2.2.4. Diagnostik

Diagnosestellung

Die Verdachtsdiagnose der CML kann meist bereits mit einem Differentialblutbild (Granulozytose mit typischer Linksverschiebung) gestellt werden. Der Nachweis des Philadelphia-Chromosoms und des BCR-ABL Transkriptes im peripheren Blut und im Knochenmark bestätigt die Diagnose. Da bei etwa 5% der CML-Patienten keine Philadelphia-Chromosomen nachweisbar sind, muss in diesem Fall die Diagnose über den Nachweis des BCR-ABL Transkripts erfolgen (Hehlmann et al., 2007). Weiterhin können typische Knochenmarksbefunde (Hyperplasie der Myelopoese und evtl. Megakaryopoese, Verschiebung des Verhältnisses der Granulopoese/Erythropoese zugunsten der Granulopoese) sowie der Nachweis von Pseudo-Gaucher-Zellen im peripheren Blut die Diagnose stützen (Herold, 2015).

Diagnostische Verfahren zur Bestimmung der Krankheitslast

Zur Quantifizierung der leukämischen Krankheitslast stehen hämatologische, zytogenetische und molekulare Verfahren zur Verfügung. Neben der Diagnosestellung spielen diese Verfahren vor allem zum Therapiemonitoring eine große Rolle und erlauben eine Einteilung des Therapieansprechens in verschiedene Remissionsstufen (siehe Tabelle 2.1). So sollte initial im Abstand von 3 Monaten ein solches zytogenetisches und/oder molekulares Monitoring erfolgen. Bei gutem Therapieansprechen können die Abstände im Verlauf vergrößert werden (Baccarani et al., 2013).

Das hämatologische Monitoring erfolgt anhand des Blutbildes und bezieht das Vorliegen einer Splenomegalie mit ein. Hierbei wird keine weitere Abstufung vorgenommen (siehe Tabelle 2.1).

Beim zytogenetischen Monitoring erfolgt eine Entnahme von Knochenmarksaspirat mit einer Bestimmung des Anteils der Ph+ Metaphasen an mindestens 20 Metaphasen (Baccarani et al., 2013). Dies ermöglicht eine Einteilung des Therapieansprechens in 5 verschiedene Stufen auf zytogenetischer Grundlage (siehe Tabelle 2.1).

Das molekulare Monitoring stellt eine sensitivere Methode dar (Baccarani, 2006). Dabei erfolgt eine Messung des BCR-ABL Transkripts aus dem peripheren Blut mittels quantitative real time polymerase chain reaction (qRT-PCR). Um eine Vergleichbar-

2. Medizinischer Hintergrund

keit zwischen verschiedenen Laboren zu gewährleisten, sollte die Bestimmung eines laborspezifischen Umrechnungsfaktors und die Angabe nach dem internationalen Standard (IS) erfolgen (Cross et al., 2015).

Durch die Messung eines Referenz-Transkriptes, welches auch in gesunden Zellen gebildet wird, kann das Verhältnis BCR-ABL/Referenzgen als Surrogatmarker für den Anteil leukämischer Zellen im peripheren Blut bestimmt werden. In Studien findet meist das Referenzgen ABL Anwendung. Zur Vermeidung einer Überschätzung der leukämischen Zellpopulation für BCR-ABL/ABL > 10%, wird allerdings auch eine Verwendung des Referenzgens GUSB mit einem entsprechenden Umrechnungsfaktor als Alternative empfohlen (Cross, 2009).

Anhand des Verhältnisses BCR-ABL/ABL erfolgt eine Einteilung der Patienten in verschiedene molekulare Remissionsstufen (siehe Tabelle 2.1). Die Angabe erfolgt häufig anhand einer logarithmischen Abstufung des BCR-ABL/ABL-Quotienten ausgehend von 100% BCR-ABL/ABL auf der IS. MR3 beschreibt dabei eine BCR-ABL/ABL Reduktion um 3 \log_{10} -Stufen auf 0,1% BCR-ABL/ABL und wird auch als major molecular remission (MMR) bezeichnet. MR4, MR4.5 und MR5 bezeichnen entsprechend eine Reduktion um 4, 4,5 und 5 \log_{10} -Stufen (Cross et al., 2015).

Die Detektionsschwelle hängt dabei von der Anzahl Transkripte des Referenzgens in der entnommenen Probe ab und liegt etwa im Bereich von MR4.5. Unter TKI-Therapie wird diese Schwelle häufig unterschritten. Der korrekte Umgang mit den daraus resultierenden zensierten Messwerten stellt weiterhin eine Herausforderung für die statistische Analyse der CML-Therapie dar (Glauche et al., 2018).

2.2.5. Therapie

Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKIs)

Die Einführung einer spezifischen Therapie der CML durch TKIs im Jahr 2000 hat die Behandlung der CML maßgeblich beeinflusst und die jährliche Mortalität von 10–20% auf 1–2% vermindert (Bower et al., 2016). TKIs hemmen spezifisch die Kinaseaktivität des BCR-ABL Fusionsproteins, wodurch eine Reduktion leukämischer Zellen sowie häufig eine zytogenetische oder molekulare Remission erreicht wird und ein Übergang in eine AP und BP verhindert werden kann (O'Brien et al., 2003). Imatinib, der zuerst eingeführte TKI, stellt weiterhin zusammen mit Nilotinib und Dasatinib (TKIs der zweiten Generation) die erste Wahl der CP CML-Therapie dar (Baccarani et al., 2013; Hochhaus et al., 2017). Der Anteil von Patienten in complete cytogenetic response (CCyR) und MMR nach einem Jahr variierte in mehreren Studien zwischen

hämatologisch

komplett	CHR	Leukozyten $< 10.000/\mu l$ Basophile $< 5\%$ keine Myelozyten, Promyelozyten oder Myeloblasten im Differenzialblutbild Thrombozyten $< 450.000/\mu l$ Milz nicht tastbar
----------	-----	---

zytogenetisch

komplett	CCyR	keine Ph+ Metaphasen
partiell	PCyR	1 - 35% Ph+ Metaphasen
minor	mCyR	36 - 65% Ph+ Metaphasen
minimal	minCyR	66 - 95% Ph+ Metaphasen
keine		$> 95\%$ Ph+ Metaphasen

molekular

major	MMR	BCR-ABL/ABL (IS) $< 0,1\%$
tief	MR4	BCR-ABL/ABL (IS) $< 0,01\%$ Bei PCR-Negativität ABL-Kontrolltranskripte mindestens 10.000 oder GUSB mindestens 24.000.
	MR4.5	BCR-ABL/ABL (IS) $< 0,0032\%$ Bei PCR-Negativität ABL1-Kontrolltranskripte mindestens 32.000 oder GUSB mindestens 77.000.
	MR5	BCR-ABL/ABL (IS) $< 0,001\%$ Bei PCR-Negativität ABL1-Kontrolltranskripte mindestens 100.000 oder GUSB mindestens 240.000.

Tabelle 2.1.: **Remissionskriterien:** Definitionskriterien der kompletten hämatologischen Remission sowie der verschiedenen Abstufungen der zytogenetischen und molekularen Remission (Baccarani, 2006; Cross et al., 2015)

49%–77%, respektive 15%–58%. Die Rate des Progressions-freien Überlebens variierte zwischen 83% und 94% nach über 5 Jahren (Baccarani et al., 2013). Eine Gesamtüberlebensrate von 83% nach 10 Jahren zeigt zudem eine gute Langzeitwirkung und Sicherheit von Imatinib (Hochhaus et al., 2017). Weiterhin ergaben mehrere Studien eine initial höhere Rate von Patienten in CCyR und MMR unter Nilotinib und Da-

2. Medizinischer Hintergrund

satinib, allerdings keinen Unterschied bezüglich der Überlebensraten im Vergleich zur Therapie mit Imatinib (Baccarani et al., 2013). Seit einigen Jahren stehen außerdem mit Bosutinib und Ponatinib TKIs der dritten Generation zur Verfügung und können bei Resistenzen gegen Imatinib, Nilotinib und Dasatinib eingesetzt werden (Baccarani et al., 2013).

Dem guten Therapieansprechen der TKIs steht eine hohe Rate an unerwünschten Arzneimittelwirkungen gegenüber, welche unter anderem das kardiovaskuläre, pulmonale, gastrointestinale und endokrine System betreffen. Über 95% der in Studien behandelten Patienten zeigten solche Nebenwirkungen, bei etwa der Hälfte dieser Patienten wurde daher die TKI-Dosis temporär reduziert oder die Therapie pausiert (Caldemeyer et al., 2016). Bei etwa 10% der Patienten erfolgte aufgrund unerwünschter Arzneimittelwirkungen ein Therapieabbruch mit Wechsel auf eine andere Substanz (Caldemeyer et al., 2016). Weiterhin bestehen Hinweise auf eine erhöhte Rate von Sekundärtumoren unter TKI-Therapie (Verma et al., 2011; Caldemeyer et al., 2016).

Weitere Substanzen

Weitere Substanzen spielen in der Therapie der CML nur eine untergeordnete Rolle. Hydroxycarbamid wirkt als Zytostatikum und kann initial bis zur sicheren Diagnosestellung der CML eingesetzt werden.

Interferon- α , eine immunstimulierende körpereigene Substanz, wurde aufgrund der schlechteren Verträglichkeit und des langsameren Therapieansprechens zunehmend von TKIs bei der Therapie der CML verdrängt, stellt jedoch weiterhin eine alternative Therapieoption im Falle einer Resistenz gegen TKI oder einer TKI-Unverträglichkeit dar (Baccarani et al., 2013; Talpaz et al., 2013; Hochhaus et al., 2017). Darüber hinaus zeigten mehrere Studien, dass eine Kombinationstherapie mit Interferon- α und Imatinib zu höheren Remissionsraten unter Therapie führt und somit einen weiteren, zukünftigen Therapieansatz darstellen könnte (Preudhomme et al., 2010; Simonsen et al., 2011). Der Effekt einer Kombinationstherapie von Interferon- α und dem TKI Nilotinib auf das Erreichen einer Remission wird aktuell in der TIGER-Studie (NCT01657604) untersucht (Hochhaus, 2019).

Eine weitere therapeutische Option bei Versagen der TKI-Therapie und bei Patienten mit einer CML im Stadium der AP oder BP stellt die allogene Stammzelltransplantation dar. Diese rückt aufgrund der zunehmenden Verfügbarkeit verschiedener TKIs allerdings zunehmend in den Hintergrund (Baccarani et al., 2013; Hochhaus et al., 2017).

Absetzen von TKIs

Nach der aktuellen Empfehlung des European LeukemiaNet sollten Patienten mit gutem Ansprechen auf TKIs dauerhaft mit der empfohlenen TKI-Standarddosis weiterbehandelt werden. Ein Therapieabsetzen wird nur im Rahmen von klinischen Studien empfohlen (Baccarani et al., 2013). Obwohl die meisten Patienten gut auf die Therapie mit TKIs ansprechen und oft eine zytogenetische bzw. molekulare Remission erreicht werden kann, sind bei vielen Patienten selbst nach langjähriger Behandlung noch BCR-ABL Transkripte messbar und deuten auf eine residuale Population leukämischer Zellen hin (Rousselot et al., 2014).

Mehrere Studien (STIM, EURO-SKI, A-STIM, DADI, D-STOP) haben gezeigt, dass bei etwa 50% der Patienten, welche gut auf eine TKI-Therapie ansprachen, nach dem Absetzen der Therapie langfristig eine Remission erhalten werden konnte. Die anderen 50% der Patienten zeigten einen Rückfall, wobei dieser in den meisten Studien als BCR-ABL-Anstieg über MR3 definiert wurde. Dieser trat meist innerhalb von 6 Monaten ein und erforderte einen erneuten Therapiebeginn mit TKIs (Mahon et al., 2010; Rousselot et al., 2014; Kumagai et al., 2018; Okada et al., 2018; Saussele et al., 2018). Hierbei konnte innerhalb von weniger als einem Jahr bei den meisten Patienten eine erneute MMR erreicht werden (Mahon et al., 2010; Rousselot et al., 2014).

Da etwa 30% der Patienten nach Therapiestopp trotz anhaltender Remission niedrige BCR-ABL Level zeigten, ist es allerdings unklar, ob es sich bei einer Remission um eine komplette Eradikation leukämischer Zellen handelt oder ob eine residuale leukämische Zellpopulation durch andere Mechanismen unterdrückt wird (Rousselot et al., 2014). Mittels nested PCR, einem Verfahren mit höherer Sensitivität, konnten bei fast allen in Remission verbleibenden Patienten nach TKI-Stopp niedrige, stabile BCR-ABL Level nachgewiesen werden (Ross et al., 2010).

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass ein Therapieabsetzen mit einer deutlichen Kostenreduktion einhergeht (Saussele et al., 2018).

Der klinische Prognoscore Sokal, die TKI-Behandlungszeit und die Zeit in MR4.5 unter TKI-Therapie zeigten hierbei eine leichte Assoziation mit der Aufrechterhaltung einer Remission nach Therapiestopp. (Mahon et al., 2010; Saussele et al., 2018). Ebenso zeigten mit Interferon- α vorbehandelte Patienten eine geringere Rezidivrate, was auf eine mögliche Rolle des Immunsystems zum Erhalt der Remission hindeutet (Saussele et al., 2018). Eine prospektive, sichere Identifikation der Patienten, welche von einem Therapieabsetzen profitieren, ist anhand dieser Faktoren allerdings nicht möglich, auch wenn dies auch ökonomischen Gründen und zur Vermeidung unerwünschter, therapiebedingter Arzneimittelwirkungen sehr wünschenswert erscheint.

2.2.6. Immunologische Einflussfaktoren auf das Rezidivverhalten

Das seltenere Auftreten eines Rezidivs nach Beendigung der TKI-Gabe bei Patienten, welche mit der immunstimulierenden Substanz Interferon- α vorbehandelt wurden, legt eine signifikante Rolle des Immunsystems zur Aufrechterhaltung einer Remission nahe (Takahashi et al., 2012; Ross et al., 2013; Saussele et al., 2018). Mehrere experimentelle Arbeiten unterstützen diese Theorie, indem sie eine Korrelation zwischen immunologischen Markern zum Zeitpunkt des Absetzens der TKI-Therapie und dem nachfolgenden Rückfallverhalten der Patienten aufzeigen.

So zeigten Schütz et al. an 122 Patienten der EURO-SKI Studie, dass Patienten mit einer hohen Expression des T-Zellen inhibierenden CTLA-4-Liganden CD86 auf plasmazytoiden dendritischen Zellen (pDC) häufiger ein Rezidiv aufwiesen, niedrige CD86⁺ pDC-Level also einen möglichen prädiktiven Faktor für eine therapiefreie Remission darstellen (Schütz et al., 2017).

Im Gegensatz hierzu ist die konkrete Rolle von natürlichen Killerzellen momentan nicht sicher geklärt. Patienten der STIM und EURO-SKI Studie, welche nach TKI-Stopp kein Rezidiv zeigten, wiesen einen höheren Anteil natürlicher Killerzellen (NK-Zellen) sowie eine gesteigerte Sekretionsrate der Zytokine Tumornekrosefaktor- α und Interferon- γ durch NK-Zellen auf (Ilander et al., 2017; Rea et al., 2017). In der japanischen Dasatinib Stop Trial (D-STOP) Studie wurden hingegen vermehrt NK-Zellen bei Patienten gefunden, welche nach Absetzen des TKI ein Rezidiv zeigten. Kumagai et al. sehen die Ursache in einer substanzspezifischen, immunmodulatorischen Wirkung des in der D-STOP Studie eingesetzten TKI Dasatinib. Es bleibt allerdings unklar, welcher exakte Mechanismus diesem Verhalten zugrunde liegt (Kumagai et al., 2018). Ilander et al. zeigten außerdem, dass in Remission verbleibende Patienten bei Absetzen des TKI vermehrt NK-Zellen mit einer verminderten EAT-2-Expression zeigten. Diese Zellen werden dem adaptiven Immunsystem zugerechnet und könnten somit Hinweis auf eine spezifische antileukämische NK-Zell Antwort bei CML-Patienten darstellen (Ilander et al., 2017). Weiterhin konnten BCR-ABL-spezifische CD8⁺ T-Lymphozyten in CML-Patienten isoliert werden (Butt et al., 2005). Es bleibt somit Gegenstand weiterer Forschung, einen robusten immunologischen Biomarker zu finden, welcher eine exakte Vorhersage des Rückfallverhaltens nach Beendigung einer TKI-Therapie ermöglicht (Hughes & Yong, 2017).

Neben einer Wirkung von Immunzellen auf die CML besteht allerdings ebenso ein supprimierender Effekt leukämischer Zellen auf Immunzellen. So zeigen CML-Patienten bei Diagnosestellung Einschränkungen immunologischer Effektorzellen, insbesondere einen Verlust bestimmter B-Gedächtniszellen, eine verminderte Anzahl natürlicher

2.2. Chronische Myeloische Leukämie

Killerzellen sowie funktionell eingeschränkte dendritische Zellen und T-Lymphozyten (Hughes & Yong, 2017). Weiterhin konnten vermehrt myeloide Suppressorzellen, eine heterogene Gruppe granulozytärer und monozytärer Zellen mit immunsuppressiver Funktion, bei CML-Patienten nachgewiesen werden. Hughes et al. zeigten ebenso, dass es bei CML-Patienten unter TKI-Therapie bei Erreichen einer tiefen molekularen Remission zu einer partiellen Wiederherstellung der Immunantwort kommt (Hughes et al., 2017). Im Gegensatz hierzu zeigten Chen et al., dass es unter TKI-Therapie nach initialer Wiederherstellung der Immunfunktion unter einer weitergeführten Therapie bei Erreichen einer molekularen Remission zu einer erneuten Abschwächung der anti-leukämischen T-Zell Antwort kommt, eine effektive Immunantwort also nur innerhalb eines bestimmten Fensters existiert (Chen et al., 2008).

Darüber hinaus zeigten Tarafdar et al. dass leukämische Stammzellen durch eine verminderte Expression von MHC-II Moleküle im Vergleich zu gesunden hämatopoetischen Stammzellen einer Immunantwort entkommen (Tarafdar et al., 2017).

3. Systembiologischer Hintergrund

Die CML hat sich als Anwendungsgebiet mathematischer Modelle im Bereich der Onkologie mit einem breiten Spektrum verschiedener Modelle etabliert. Hierzu haben der gut abgrenzbare Phänotyp der Erkrankung sowie die einfache Verlaufsbeurteilung von Patienten durch wiederholte BCR-ABL Messungen beigetragen. Mathematische Modelle erlauben dabei das virtuelle Testen aufwendiger oder schwierig umzusetzender Experimente oder Studienprotokolle sowie das Aufstellen neuer Hypothesen, welche in weiteren Experimenten oder Studien überprüft werden können. Weiterhin erlauben sie eine Überprüfung der Konsistenz vermuteter Annahmen zu biologischen Mechanismen durch eine Testung in anderen klinischen/experimentellen Bedingungen. Auf diese Weise haben mathematische Modelle das Verständnis von Pathomechanismen und Therapie der CML in den letzten Jahren vorangetrieben.

In den folgenden Abschnitten wird ein Überblick über verschiedene Modelle gegeben, welche das Forschungsgebiet in der Vergangenheit beeinflusst haben. Ein weiterer Schwerpunkt wird auf Modelle mit einer immunologischen Komponente und Modelle zur Beschreibung der TKI-Therapie sowie dem Verhalten nach Absetzen einer TKI-Therapie gelegt. Die Modelle zeigen hierbei häufig einen ähnlichen Grundaufbau, unterscheiden sich aber in den zugrundeliegenden biologischen Annahmen und deren mathematischer Beschreibung. Damit unterscheiden sie sich in Hinblick auf die biologischen Mechanismen (z.B. Wirkungsweise von TKIs, Resistenzentwicklungen, Rolle des Immunsystems), mit welchen ein beobachtetes Verhalten (z.B. BCR-ABL Abfall unter Therapie, Rückfallverhalten nach Therapieabsetzen) erklärt wird und in den Vorhersagen für spezifische Situationen (z.B. Langzeitverhalten unter Therapie, Rückfallverhalten nach Therapieabsetzen oder bei Dosisreduktion).

Allgemein lassen sich statistische und mechanistische Modelle unterscheiden. Erstgenannte stellen einen mathematischen Zusammenhang deskriptiv dar, während mechanistische Modelle die zugrundeliegenden biologischen Prinzipien mathematisch beschreiben.

3.1. Statistische Modelle der TKI-Therapie

Michor et al. beschrieben 2005 ein statistisches Modell, welches den biphasischen Abfall der BCR-ABL/ABL Level unter TKI-Therapie mit Hilfe einer sogenannten stückweisen linearen Regression approximiert (Michor et al., 2005). Dabei setzt sich die Anpassung der logarithmierten BCR-ABL/ABL Verläufe aus je zwei Geraden zusammen, welche an einem Bruchpunkt ineinander übergehen. Dieses Modell wurde in den folgenden Jahren von verschiedenen Autoren verwendet (Roeder et al., 2006; Horn et al., 2013).

2011 publizierten Stein et al. ein statistisches Modell, welches diesen Bruchpunkt durch Verwendung einer bi-exponentiellen Funktion umgeht und somit einen kontinuierlichen Übergang zwischen den beiden Phasen des BCR-ABL/ABL Abfalls ermöglicht (Stein et al., 2011). Dieses Modell etablierte sich in den vergangenen Jahren zunehmend (Stein et al., 2013; Fassoni et al., 2018; Proschmann et al., 2017; Glauche et al., 2018). Beide Modelle haben dabei gemeinsam, dass sie den BCR-ABL/ABL Verlauf unter TKI-Therapie über einen initialen steilen Abfall (α) und anschließend einen anhaltenden, langsamen Abfall (β) beschreiben. Der initiale Abfall wird dabei primär einer Eradikation differenzierter, proliferierender leukämischer Zellen zugeschrieben. Der spätere Abfall wird der langsameren Eradikation hämatopoetischer Vorläuferzellen (Michor et al., 2005) oder hämatopoetischer Stammzellen (Roeder et al., 2006; Stein et al., 2011, 2013) zugeschrieben.

3.2. Mechanistische Modelle der TKI-Therapie

Unter den mechanistischen Modellen kann eine weitere Unterscheidung zwischen populationsbasierten und einzelzellbasierten Modellen getroffen werden. Roeder et al. entwickelten 2006 ein einzelzellbasiertes Modell, welches auf Basis stochastischer Prozesse die Konkurrenz leukämischer Zellen und gesunder hämatopoetischer Zellen innerhalb einer gemeinsamen Mikroumgebung beschreibt. Grundlage bilden hierbei unterschiedliche Wahrscheinlichkeiten, mit denen leukämische Zellen und gesunde Zellen zwischen einem proliferierenden und einem ruhenden Zustand wechseln (Roeder et al., 2006). Diesem gegenüber stehen eine Reihe von populationsbasierten, auf Differentialgleichungen beruhenden, mathematischen Modellen, welche im Gegensatz zu einzelzellbasierten Modellen nur Aussagen über die Zellzahl in einem bestimmten Kompartiment, jedoch keine Aussagen über einzelne Zellen erlauben. Michor et al. beschreiben in ihrem Modell eine unidirektionale Differenzierung von gesunden und leukämischen Vorläufer-

zellen, ohne dass eine Interaktion zwischen beiden Zelllinien stattfindet (Michor et al., 2005). In einer Folgearbeit nutzten Dingli & Michor ein Modell, welches ähnlich einer Arbeit von Catlin die Entwicklung der CML auf Grundlage einer Kompetition zwischen leukämischen und gesunden hämatopoetischen Zellen CML beschreibt (Catlin, 2005; Dingli & Michor, 2006).

Komarova & Wodarz beschreiben in zwei Publikationen Modelle, in welchen leukämische Zellen ähnlich zum einzelzellbasierten Modell von Roeder et al. reversibel zwischen einem ruhenden Zustand und einen aktiven, proliferierenden Zustand wechseln (Komarova & Wodarz, 2007, 2009).

3.3. Modellierung von Therapie und Absetzverhalten

Die verschiedenen Modelle der CML unterscheiden sich hinsichtlich der angenommenen Wirkungsweise der TKIs auf leukämische Stammzellen und damit einhergehend ebenso bezüglich der Vorhersage des Rückfallverhaltens nach Absetzen der TKIs. Michor et al. gehen von einer Wirkung der TKIs auf differenzierte leukämische Zellen aus, nicht aber auf leukämische Stammzellen, sodass diese trotz TKI-Therapie ungehindert proliferieren und es bei allen Patienten letztendlich auch unter Therapie zu einem Rückfall kommt (Michor et al., 2005).

Roeder et al. unterscheiden weiterhin ruhende und proliferierende leukämische Stammzellen und nehmen an, dass ruhende Zellen keiner direkten TKI-Wirkung unterliegen, sondern lediglich eine Elimination von proliferierenden leukämischen Zellen stattfindet (Roeder et al., 2006). Da in diesem Modell leukämische Zellen zwischen einem ruhenden und proliferierenden Zustand wechseln können, ist eine prinzipielle Eradikation leukämischer Zellen allerdings möglich. Aufgrund der zusätzlichen von Roeder et al. getroffenen Annahme, dass TKIs die Aktivierung ruhender leukämischer Stammzellen hemmen, ist dies nur auf langen Zeitskalen möglich. Horn et al. zeigten auf Basis dieses Modells, dass eine komplette Eradikation erst nach durchschnittlich 30 bis 50 Jahren erreicht wird und ein vorheriges Absetzen daher zu einem Rückfall führen würde (Horn et al., 2013).

Im Gegensatz hierzu veröffentlichten Komarova & Wodarz ein Modell mit einer direkten Wirkung von TKIs auf alle leukämischen Zellen und erklären Rückfälle als Folge angesammelter Resistenzentwicklungen der leukämischen Zellen gegen den eingesetzten TKI. Somit kann ein Therapieabsetzen nur ohne Rezidiv bleiben, falls sich bis zur

3. Systembiologischer Hintergrund

Eradikation aller leukämischen Zellen keine Resistenz gegenüber dem TKI gebildet hat (Komarova & Wodarz, 2005).

Fassoni et al. analysierten, ob eine Reduktion der TKI-Dosis im Therapieverlauf möglich ist, ohne die Patienten einer Rezidivgefahr auszusetzen (Fassoni et al., 2018). Ihr Modell zeigte, dass es unter Therapie zu einer deutlichen Reduktion proliferierender leukämischer Zellen kommt und das Rezidivrisiko daher vor allem auf dem spärlicheren Wechsel ruhender leukämischer Stammzellen in einen proliferierenden und damit TKI-sensitiven Zustand zurückzuführen ist. Mit Hilfe ihres Modelles sagten sie vorher, dass bei etwa 90% der Patienten bei Erreichen einer MMR eine Dosisreduktion um 50% möglich sei, ohne dass es zu einem Rezidiv kommt.

Weitere Modelle beschäftigten sich außerdem mit dem Auftreten von Resistenzen gegen Imatinib (Komarova & Wodarz, 2005; Leder et al., 2011; Woywod et al., 2017) und Kombinationstherapien (Komarova & Wodarz, 2009; Glauche et al., 2012).

Die bisher genannten Modelle beinhalten dabei weder eine Kontrollinstanz noch andere Mechanismen, welche eine residuale leukämische Zellpopulation nach Beendigung der TKI-Therapie an einer erneuten Proliferation hindern können. Eine persistierende, minimale leukämische Zellpopulation würde somit nach Beendigung der Therapie zwangsläufig zu einem Rezidiv führen. Damit stehen die verschiedenen Ansätze im Widerspruch mit aktuellen klinischen Daten aus mehreren TKI-Absetzstudien, in welchen etwa 50% der Patienten nach Absetzen der TKI-Therapie in Remission verblieben, allerdings viele dieser Patienten geringe, persistierende BCR-ABL Level aufwiesen, ohne dass sich im Verlauf ein Rezidiv entwickelte (Mahon et al., 2010; Ross et al., 2010; Rousselot et al., 2014; Saussele et al., 2018). Als mögliche Erklärung zur Verhinderung eines Rezidivs trotz einer nur inkompletten Eradikation leukämischer Zellen wird eine Kontrolle residueller leukämischer Zellen durch eine spezifische Immunantwort angenommen (Hughes & Yong, 2017).

3.4. Modelle der CML mit einer immunologischen Komponente

In den vergangenen Jahren erfolgten Publikation mehrerer Modelle, welche immunologische Erkenntnisse aus experimentellen Studien (siehe auch Abschnitt 2.2.6) integrierten. Bereits 2008 publizierten Kim et al. ein Modell mit einer solchen Immunkomponente und sagten vorher, dass eine Population CML-spezifischer Immunzellen

3.4. Modelle der CML mit einer immunologischen Komponente

notwendig sei, um ein Rezidiv der CML unter TKI-Therapie zu vermeiden. (Kim et al., 2008).

Wodarz nutzt in einem mathematischen Modell das Zusammenwirken einer immunologischen Komponente und der Entwicklung einer TKI-Resistenz zur Beschreibung des bi-exponentiellen Abfalls der BCR-ABL Level und der Entwicklung eines Therapieversagens unter TKI-Therapie. Hierbei attribuiert er den initialen, steilen BCR-ABL Abfall (α) primär der antileukämischen Wirkung der Immunzellen und erst den späteren, langsameren BCR-Abfall (β) primär der TKI-Therapie. Aufgrund einer im Zeitverlauf zunehmenden TKI-Resistenz und einer verminderten antileukämischen Aktivität des Immunsystems bei niedrigen BCR-ABL Leveln kommt es im Verlauf trotz TKI-Therapie zu einem Rezidiv. Er beschreibt, dass ein solcher immunologischer Mechanismus prinzipiell auch geeignet sei, um eine anhaltende Remission nach Absetzen eines TKI beschreiben zu können (Wodarz, 2010).

2015 präsentierten außerdem Clapp et al. ein Modell mit einer Population immunologischer Zellen, welche erst in Anwesenheit leukämischer Zellen zur Proliferation stimuliert werden, allerdings bei sehr hohen oder niedrigen Leveln leukämischer Zellen wieder supprimiert werden. Hieraus resultiert eine Immunantwort, welche lediglich innerhalb eines intermediär hohen Bereichs leukämischer Zellelevel effektiv ist. Mit Hilfe dieses Modells erklärten Clapp et al. Fluktuationen der BCR-ABL Level unter TKI-Therapie (Clapp et al., 2015; Besse et al., 2018).

In einer aktuellen Arbeit diskutierten Fassoni et. al ein allgemeines immunologisches Modell der TKI-Therapie bei CML-Patienten und untersuchten dabei die Plausibilität verschiedener Annahmen zur Interaktion zwischen leukämischen Zellen und Immunzellen. Sie untersuchten dazu 20 verschiedene Submodelle, welche verschiedene Annahmen zur Inhibition und Stimulation der Immunantwort durch leukämische Zellen mathematisch beschreiben, unter anderem anhand des Vorhandenseins und Auftreten von drei potentiellen Endzuständen (komplette Eradikation leukämischer Zellen (I), immunologisch kontrollierte Remission (II), Rezidiv (III)) nach Absetzen der TKI-Therapie. Dabei zeigten sie, dass die drei genannten Endzustände nur in Modellen erreicht werden können, bei welchen eine hohe leukämische Zellzahl die Immunantwort inhibiert. Daher erscheint eine solche immuninhibierende Wirkung aus Modellsicht plausibler als andere Annahmen zur Interaktion zwischen Immunsystem und leukämischen Zellen, welche auf eine solche immunsupprimierende Wirkung verzichten (Fassoni et al., 2019). Die Ergebnisse stehen damit auch in Einklang mit biologischen Daten, welche eine Einschränkung der Immunantwort bei Patienten mit CML und hohen BCR-ABL Leveln zeigen (Hughes & Yong, 2017).

3. Systembiologischer Hintergrund

Es bleibt allerdings weiterhin unklar, in welchem Maße ein solcher immunologischer Mechanismus eine entscheidende Rolle zur Aufrechterhaltung einer therapiefreien Remission darstellt. Außerdem stellt sich die Frage, ob ein Modell mit einer solchen immunologischen Komponente eine sichere, individuelle Vorhersage des Rückfallverhaltens ermöglicht.

4. Material und Methoden

4.1. Klinische Daten

4.1.1. Herkunft der klinischen Daten

In dieser Arbeit wurden Daten von insgesamt 60 CML-Patienten verwendet, welche mit einem TKI behandelt wurden und bei denen dieser im Rahmen einer klinischen Intervention abgesetzt wurde. Die Daten entstammen der multizentrischen European Stop Tyrosine Kinase Inhibitor Study (EURO-SKI, NCT01596114) sowie den beiden multizentrischen, französischen Stop Imatinib Studien (STIM: NCT00478985, STIM2: NCT01343173) und den Registerdaten lokaler Behandlungszentren (Universitätsklinikum Mannheim; Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München; University Hospital of Bordeaux, France). Einschlusskriterien der EURO-SKI Studie waren eine TKI-Therapie für mindestens 3 Jahre ohne Therapieversagen sowie das Erreichen von MR4 für mindestens 1 Jahr (Saussele et al., 2018). In der STIM und STIM2 Studie wurden Patienten eingeschlossen, welche mindestens 3 Jahre mit dem TKI Imatinib behandelt wurden und für mindestens 2 Jahre MR5 unter Therapie erreichten. Im Gegensatz zur EURO-SKI-Studie wurden Patienten mit anderen TKIs als Imatinib und Patienten mit Kombinationstherapien ausgeschlossen (Mahon, 2017).

Für alle Patienten erfolgten serielle BCR-ABL Messungen sowie Messungen des Referenzgens ABL, sodass das BCR-ABL/ABL Verhältnis auf der IS bestimmt werden konnte. Als Zeitpunkt des Rezidivs wurde der erste messbare BCR-ABL/ABL Anstieg über MMR (MR3, 0,1% BCR-ABL/ABL) beziehungsweise der Zeitpunkt eines erneuten Therapiebeginn mit einem TKI angenommen, falls dies vor Verlust der MMR erfolgte. In Übereinstimmung mit den Empfehlungen von Cross et al. wurde für nicht detektierbare BCR-ABL Messungen eine untere Detektionsschwelle von 3/ABL angenommen (Cross et al., 2015).

4.1.2. Selektion geeigneter Patienten

Aus den vorliegenden Patientendaten erfolgte eine Selektion der Patienten, welche für die geplanten mathematischen Analysen geeignet waren. Dies bedeutet konkret, dass

4. Material und Methoden

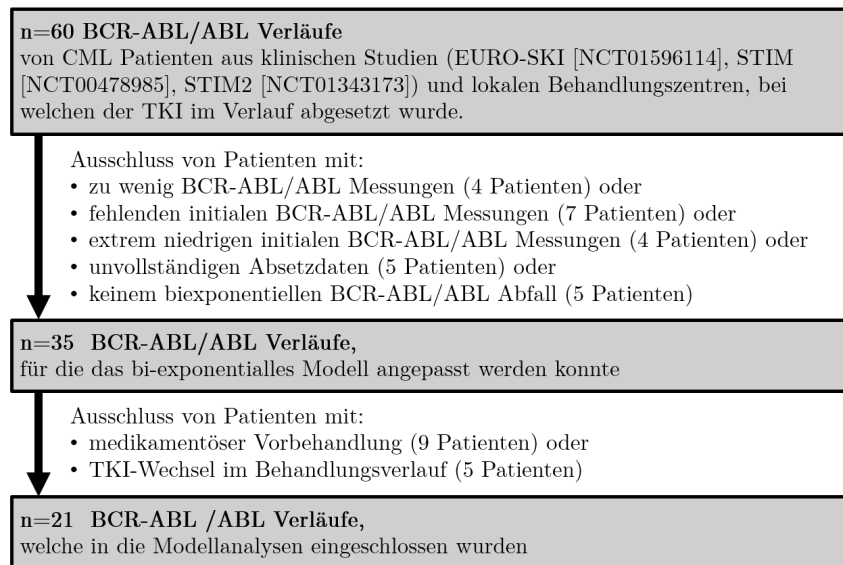


Abbildung 4.1.: Vorgehen zur Patientenselektion

Patienten mit weniger als 5 detektierbaren BCR-ABL Messungen, fehlenden initialen Messwerten (d.h. erster Messwert nach mehr als 10 Monaten) oder einem extrem niedrigen initialem BCR-ABL/ABL Messwert (d.h. erster BCR-ABL/ABL Messwert innerhalb MMR) ausgeschlossen wurden. Weiterhin erfolgte ein Ausschluss von Patienten mit einem nicht-biexponentiellem Abfall sowie von Patienten, die keinen typischen Verlauf mit einem initial steilen (α) und im Verlauf flachen (β) Abfall zeigten, d.h. ein Ausschluss von Patienten mit $\alpha > \beta$ (siehe Kapitel 4.2).

Außerdem wurde die Analyse auf Patienten mit einer alleinigen TKI-Therapie beschränkt, d.h. es wurden Patienten mit anderer medikamentöser Vorbehandlung, TKI-Wechsel, Kombinationstherapien oder unvollständigen Informationen zur eingesetzten Therapie von den Analysen ausgeschlossen (siehe Abbildung 4.1). Die verbleibenden 21 Patienten wurden für die weiteren Analysen in dieser Arbeit genutzt, um mittels eines konzeptionellen Modellierungsansatzes die potentielle Rolle einer immunologischen Komponente bei der CML zu analysieren.

4.2. Statistische Beschreibung

4.2.1. Bi-exponentielles Modell

Zur Beschreibung des biphasischen Abfalls des BCR-ABL/ABL-Verhältnisses der Patienten unter TKI-Therapie wurde ein etabliertes statistisches Modell von Stein et al. genutzt. Dieses beschreibt den BCR-ABL/ABL-Abfall mit Hilfe einer bi-exponentiellen Funktion (siehe Abbildung 4.2), welche einen initialen, steilen Abfall (α) und einem späteren, langsameren Abfall (β) aufweist. Der steile Abfall wird dabei einer Elimination von peripheren leukämischen Zellen zugeschrieben, der langsamere Abfall der späteren Elimination ruhender leukämischer Stammzellen (Roeder et al., 2006; Stein et al., 2011; Glauche et al., 2018).

Das BCR-ABL/ABL-Verhältnis wird mit folgender bi-exponentieller Funktion auf einer logarithmischen Skala beschrieben:

$$LRATIO(t) = \log_{10} \left(Ae^{\alpha t} + Be^{\beta t} \right) \quad (4.1)$$

4.2.2. Modellanpassung

Die Ermittlung der zugehörigen Parameter A , B , α und β der bi-exponentiellen Funktion erfolgte zweistufig mit Hilfe eines Maximum-Likelihood-Schätzer nach einer von Glauche et al. beschriebenen Methode (Glauche et al., 2018). Um eine möglichst robuste Schätzung der Parameter zu ermöglichen, wurde dabei in zwei Stufen vorgegangen. Zuerst erfolgte eine Maximierung der Likelihood (unter Nutzung des Pakets *maxLik* Version 1.3.4 in *R* Version 3.4.4; Methode: Nelder-Mead) des logarithmierten BCR-ABL/ABL Verlaufs anhand einer geometrischen Beschreibung durch zwei Geraden, wobei die erste Gerade bis zum Schnittpunkt beider Geraden den initialen steilen Abfall und die zweite Gerade ab dem Schnittpunkt den anschließenden langsameren Abfall beschreibt (siehe Abbildung 4.2). Anhand der Funktionsgleichungen der so ermittelten Geraden werden die Parameter der bi-exponentiellen Funktion approximiert. Ausgehend von dieser Schätzung erfolgt das Feintuning mit Hilfe einer zweiten Anwendung der Maximum-Likelihood-Methode. Dabei wird angenommen, dass die Daten mit einem normalverteilten Fehler um die geschätzte bi-exponentielle Funktion liegen. Weiterhin wurde nach den Empfehlungen von Cross et al. eine untere Detektionsschwelle (quantification limit, QL) für die BCR-ABL/ABL Quantifizierung angenommen, welche sich aus der Anzahl der Transkripte des Referenzgens ABL berechnet:

4. Material und Methoden

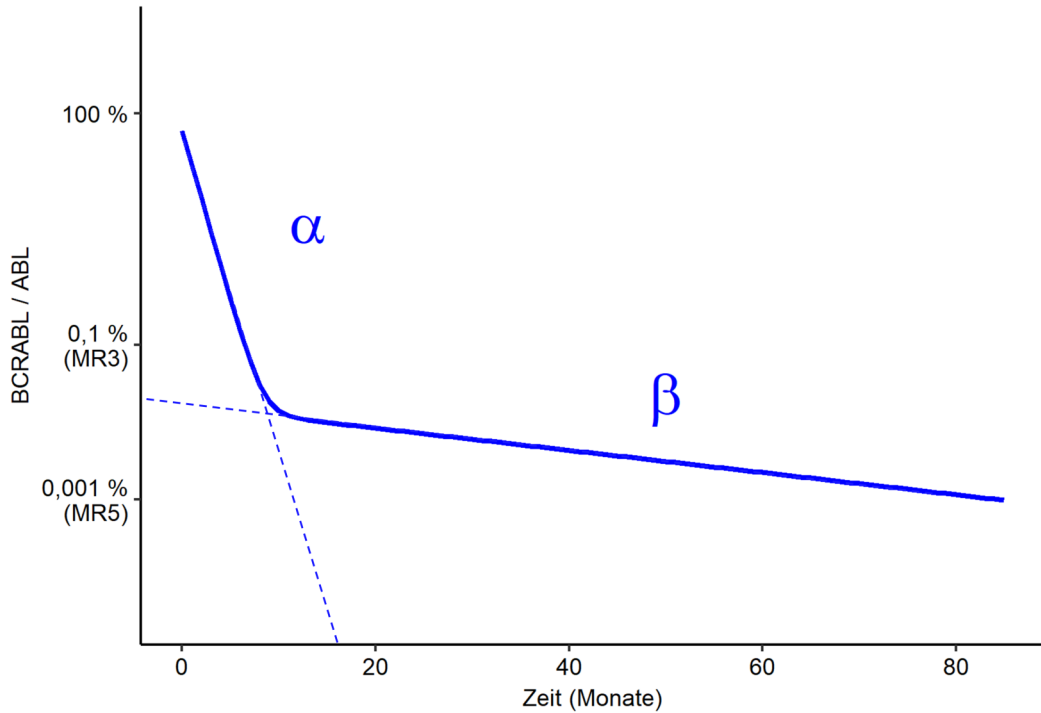


Abbildung 4.2.: **Bi-exponentielles Modell:** Exemplarische Darstellung einer bi-exponentiellen Funktion eines CML-Patienten (durchgezogene blaue Linie, siehe Gleichung 4.1) sowie der beiden Geraden (gestrichelte blaue Linien), welche zur Anpassung des statistischen Modells verwendet werden.

$QL = 3/ABL$ (Cross et al., 2015). Für Messwerte unterhalb der Detektionsschwelle erfolgt ein gesondertes Vorgehen bei der Berechnung der Likelihood, bei welchem nur ein Fehler angenommen wird, wenn der Fit oberhalb der Detektionsschwelle liegt. In diesem Fall wird ein normalverteilter Fehler zwischen Detektionsschwelle und berechnetem Fit angenommen. Falls die bi-exponentielle Funktion unterhalb der Detektionsschwelle liegt, wird entsprechend ein perfekter Fit angenommen (Glauche et al., 2018). Schließlich wurden in Übereinstimmung mit den Selektionskriterien (siehe Kapitel 4.1.2) nur Modellschätzungen mit $\alpha < \beta$ betrachtet, um eindeutige Lösungen zu erhalten, bei denen Patienten durch einen steilen initialen Abfall α und einen langsameren späteren Abfall β beschrieben werden.

4.2.3. Statistische Tests

Zum Vergleich der Verteilung der Parameter α und β des statistischen Modells zwischen Patienten mit und ohne Rückfall wurde ein Kolmogorov-Smirnov-Test als Anpassungstest mit einem 5% Signifikanzniveau genutzt (*R* Version 3.4.4, Paket *stats*).

4.3. Mechanistisches Modell

2018 veröffentlichten Fassoni et al. ein allgemeines, immunologisches, populationsbasiertes Modell der TKI-Therapie von CML-Patienten. Auf Basis dieses allgemeinen Modells erstellten sie insgesamt 20 verschiedene Submodelle, welche die Interaktionsformen zwischen den Zellpopulationen auf Basis verschiedener gewöhnlicher Differentialgleichungen (ordinary differential equations, ODE) beschreiben. Die Anwendung der Submodelle auf verschiedene klinische Szenarien zeigte, dass aus Modellsicht nur Submodelle die klinischen Szenarien gut beschreiben können, bei welchen eine hohe leukämische Zellzahl die Immunantwort inhibiert (Fassoni et al., 2019).

In der vorliegenden Arbeit wurde eines dieser Modelle verwendet, welches einer gemeinsamen Zusammenarbeit mit Artur Fassoni entstammt. Weiterhin erfolgt ein Vergleich mit einer vereinfachten Variante dieses Modells *ohne* immunologische Komponente, um die Auswirkungen der immunologischen Komponente detaillierter zu beleuchten.

4.3.1. CML-Modell *ohne* immunologische Komponente

Das vereinfachte Modell *ohne* immunologische Komponente (siehe Abbildung 4.3) unterscheidet zwischen einer Population ruhender leukämischer Zellen innerhalb der Stammzellnische im Knochenmark (bezeichnet als X) und einer Population peripherer, proliferierender leukämischer Zellen (bezeichnet als Y). Weiterhin erfolgt implizit die Modellierung einer Population gesunder hämatopoetischer Zellen, welche sich aus der vereinfachten Annahme ergibt, dass die Gesamtzahl hämatopoetischer Zellen konstant bleibt (Kompartimentgröße K_Y) und sich aus leukämischen Zellen und gesunden hämatopoetischen Zellen zusammensetzt. Die proliferierenden leukämischen Zellen Y vermehren sich mit einer Teilungsrate p_Y , dabei wird das Wachstum von Y durch die Kompartimentgröße K_Y beschränkt. Diese Beschränkung wird durch eine verstärkte Abnahme der Proliferationsrate p_Y bei Annäherung der Zellzahl Y an die Kompartimentgröße K_Y erreicht. Konkret geschieht dies über die logistische Wachstumsfunktion $p_Y(1 - Y/K_Y)$. Leukämische Zellen können reversibel zwischen beiden Kompartimenten (d.h. zwischen X und Y) mit den Transitionsraten p_{XY} und p_{YX} wechseln. Die TKI-Behandlung wird durch eine TKI-Eliminationsrate $e_{TKI} = e_{TKI_0}$ modelliert, welche auf proliferierende Zellen Y wirkt, aber ruhende Zellen X nicht beeinträchtigt. Nach Stopp der TKI-Therapie gilt: $e_{TKI} = 0$.

Eine komplette Eradikation leukämischer Zellen wird als ein Abfall leukämischer Zellen in X und Y unter den Grenzwert einer einzelnen Zelle definiert.

$$\frac{dX}{dt} = p_{YX} * Y - p_{XY} * X \quad (4.2)$$

$$\frac{dY}{dt} = p_{XY} * X - p_{YX} * Y + p_Y * \left(1 - \frac{Y}{K_Y}\right) * Y - e_{TKI} * Y \quad (4.3)$$

Zur Berechnung der korrespondierenden BCR-ABL/ABL-Verhältnisse auf einer logarithmischen Skala (*LRATIO*) wird eine konstante Gesamtzahl K_Y aller peripheren Zellen (d.h. proliferierende, leukämische Zellen Y und gesunde, periphere Zellen) angenommen. Somit ergibt sich für das logarithmierte BCR-ABL/ABL Verhältnis:

$$LRATIO(t) = \log_{10} \left(\frac{Y}{Y + 2(K_Y - Y)} \right) \quad (4.4)$$

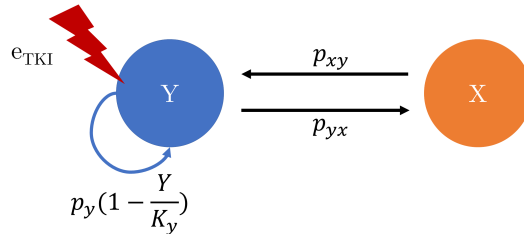


Abbildung 4.3.: Schematische Darstellung des CML Modells *ohne* immunologische Komponente

4.3.2. CML-Modell *mit* immunologischer Komponente (Immunmodell)

Das CML-Modell *mit* immunologischer Komponente (im Folgenden *Immunmodell* genannt, siehe Abbildung 4.4) stellt eine Erweiterung des vereinfachten CML-Modells *ohne* immunologische Komponente um eine Population CML-spezifischer Immunzellen (bezeichnet als Z) dar, welche proliferierende Zellen Y mit einer Interaktionsrate m eliminieren. Wenn keine Stimulation der Immunzellen Z durch leukämische Zellen Y besteht, verbleiben die Immunzellen Z auf einem konstanten, niedrigem Basisniveau. Dies wird durch eine konstante, aber niedrige Immunzellbildungsrate r_z und eine konstante Apoptoserate a der Immunzellen erreicht. Weiterhin werden die Immunzellen Z in Anwesenheit leukämischer Zellen Y mit einer Proliferationsrate p_Z zur Zellteilung angeregt. Diese Proliferation wird allerdings durch die Immuninhibitionskonstante K_Z

4. Material und Methoden

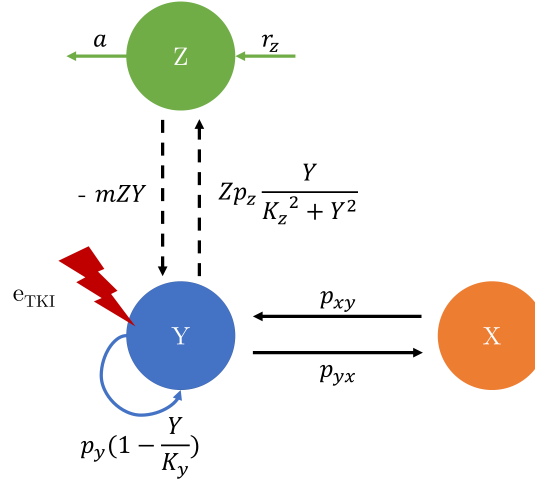


Abbildung 4.4.: Schematische Darstellung des CML-Modells *mit immunologischer Komponente*

bei hohen Leveln leukämischer Zellen Y unterdrückt. Für das Immunmodell ergeben sich also folgende Differenzialgleichungen:

$$\frac{dX}{dt} = p_{YX} * Y - p_{XY} * X \quad (4.5)$$

$$\frac{dY}{dt} = p_{XY} * X - p_{YX} * Y + p_Y * \left(1 - \frac{Y}{K_Y}\right) * Y - m * Z * Y - e_{TKI} * Y \quad (4.6)$$

$$\frac{dZ}{dt} = r_z + Z * p_z * \frac{Y}{K_z^2 + Y^2} - a * Z \quad (4.7)$$

Die Stimulation des Immunsystems durch leukämische Zellen bei einer gleichzeitigen Hemmung durch hohe Level leukämischer Zellen resultiert in einer Immunantwort, welche nur für intermediäre Werte leukämischer Zellen effizient ist. Der Bereich, für den die Leukämie-induzierte Proliferation der Immunzellen die Apoptoserate der Immunzellen übersteigt, wird im Folgenden als Immunfenster W bezeichnet. Dieses ist in Abbildung 4.5 visualisiert und wird durch folgendes Intervall definiert:

$$W = [Y_{MIN}, Y_{MAX}] = \left[\frac{p_z}{2a} - \sqrt{\frac{p_z^2}{4a^2} - K_z^2}, \frac{p_z}{2a} + \sqrt{\frac{p_z^2}{4a^2} - K_z^2} \right] \quad (4.8)$$

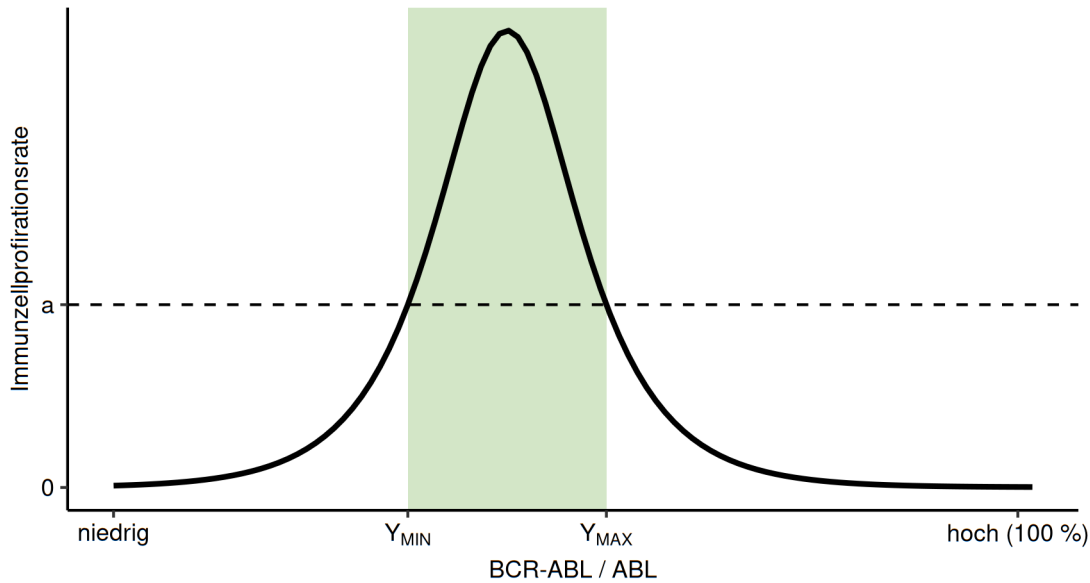


Abbildung 4.5.: **Definition des Immunfensters:** Die Immunzellproliferationsrate $p_Z * \frac{Y}{K_Z^2 + Y^2}$ ist in Abhängigkeit der Zahl leukämischer Zellen Y (hier dargestellt in Form des daraus berechneten BCR-ABL/ABL Verhältnisses auf einer logarithmischen Skala) dargestellt. Das Immunfenster beschreibt den Bereich leukämischer Zellen (grüner Hintergrund) zwischen Y_{MIN} und Y_{MAX} , für welchen die Proliferationsrate der Immunzellen die Apoptoserate a übersteigt.

Die Herleitung des Immunfensters kann dem Kapitel A.1 entnommen werden.

Das Immunfenster W ist weiterhin nur existent, wenn für die Parameter a , p_Z und K_Z gilt:

$$\frac{p_Z^2}{4a^2} > K_Z^2 \quad (4.9)$$

Anstatt ausschließlich von einer konstanten Behandlungsintensität $e_{TKI} = e_{TKI_0}$ auszugehen, wurde im Rahmen dieser Arbeit für Patienten mit einem Immunfenster ebenso eine optimierte Behandlungsstrategie vorgeschlagen, bei welcher die TKI-Eliminationsrate e_{TKI} verringert wird, wenn die leukämischen Zellen Y die untere Grenze des Immunfensters (siehe Formel 4.8) erreichen. Dies wird über eine Multiplikation der TKI-Eliminationsrate e_{TKI_0} mit einer sigmoiden Funktion erreicht:

$$e_{TKI} = e_{TKI_0} * \frac{1}{1 + e^{\frac{Y}{0,01} - \frac{Y_{MIN}}{0,01}}} \quad (4.10)$$

4. Material und Methoden

Ein Beispiel für den Verlauf einer solchen Funktion ist in Abbildung 4.6 dargestellt.

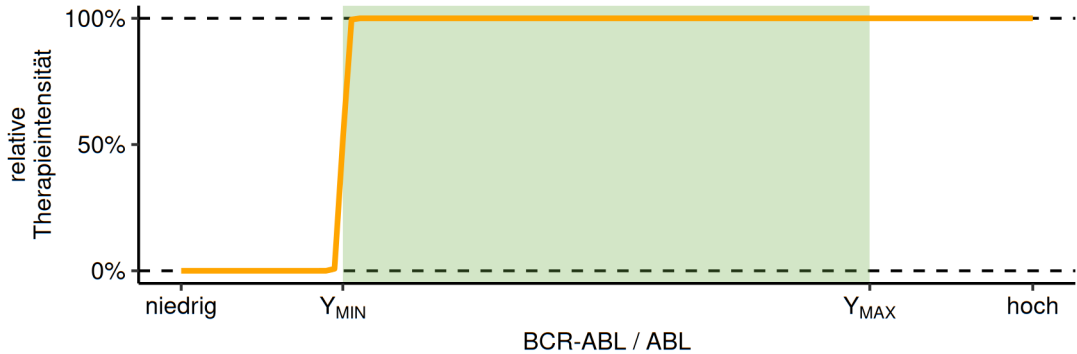


Abbildung 4.6.: **Funktion zur Optimierung der Behandlungsintensität:** Dargestellt ist die optimierte Therapieintensität e_{TKI} (orange Linie) in Abhängigkeit des BCR-ABL/ABL Verhältnisses nach Gleichung 4.10 in Relation zur ursprünglichen, nicht angepassten Therapieintensität e_{TKI_0} . Das Immunfenster ist als grüner Bereich zwischen Y_{MIN} und Y_{MAX} gekennzeichnet.

4.3.3. Allgemeines Vorgehen zur Modellanpassung

Um möglichst eindeutige Schätzungen für die Parameter des Modells zu erhalten, wurde die Anzahl der freien Parameter auf 5 beschränkt. Für die Interaktionsrate m , die Größe des proliferierenden Kompartiments K_Y , die Proliferationsrate leukämischer Zellen p_Y , die Immunzellbildungsrate r_z und die Immunzellapoptoserate a wurden für alle Patienten identische, konstante Werte verwendet. r_z und a wurden auf die Werte 200 *Zellen/Monat*, respektive 2 *Monate⁻¹* gesetzt, um eine geringe Basisgröße des Immunkompartiments von 100 Zellen zu erreichen. Für die Größe des proliferierenden Kompartiments K_Y wurde eine maximale Zahl von 1 Million Zellen angenommen (Michor et al., 2005; Roeder et al., 2006; Fassoni et al., 2018). Die Interaktionsrate m wurde auf den niedrigen Wert $1 * 10^{-4}$ *Zellen⁻¹Monat⁻¹* gesetzt, um einen lediglich minimalen Effekt des immunologischen Basislevels auf die leukämischen Zellen zu garantieren.

Eindeutige Schätzungen für den Therapieeffekt e_{TKI_0} und die Proliferationsrate leukämischer Zellen p_Y können anhand von Messwerten *vor* dem TKI-Absetzen nicht gleichzeitig vorgenommen werden, da der initiale BCR-ABL/ABL Abfall lediglich auf der Differenz $p_Y - e_{TKI_0}$ beider Parameter und nicht auf den einzelnen Parameterwerten beruht. Daher wurden für die Schätzung einer mittleren Proliferationsrate Messwerte *nach* (d.h. $e_{TKI} = 0$) Absetzen des TKI von allen Patienten mit einem Rezidiv verwen-

det. Dabei wurde angenommen, dass das Absetzen von TKIs selbst keinen Effekt auf die Proliferationsrate von leukämischen Zellen besitzt. Mittels dieses Verfahren ergab sich eine mittlere Proliferationsrate $p_Y = 1,658 \text{ Monat}^{-1}$, welche für alle Patienten verwendet wurde (siehe auch Kapitel 4.3.5).

Die verbleibenden Parameter sind die Transitionsraten p_{XY} und p_{YX} , die TKI-Eliminationsrate e_{TKI_0} und für das Immunmodell zusätzlich die beiden immunologischen Parameter K_Z und p_Z . Diese wurden unter Anwendung eines Approximate Bayesian Computation (ABC) Ansatzes (*R* Version 3.4.4, angepasste Version des Pakets *EasyABC* Version 1.5) individuell für jeden Patienten geschätzt. Konkret erfolgte dabei die Anwendung eines sequentiellen ABC-Algorithmus nach Lenormand (Lenormand et al., 2013). Ausgehend von einer Gleichverteilung der Parameter innerhalb der in Tabelle 4.1 genannten Bereiche (der sogenannten *prior distribution*) erfolgt hierbei initial das zufällige Ziehen einer definierten Zahl von Parameterkombinationen. Für jede Parameterkombination wurden anschließend die quadratischen Abstände zwischen den einzelnen logarithmierten BCR-ABL/ABL Messwerten und den korrespondierenden $LRATIO(t)$ -Werten des Fits berechnet, welche die Exaktheit der jeweiligen Anpassung widerspiegeln. Auf Basis der Parameterkombinationen und der zugehörigen Distanzen erfolgte die Berechnung der sogenannten *posterior distribution*, welche die anhand dieser Ergebnisse ermittelte wahrscheinliche Verteilung der Parameter widerspiegelt. Es erfolgte ein erneuter Durchlauf dieses Algorithmus, wobei nun die *posterior distribution* als neue *prior distribution* für das Ziehen der Parameter verwendet wurde. Dieses Vorgehen wurde bis zur Erfüllung eines bestimmten Abbruchkriterium wiederholt, sodass eine schrittweise Verbesserung der Modellanpassung an die BCR-ABL/ABL Messwerte erfolgte. Als Abbruchkriterium wurde in dieser Arbeit eine Abweichung der berechneten $LRATIO(t)$ -Werte von den beobachteten BCR-ABL/ABL Messwerten von weniger als 5% verwendet. Aus den Parameterkombinationen der letzten *posterior distribution* wurde für jeden Patienten schließlich jeweils die Kombination verwendet, die den $LRATIO(t)$ -Verlauf mit den geringsten quadratischen Abweichungen von den logarithmierten BCR-ABL/ABL Messwerten ergibt.

Eine Berücksichtigung von BCR-ABL/ABL Messungen unterhalb der Detektionsschwelle erfolgte analog zum Vorgehen bei der Anpassung des bi-exponentiellen Modells (siehe Kapitel 4.2.2).

4. Material und Methoden

Parameter	Einheit	Minimalwert	Maximalwert
p_Z	<i>Zellen/Monat</i>	$1 * 10^{-8}$	$1 * 10^8$
p_{YX}	<i>Monat⁻¹</i>	$1 * 10^{-5}$	1,0
p_{XY}	<i>Monat⁻¹</i>	$1 * 10^{-6}$	1,0
e_{TKI_0}	<i>Monat⁻¹</i>	0,1	100
K_Z	<i>Zellen</i>	1,0	$1 * 10^4$
p_Y	<i>Monat⁻¹</i>	0,1	10

Tabelle 4.1.: **Parameterbereiche der Modellanpassung:** Die Schätzung der Parameter p_{XY} , p_{YX} , e_{TKI_0} , K_Z , p_Z und p_Y mittels ABC erfolgte innerhalb der hier genannten Grenzen. Die Schätzung von p_Y erfolgte nur bei der Bestimmung der medianen Proliferationsrate, die Bestimmung von K_Z und p_Z nur für das Immunmodell (siehe auch Kapitel 4.3.5).

4.3.4. Berechnung der Anfangsbedingungen

Die initiale Zahl proliferierender Zellen Y_0 wurde aus dem initialen BCR-ABL/ABL Verhältnis berechnet:

$$Y_0 = K_Y \frac{2 * \frac{BCR-ABL}{ABL}}{1 + \frac{BCR-ABL}{ABL}} \quad (4.11)$$

Falls keine initiale BCR-ABL Messung für den entsprechenden Patienten vorlag, erfolgte eine Abschätzung des initialen BCR-ABL/ABL Verhältnisses anhand des bi-exponentiellen Fits des Patienten.

Unter der Annahme einer konstanten Zellzahl in Y_0 wurden die initialen, positiven Zellzahlen in X_0 und Z_0 berechnet, welche sich in einem dynamischen Gleichgewicht einstellen würden:

$$X_0 = \frac{p_{YX}}{p_{XY}} * Y_0 \quad (4.12)$$

$$Z_0 = - \frac{r_z}{p_Z \frac{Y_0}{K_Z^2 + Y_0^2} - a} \quad (4.13)$$

Befindet sich Y_0 innerhalb des Immunfensters W (siehe Gleichung 4.8), existiert kein Fließgleichgewicht mit einem positiver Wert Z_0 . Für diesen Fall wurde vom Basislevel des Immunsystems, welches sich ohne eine Stimulation durch leukämische Zellen

ergeben würde, ausgegangen:

$$Z_0 = \frac{r_z}{a} \quad (4.14)$$

4.3.5. Anpassungsstrategien

Innerhalb dieser Arbeit wurde an mehreren Stellen eine Parameterschätzung für das mechanistische Modell vorgenommen. Dies erfolgte immer anhand des oben genannten allgemeinen Schema (siehe Kapitel 4.3.3 und 4.3.4), allerdings bestehen dabei Unterschiede in den geschätzten Parameter (mit/ohne K_Z , p_Z , p_Y , individuelle Schätzung oder Schätzung auf Gruppenebene), den verwendeten Messwerten (Daten vor/nach Absetzen bzw. gesamter Zeitraum) sowie den verwendeten Patienten (alle selektierten Patienten, nur selektierte Patienten mit Rezidiv) und der Wichtung der einzelnen Messwerte (bei Verwendung der Daten vor und nach dem Absetzen). In den folgenden Absätzen soll auf die verschiedenen Anpassungsstrategien einzeln eingegangen werden. Eine Übersicht zu den verschiedenen Anpassungsstrategien ist im Anschluss in Tabelle 4.2 dargestellt.

Anpassungsstrategie A: Schätzung der medianen Proliferationsrate leukämischer Zellen

Da eindeutige Schätzungen für den Therapieeffekt e_{TKI_0} und die Proliferationsrate leukämischer Zellen p_Y anhand von Messwerten vor dem TKI-Absetzen nicht gleichzeitig vorgenommen werden können (siehe Kapitel 4.3.3), erfolgte die Schätzung einer mittleren Proliferationsrate anhand von Messwerten *nach* Absetzen des TKI (d.h. $e_{TKI} = 0$). Dazu erfolgte eine Anpassung aller in Tabelle 4.1 genannter Parameter an die Messwerte der Patienten mit einem Rezidiv, welche *nach* Absetzen der Therapie gemessen wurden (d.h. eine Anpassung an den erneuten Anstieg des BCR-ABL/ABL-Verhältnisses durch eine erneute, ungehemmte Proliferation der leukämischen Zellen nach Therapiestopp). Der Medianwert ($p_Y = 1,658 \text{ Monate}^{-1}$) der geschätzten Proliferationsraten von Patienten mit einem Rezidiv wurde als konstanter Wert für alle Patienten in allen weiteren Anpassungen verwendet.

Anpassungsstrategie B: Parameterschätzung für das CML-Modell *ohne* immunologische Komponente

Für das CML-Modell *ohne* immunologische Komponente erfolgte eine Anpassung der Parameter p_{XY} , p_{YX} und e_{TKI_0} für alle Patienten an die Messwerte *vor* Therapieabsetzen.

Anpassungsstrategie C: Parameterschätzung für das Immunmodell mit *generischer* immunologische Komponente

Für das Immunmodell mit *generischer* immunologischer Komponente erfolgte eine Anpassung der Parameter p_{XY} , p_{YX} , e_{TKI_0} , p_Z und K_Z für alle Patienten. Die Anpassung der Parameter p_{XY} , p_{YX} , e_{TKI_0} erfolgte dabei ebenso auf individueller Ebene an die Messwerte *vor* Therapieabsetzen, die Anpassung der Immunparameter p_Z und K_Z allerdings auf Gruppenebene an das Rückfallverhalten der Gruppe. Dies wurde erreicht, indem für verschiedene Wertepaare $(K_Z; p_Z)$ je eine individuelle Anpassung der Parameter p_{XY} , p_{YX} und e_{TKI_0} für alle Patienten durchgeführt wurde. Die beste Schätzung für K_Z und p_Z wurde ermittelt, indem für jedes Wertepaar $(K_Z; p_Z)$ das Rezidivverhalten der Gruppe mit den klinischen Daten verglichen wurde. Dies erfolgte durch eine Berechnung des mittleren Abstandes zwischen der Kaplan-Meier-Kurve der klinischen Daten und der Simulationsergebnisse. Die sich ergebenden optimalen Werte für K_Z und p_Z wurden für die Simulationen mit generischem Immunsystem bei allen Patienten genutzt.

Anpassungsstrategie D: Parameterschätzung für das Immunmodell mit *individueller* immunologischer Komponente

Für das Immunmodell mit *individueller* immunologischer Komponente erfolgte eine Anpassung der Parameter p_{XY} , p_{YX} , e_{TKI_0} , p_Z und K_Z für alle Patienten an die Messwerte *vor* Therapieabsetzen.

Anpassungsstrategie E: Parameterschätzung für das Immunmodell mit *individueller* immunologischer Komponente inklusive Daten *nach* dem TKI-Absetzen

In einem weiteren Ansatz erfolgte für das Immunmodell mit *individueller* immunologischer Komponente eine Anpassung der Parameter p_{XY} , p_{YX} , e_{TKI_0} , p_Z und K_Z für alle Patienten an die Messwerte *vor und nach* Therapieabsetzen. Da nach Therapieabsetzen bei Patienten mit einem Rezidiv meist nur wenige Messwerte vorliegen,

im Gegensatz dazu allerdings viele Messpunkte vor dem Therapieabsetzen, erfolgte für diese Anpassungsstrategie eine unterschiedliche Wichtung der Messwerte vor und nach dem Absetzen der Therapie, um auch eine gute Beschreibung des Rückfallverhaltens zu erzielen. Bei k Messwerten vor Absetzen und l Messwerten nach Absetzen erfolgte eine Wichtung der Messwerte vor dem Absetzen mit $\frac{1}{2} + \frac{l}{2k}$ und eine Wichtung der Messwerte nach dem Absetzen mit $\frac{1}{2} + \frac{k}{2l}$, sodass jeweils eine gleiche Wichtung für den Zeitraum vor und nach Absetzen erreicht wurde. Dabei wurden das Verhältnis von k und l auf den Bereich $[0, 25; 4]$ beschränkt, Messwerte einer Seite wurden also maximal 4-fach gegenüber Messwerten der anderen Seite gewichtet. Dies vermeidet eine zu starke Wichtung einzelner Messwerte und somit einen zu starken Einfluss stochastischer Effekte einzelner Messwerte auf die gesamte Anpassung.

4. Material und Methoden

Anpassungsstrategie	A	B	C	D	E
Anpassung p_{XY}	indiv.	indiv.	indiv.	indiv.	indiv.
Anpassung p_{YX}	indiv.	indiv.	indiv.	indiv.	indiv.
Anpassung p_Y	indiv.	A	A	A	A
Anpassung e_{TKI_0}	indiv.	indiv.	indiv.	indiv.	indiv.
Anpassung p_Z	indiv.	nein	generisch	indiv.	indiv.
Anpassung K_Z	indiv.	nein	generisch	indiv.	indiv.
Messwerte vor/nach Absetzen	nach	vor	vor	vor	alle
Patientenkohorte	Rezidiv	alle	alle	alle	alle
Modell mit immunologischer Komponente	ja	nein	ja	ja	ja

Tabelle 4.2.: **Anpassungsstrategien:** Überblick über die verschiedenen Anpassungsstrategien (A–E) in Hinblick darauf, welche Parameter geschätzt werden, ob diese individuell oder generisch geschätzt werden (indiv. = individuelle Schätzung; generisch = Schätzung auf Gruppenebene; A = Verwendung des in Anpassungsstrategie A ermittelten Wertes), die verwendeten Messwerte (Daten vor/nach Absetzen bzw. gesamter Zeitraum) sowie die verwendeten Patienten (alle Patienten, nur Patienten mit Rezidiv). Weitere Details können den einzelnen Absätzen des Abschnitts 4.3.5 entnommen werden.

4.3.6. Sensitivitätsanalysen

Um die Funktionsweise der beiden mathematischen Modelle besser zu verstehen, erfolgte für das CML-Modell *ohne* immunologische Komponente und das CML-Modell *mit* immunologischer Komponente jeweils eine Sensitivitätsanalyse. Dazu wird der Einfluss einer Veränderung (d.h. Erhöhung/Verringerung) eines einzelnen Parameters des Modells auf den simulierten BCR-ABL/ABL Verlauf untersucht, während die anderen Parameter konstant gehalten werden. Als Ausgangswert für die einzelnen Parameter wurde dabei für jeden Parameter jeweils der Medianwert der 100 besten mittels ABC ermittelten Anpassungen jedes Patienten gewählt (siehe 4.3.5 Anpassungsstrategie E). Die Parameter wurden im Bereich 1/10 bis zu dem 10-fachen des Mittelwertes variiert und die resultierenden BCR-ABL/ABL Verläufe grafisch dargestellt. Im Falle des CML-Modells *ohne* immunologische Komponente erfolgte diese Darstellung als

BCR-ABL/ABL Zeitverlauf, im Falle des Immunmodells als Darstellung der Attraktorlandschaft (siehe Kapitel 4.3.7).

4.3.7. Phasenportraits

Die Darstellung des Rezidivverhaltens nach Absetzen der TKI-Therapie in Abhängigkeit der Zahl leukämischer Zellen und Immunzellen erfolgte anhand von Phasenportraits. Zur besseren Darstellung wurde der Phasenraum dabei auf die zweidimensionale Fläche $X = \frac{p_{YX}}{p_{XY}} * Y$ beschränkt, wobei angenommen wurde, dass sich die leukämischen Zellen in X und Y annähernd in einem Fließgleichgewicht zueinander befinden. Zusammen mit einem fehlenden TKI-Effekt nach Therapiestopp (d.h. $e_{TKI} = 0$) ergibt sich das folgende zweidimensionale System:

$$\frac{dY}{dt} = p_Y * \left(1 - \frac{Y}{K_Y}\right) * Y - m * Z * Y \quad (4.15)$$

$$\frac{dZ}{dt} = r_z + Z * p_Z * \frac{Y}{K_Z^2 + Y^2} - a * Z \quad (4.16)$$

Ausgehend vom Sattel-Knoten-Gleichgewichtszustand E_S (Berechnung siehe Kapitel A.2) erfolgte eine schrittweise numerische Berechnung der Punkte, für die das System (Gleichung 4.15–4.16) in den Attraktor E_S konvergiert. Diese Punkte ergeben die Separatrix, welche die Anziehungsbereiche der Attraktoren E_H und E_L trennt.

Die konkrete Umsetzung dieses Verfahrens erfolgte mit Hilfe von *Mathematica* (Version 11.2) und eines von Artur Fassoni bereitgestellten Skripts.

4.3.8. Regressionsmodelle

Zur Berechnung des durchschnittlichen BCR-ABL/ABL-Anstiegs jedes Patienten während der Simulation einer 12-monatigen Dosisreduktion wird ein lineares Regressionsmodell verwendet. Anschließend erfolgt eine Veranschaulichung des klinischen Rezidivverhaltens in Abhängigkeit des berechneten BCR-ABL/ABL-Anstiegs mit Hilfe eines logistischen Regressionsmodells. Für beide Regressionsmodelle wird die Software *R* (Version 3.4.4, Paket *stats*) genutzt.

4.3.9. Statistische Tests

Zum Vergleich der Verteilungen der Parameter p_{XY} , p_{YX} , e_{TKI_0} , K_Z und p_Z des mechanistischen Modells zwischen Patienten mit und ohne Rezidiv wurde ein Kolmogorov-

4. *Material und Methoden*

Smirnov-Test als Anpassungstest mit einem 5% Signifikanzniveau genutzt (*R* Version 3.4.4, Paket *stats*).

5. Ergebnisse

5.1. Patientencharakteristika

Grundlage dieser Arbeit stellen BCR-ABL Verlaufsmessungen von CML-Patienten mehrerer klinischer Studien dar, welche unter TKI-Therapie und nach Absetzen des TKI erhoben wurden. Aus diesen Daten erfolgte anhand mehrerer Kriterien eine Selektion von Patienten, welche für die folgenden mathematischen Analysen geeignet sind (siehe Kapitel 4.1.2). Zur Vermeidung eines systematischen Fehlers durch die verwendeten Selektionskriterien, erfolgte ein Vergleich der klinischen Charakteristika der ursprünglichen, kompletten Patientenkohorte (n=60) mit den selektierten Patienten (n=21). Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.1 und Tabelle 5.1 dargestellt.

Die Patienten der kompletten Patientenkohorte (K) und die selektierten Patienten (S) wurden durchschnittlich 78 Monate (K) bzw. 85 Monate (S) mit einem TKI behandelt (Abb. 5.1A). Nach Absetzen des TKI zeigte sich in beiden Gruppen bei etwa der Hälfte der Patienten ein Rezidiv (K: 45%, S: 48%, Abb. 5.1B). Für 5 Patienten der kompletten Patientenkohorte lagen lediglich unvollständige Informationen zum Rückfallverhalten vor. Dabei trat das Rezidiv in beiden Gruppen früh auf, die mediane Zeit bis zu einem Rückfall betrug 3,0 (K) bzw. 2,7 Monate (S) (Abb. 5.1C). Die Nachbeobachtungszeit von Patienten ohne ein Rezidiv war in beiden Gruppen ebenso vergleichbar (K: 27 Monate, S: 22 Monate, Abb. 5.1D). Sowohl die Patienten der kompletten Kohorte, als auch die selektierten Patienten zeigten überwiegend initiale BCR-ABL/ABL Messwerte oberhalb von MR3 (Abb. 5.1E). Da für eine korrekte Schätzung des initialen, steilen BCR-ABL/ABL Abfalls nur Patienten mit einem initialen BCR-ABL/ABL Messwert höher als MR3 selektiert wurden (siehe Kapitel 4.1.2), ergibt sich ein leichter Unterschied für die medianen initialen BCR-ABL/ABL Messwerte (K: 13%, S: 37%). Imatinib wurde in beiden Gruppen als häufigster TKI eingesetzt (K: 72%, S: 95%, Abb. 5.1F). Dasatinib wurde bei keinem selektierten Patienten eingesetzt, allerdings auch nur bei 8% der kompletten Patientenkohorte. Nilotinib fand in beiden Gruppen bei wenigen Patienten Anwendung (K: 3%, S: 5%). Patienten mit Kombinationstherapi-

5. Ergebnisse

Parameter	komplette Patientenkohorte	selektierte Patienten
Rezidive ¹	45% (25/55)	48% (10/21)
Zeit in Remission (Monate) ²	3,0 [1,0–38]	2,7 [1,4–38]
Rezidiv < 6 Monate ³	80% (20/25)	90% (9/10)
Remission ¹	55% (30/55)	52% (11/21)
Nachbeobachtungszeit (Monate) ^{2,4}	27 [1–84]	22 [11–84]
initiales BCR-ABL/ABL Level ^{2,5}	13% [0,001%–441%]	37% [0,1%–441%]
Behandlungszeit (Monate) ²	78 [21–205]	85 [50–165]
TKI		
Imatinib	72% (43/60)	95% (20/21)
Dasatinib	8% (5/60)	
Nilotinib	3% (2/60)	5% (1/21)
Kombination/Therapiewechsel ⁵	17% (10/60)	

Tabelle 5.1.: **Patientencharakteristika:** Vergleich der klinischen Patientencharakteristika zwischen der kompletten Patientenkohorte (n=60) und den selektierten Patienten (n=21). ¹Für 5 Patienten lagen lediglich unvollständige Informationen zum Rückfallverhalten vor. Der Anteil bezieht sich auf die 55 Patienten mit vollständig vorliegenden Informationen. ²Es erfolgt die Angabe des Medianwertes und die Angabe des Bereichs in eckigen Klammern. ³Der Anteil bezieht sich auf alle Patienten mit Rezidiv. ⁴Der Anteil bezieht sich auf alle Patienten ohne Rezidiv. ⁵Patienten mit einer Kombinationstherapie oder Therapiewechsel sowie Patienten mit initialen BCR-ABL/ABL Werten unterhalb MMR (0,1%) wurden bei der Patientenselektion ausgeschlossen (siehe Kapitel 4.1.2).

en oder Therapiewechsel (K: 17%) wurden bei der Patientenselektion ausgeschlossen (siehe Kapitel 4.1.2).

Insgesamt konnte somit kein größerer struktureller Unterschied zwischen der ursprünglichen, kompletten Patientenkohorte und den selektierten Patienten bezüglich der untersuchten Charakteristika gefunden werden. Weiterhin ist das Rezidivverhalten der Patienten (d.h. die Rezidivrate und das häufige Auftreten der Rezidive innerhalb von 6 Monaten) vergleichbar mit Ergebnissen der EURO-SKI und STIM-Studien (Sausselet al., 2018; Rousselot et al., 2014).

5.1. Patientencharakteristika

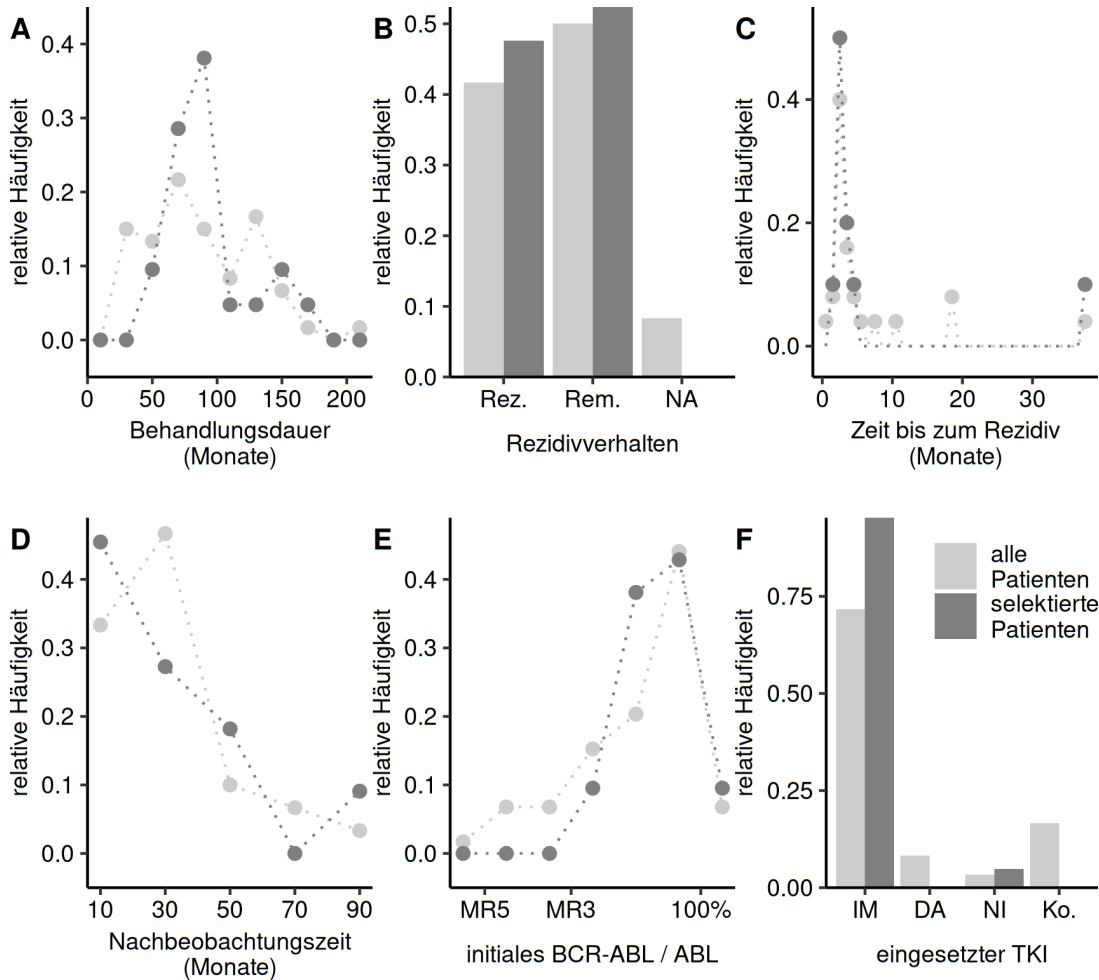


Abbildung 5.1.: **Patientencharakteristika:** Darstellung der klinischen Parameter der initialen 60 Patienten (helles Grau) sowie der 21 selektierten Patienten (dunkles Grau). Die Y-Achse stellt für die einzelnen Diagramme die relative Häufigkeit der einzelnen Parameter dar. **A:** Behandlungszeit bis zum Absetzen des TKI. **B:** Häufigkeit des Auftretens einer Remission (Rem.) oder eines Rezidivs (Rez.) nach Absetzen der TKI-Therapie. NA kennzeichnet einen unklaren Rückfallstatus des Patienten. **C:** Zeit bis zum Auftreten eines Rezidivs nach Absetzen des TKI. **D:** Nachbeobachtungszeit für Patienten ohne Rezidiv. **E:** initiale BCR-ABL/ABL Messwerte. **F:** eingesetzter TKI (IM=Imatinib, DA=Dasatinib, NI=Nilotinib, Ko.=Kombinationstherapie oder Therapiewechsel).

5.2. Struktureller Vergleich der Patienten mit und ohne Rezidiv

Im Folgenden wurden die BCR-ABL/ABL Verläufe der selektierten Patienten vor Absetzen der Therapie analysiert. Es wurde untersucht, ob eine Korrelation der Kinetik des BCR-ABL/ABL Abfalls mit dem Rezidivverhalten der Patienten besteht.

Hierfür erfolgte eine Anpassung des bi-exponentiellen Modells an die BCR-ABL/ABL Verläufe der einzelnen Patienten, wodurch für jeden Patienten der initiale, steile Abfall (α) und der spätere, langsamere Abfall (β) ermittelt wurde (siehe Kapitel 4.2). In Abbildung 5.2 sind die bi-exponentiellen Anpassungen für zwei repräsentative Patienten beispielhaft dargestellt, die Anpassungen für alle 21 selektierte Patienten finden sich in Abbildung A.1 und A.2.

Konkret erfolgte ein Vergleich der Dauer der gesamten TKI-Behandlungszeit (Abb. 5.3A) sowie unter Nutzung der durchgeführten Anpassung ein Vergleich der Behandlungszeit in tiefer molekularer Remission (MR4.5, d.h. eine BCR-ABL/ABL-Reduktion um 4,5 \log_{10} -Stufen, Abb. 5.3B) und der durch das bi-exponentielle Modell geschätzten BCR-ABL/ABL Werte zum Zeitpunkt des TKI-Absetzens (Abb. 5.3C) zwischen Patienten mit und ohne Rezidiv nach Absetzen des TKI. Weiterhin erfolgte ein Vergleich des initialen, steilen Abfalls (α), welcher einem TKI-Effekt auf periphere leukämische Zellen zugeschrieben wird sowie des späteren, flachen Abfalls (β), welcher einem TKI-Effekt auf leukämische Zellen im Knochenmark zugeschrieben wird, zwischen Patienten mit und ohne Rezidiv (Abb. 5.3D/E). Mittels eines Kolmogorov-Smirnov-Tests wurde untersucht, ob sich die Verteilungen der Parameter zwischen beiden Gruppen signifikant ($\alpha = 0,05$) unterscheiden.

Insgesamt zeigten sich dabei keine signifikanten Unterschiede bezüglich der untersuchten Parameter zwischen Patienten mit und ohne Rezidiv. Auch konnte kein Unterschied in der Verteilung der Parameter α und β zwischen beiden Patientengruppen gefunden werden (Abb. 5.3F). Allerdings zeigten Patienten mit einem Rezidiv nach Absetzen des TKI höhere geschätzte residuale BCR-ABL/ABL Werte als Patienten ohne ein Rezidiv, wobei die Unterschiede der Parameterverteilung ebenso nicht signifikant waren ($p = 0,06$, Abb. 5.3C).

Insgesamt konnten, unter Berücksichtigung der geringen Patientenzahl, keine offensichtlichen Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne Rezidiv nach Absetzen der TKI-Therapie festgestellt werden, welche zu einer Vorhersage des individuellen Rückfallverhaltens genutzt werden könnten.

5.2. Struktureller Vergleich der Patienten mit und ohne Rezidiv

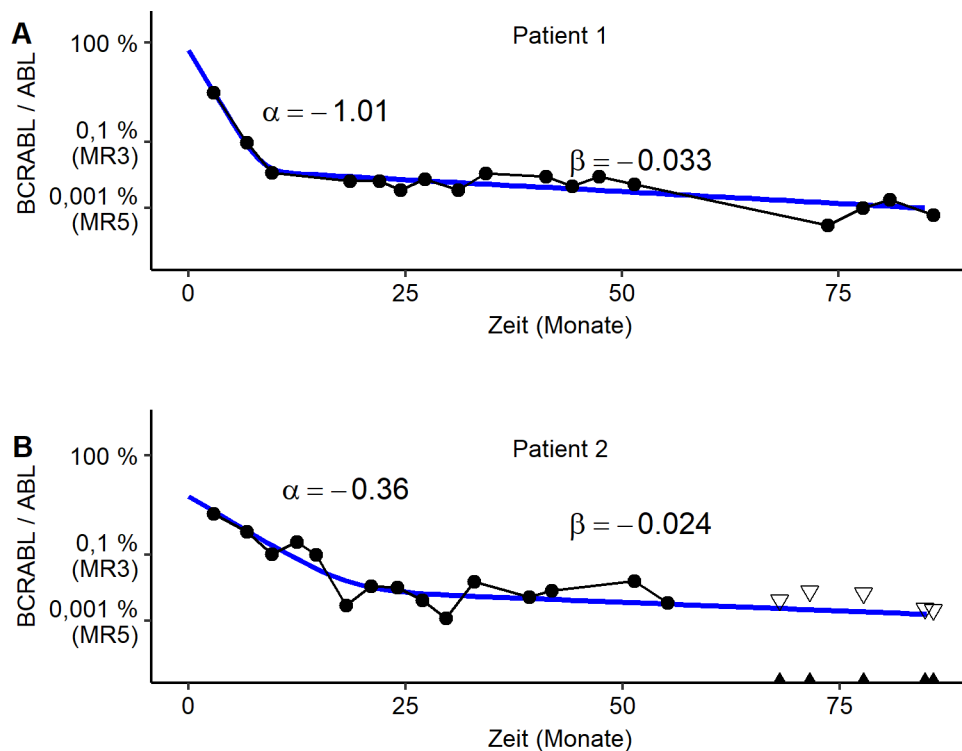


Abbildung 5.2.: **Anwendung des bi-exponentiellen Modells auf einzelne Patienten:** Darstellung der Anpassung des bi-exponentiellen Modells an zwei repräsentative Patienten. BCR-ABL/ABL Messungen sind als schwarze Punkte dargestellt. Schwarze Dreiecke zeigen die untere Detektionsschwelle für undetektierbare BCR-ABL Level an, welche anhand des gemessenen Referenzgens ABL berechnet wurde. Die korrespondierende bi-exponentielle Anpassung ist als blaue Linie auf einer logarithmischen Skala dargestellt und besteht aus einem initialen, steilen Abfall α und einem späteren, langsamen Abfall β . Es sind lediglich Daten bis zum Absetzen des TKI dargestellt. Die bi-exponentiellen Anpassungen für alle 21 Patienten sind in Abb. A.1 und A.2 dargestellt.

5. Ergebnisse

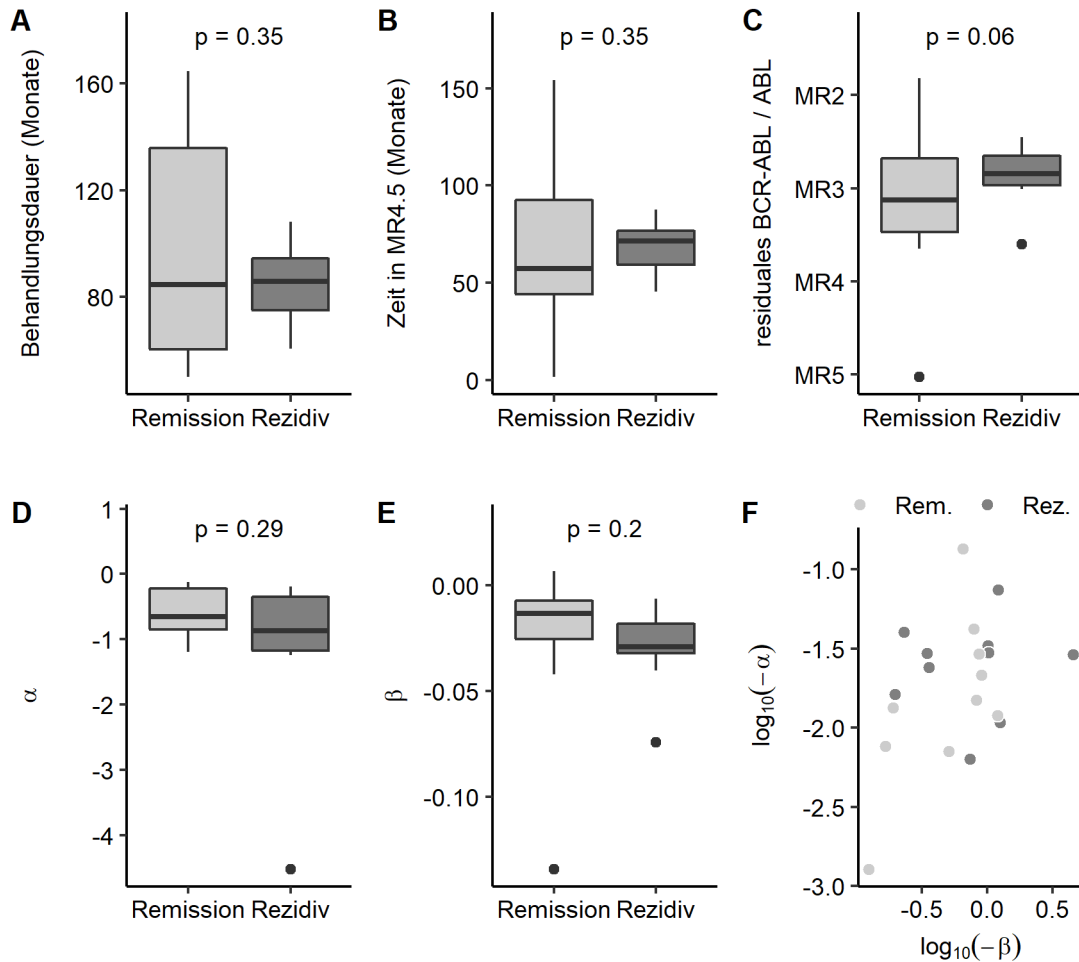


Abbildung 5.3.: **Vergleich des BCR-ABL/ABL Abfalls zwischen Patienten mit und ohne Rezidiv:** Vergleich der Charakteristik des BCR-ABL/ABL Abfalls zwischen Patienten, welche nach Therapiestopp ein Rezidiv erleiden (dunkles Grau) und Patienten, die in Remission verbleiben (helles Grau). Die korrespondierenden p-Werte der Kolmogorov-Smirnov-Tests zum Vergleich der Parameterverteilungen zwischen beiden Gruppen sind dargestellt. **A:** Behandlungszeit bis zum Absetzen des TKI. **B:** Behandlungszeit in tiefer molekularer Remission (MR4.5, d.h. eine BCR-ABL/ABL Reduktion um 4,5 \log_{10} -Stufen). **C:** BCR-ABL/ABL Werte zum Absetzzeitpunkt des TKI (geschätzt anhand der bi-exponentiellen Anpassung). **D:** Steilheit des initialen BCR-ABL/ABL Abfalls (α). **E:** Steilheit des späteren BCR-ABL/ABL Abfalls (β). **F:** Verteilung der Parameter α und β in beiden Patientengruppen (Rem.=Remission, Rez.=Rezidiv).

5.3. CML-Modell *ohne* immunologische Komponente

Im Folgenden soll nun die Frage beantwortet werden, ob bereits ein einfaches mathematisches Modell der CML-Therapie *ohne* immunologische Komponente in der Lage ist, die individuellen BCR-ABL/ABL Verläufe unter Therapie und nach Beendigung dieser korrekt zu beschreiben oder ob dazu eine Erweiterung des Modells notwendig ist. Weiterhin erfolgt eine Sensitivitätsanalyse, um den Einfluss der einzelnen Parameter innerhalb dieses Modells besser zu verstehen.

5.3.1. Aufbau des Modells

Dazu wird das in Kapitel 4.3.1 beschriebene Modell verwendet. Kurz zusammengefasst, basiert dieses Modell auf der dynamischen Aktivierung/Deaktivierung leukämischer Stammzellen, ihrer Proliferation und einem zytotoxischen Effekt des TKI auf proliferierende leukämische Zellen. Mathematisch betrachtet, können leukämische Zellen mit den Transitionsraten p_{XY} bzw. p_{YX} reversibel zwischen einem proliferierenden (Y) und einem ruhenden (X) Zustand wechseln. Proliferierende Zellen in Y vermehren sich mit einer Proliferationsrate p_Y bis zu einer Kompartimentgröße K_Y . Die TKI-Therapie eliminiert Zellen in Y mit einer Rate $e_{TKI} = e_{TKI_0}$ (siehe Kapitel 4.3.1 und Abbildung 4.3).

5.3.2. Sensitivitätsanalyse

Um die Funktionsweise des mathematischen Modells besser zu verstehen, wurde eine Sensitivitätsanalyse anhand eines „medianen“ Patienten durchgeführt, bei welchem die Einflüsse der einzelnen Parameter auf den BCR-ABL/ABL-Verlauf untersucht wurden (siehe Kapitel 4.3.6). Außerdem erfolgte eine Betrachtung des Einflusses der Behandlungszeit auf das Rezidivverhalten des medianen Patienten.

Proliferationsrate p_Y und TKI-Eliminationsrate e_{TKI_0}

Veränderungen der Parameter p_Y und e_{TKI_0} zeigen jeweils ähnliche Auswirkungen vor dem Absetzen des TKI: Eine Verringerung der Proliferationsrate der leukämischen Zellen p_Y bzw. eine Erhöhung des TKI-Effekts e_{TKI_0} führt zu einem steileren initialen Abfall α sowie einer Verschiebung des späteren, flachen Abfalls zu niedrigeren BCR-ABL/ABL-Werten mit einer lediglich geringen Beeinflussung der Steilheit β des späteren, flachen Abfalls (siehe Abbildung 5.4 und 5.5). Weiterhin zeigt sich, dass es trotz Therapie zu einer weiteren Proliferation der leukämischen Zellen bis zum

5. Ergebnisse

Erreichen der Kompartimentgröße K_Y kommt, wenn die Proliferationsrate p_Y die TKI-Eliminationsrate e_{TKI} überschreitet.

Wie bereits anhand der Differentialgleichungen (Gleichung 4.3 in Kapitel 4.3.1) ersichtlich, ist für die genannten Effekte lediglich die Differenz der Rate p_Y zur Rate e_{TKI} entscheidend. Ein Unterschied zwischen den beiden Parametern wird nach Absetzen des TKI sichtbar, da dann $e_{TKI} = 0$ gilt und der weitere BCR-ABL/ABL Verlauf unabhängig vom Wert des Parameters e_{TKI_0} ist. Entsprechend beeinflusst nur die Proliferationsrate p_Y die Geschwindigkeit des erneuten Anwachsens der leukämischen Zellen nach Absetzen des TKI, d.h. ein höherer Wert p_Y bewirkt einen steileren Anstieg der BCR-ABL/ABL-Kurve nach Therapiestopp.

Dies hat zur Folge, dass anhand von BCR-ABL/ABL Messungen vor Therapieabsetzen lediglich die Differenz von p_Y und e_{TKI} bestimmt werden kann, aber keine eindeutigen Aussagen über die beiden einzelnen Parameter möglich sind. Daher erfolgte die Ermittlung eines mittleren p_Y anhand des Wiederanstiegs des BCR-ABL/ABL Verhältnisses bei Patienten mit einem Rezidiv nach Absetzen der Therapie, d.h. für die Situation $e_{TKI} = 0$ (siehe Kapitel 4.3.5 Anpassungsstrategie A).

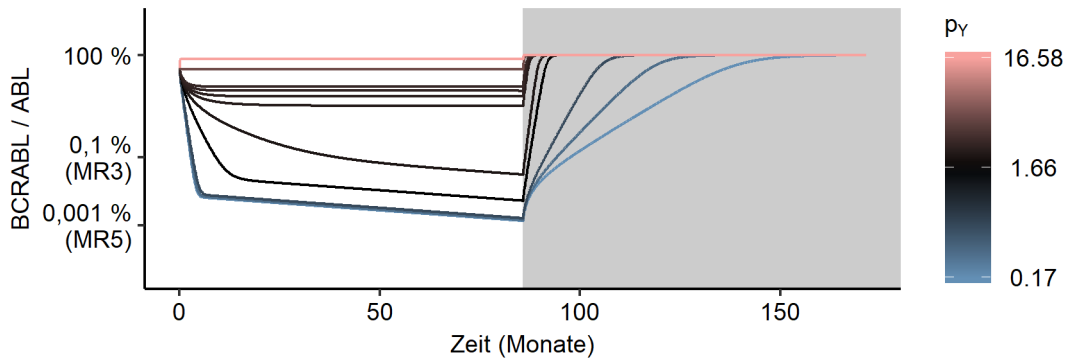


Abbildung 5.4.: **Sensitivitätsanalyse: Proliferationsrate p_Y (CML-Modell ohne immunologische Komponente):** Dargestellt sind die Simulationen eines medianen Patienten für verschiedene Werte der Proliferationsrate p_Y der leukämischen Zellen. Der jeweilige Wert des Parameters p_Y ist dabei durch die entsprechende Farbe der Linie auf einer logarithmischen Skala gekennzeichnet (blau: niedrig, schwarz: originaler Parameterwert des medianen Patienten, rot: hoch). Der dunkelgraue Hintergrund kennzeichnet die Zeit nach Absetzen des TKI.

5.3. CML-Modell ohne immunologische Komponente

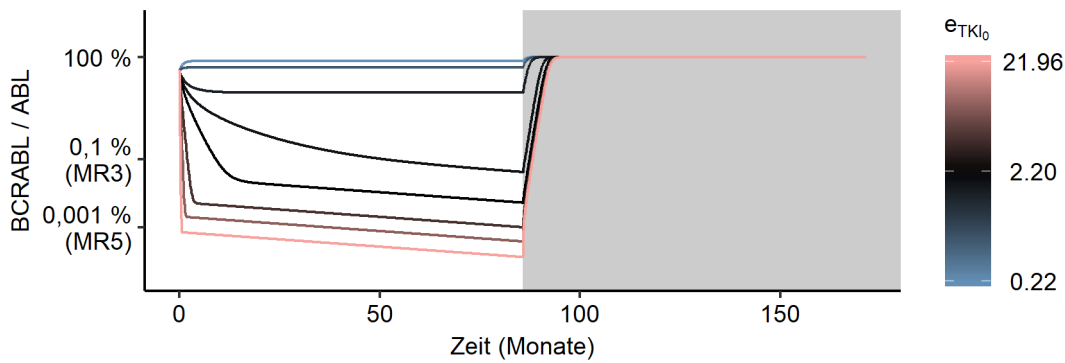


Abbildung 5.5.: **Sensitivitätsanalyse: TKI-Eliminationsrate e_{TKI_0} (CML-Modell ohne immunologische Komponente):** Dargestellt ist die Sensitivitätsanalyse für die TKI-Eliminationsrate e_{TKI_0} . Siehe auch Beschreibung von Abbildung 5.4.

Kompartimentgröße K_Y

Eine Veränderung der Kompartimentgröße K_Y zeigt keinen Effekt auf den Verlauf des BCR-ABL/ABL Verhältnisses (siehe Abbildung 5.6), da dieses lediglich den Anteil peripherer, leukämischer Zellen Y an der Gesamtzahl peripherer Zellen (d.h. Y und gesunde Zellen) widerspiegelt. Eine Veränderung von K_Y um einen bestimmten Faktor resultiert zwar in einer entsprechenden Skalierung aller Zellzahlen um diesen Faktor, beeinflusst allerdings nicht das BCR-ABL/ABL Verhältnis, da die Gesamtzahl peripherer Zellen und die initiale Zellzahl Y_0 ebenso auf K_Y basiert. Unterschiede ergeben sich allerdings bezüglich der Zeit, welche zum Erreichen einer vollständigen Eradikation leukämischer Zellen notwendig ist, da diese als Abfall leukämischer Zellen in X und Y unter den Grenzwert einer einzelnen leukämischen Zelle definiert wurde. Höhere Werte für K_Y würden entsprechend längere Behandlungszeiten zum Erreichen einer kompletten Eradikation notwendig machen.

5. Ergebnisse

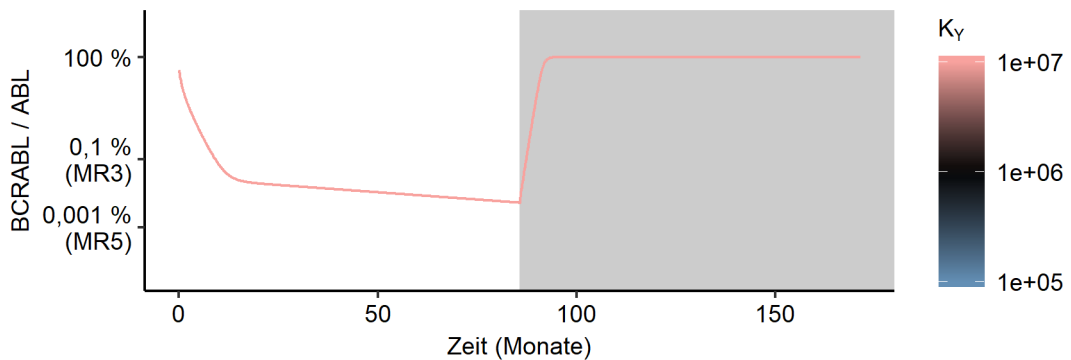


Abbildung 5.6.: **Sensitivitätsanalyse: Kompartimentgröße K_Y (CML-Modell ohne immunologische Komponente):** Dargestellt ist die Sensitivitätsanalyse für die Kompartimentgröße K_Y . Siehe auch Beschreibung von Abbildung 5.4. Die dargestellten Kurven liegen alle direkt übereinander, ein Einfluss von K_Y auf den Kurvenverlauf besteht nicht.

Transitionsrate p_{XY}

Eine Veränderung der Transitionsrate p_{XY} , d.h. der Aktivierungsrate ruhender leukämischer Zellen, beeinflusst die Steigung des sekundären, flachen Abfalls β , zeigt allerdings keinen relevanten Einfluss auf den initialen Abfall α und das Verhalten nach Absetzen des TKI (siehe Abbildung 5.7). Eine höhere Aktivierungsrate bewirkt eine effektivere Elimination leukämischer Zellen, da e_{TKI} lediglich auf proliferierende leukämische Zellen wirkt und führt somit zu einem steileren Abfall β .

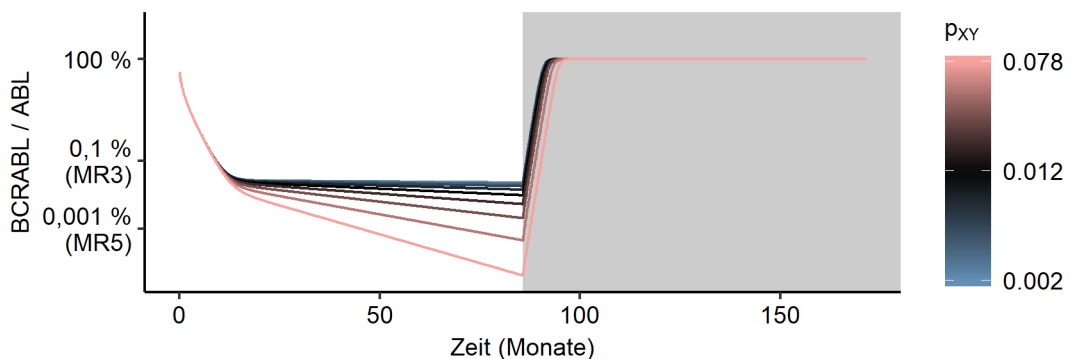


Abbildung 5.7.: **Sensitivitätsanalyse: Transitionsrate p_{XY} (CML-Modell ohne immunologische Komponente):** Dargestellt ist die Sensitivitätsanalyse für die Transitionsrate p_{XY} . Siehe auch Beschreibung von Abbildung 5.4.

Transitionsrate p_{YX}

Eine Veränderung der Transitionsrate p_{YX} , d.h. der Rate mit welcher aktive leukämische Zellen in einen ruhenden Zustand übergehen, beeinflusst, bis zu welchem Maße das BCR-ABL/ABL Level durch den initialen Abfall α reduziert wird, zeigt allerdings keinen relevanten Einfluss auf die Steigungen α und β (siehe Abbildung 5.8). Eine Erhöhung von p_{YX} resultiert in einem System, in welchem bei gleicher Zellzahl in Y mehr ruhende Zellen in X vorliegen, die also nicht durch eine TKI-Therapie eliminiert werden können. Dies führt bei unveränderter Aktivierungsrate p_{XY} zu einer Aktivierung von mehr leukämischen Zellen aus dem größeren X -Kompartiment und somit höheren BCR-ABL/ABL Leveln in der zweiten Phase des BCR-ABL/ABL Abfalls.

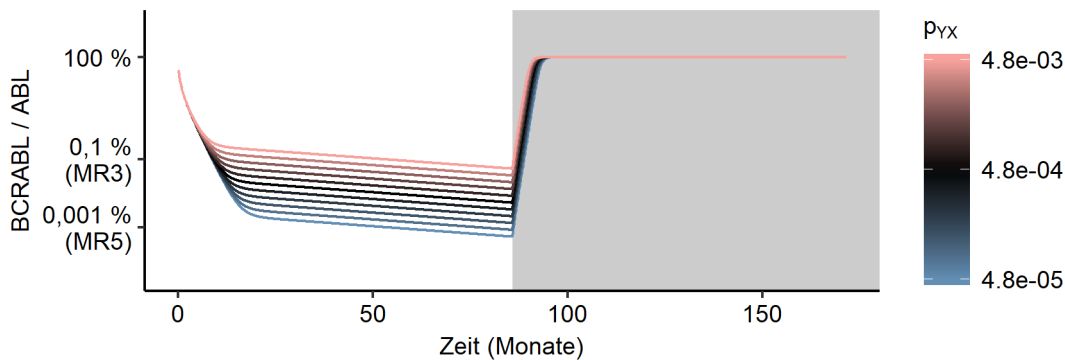


Abbildung 5.8.: **Sensitivitätsanalyse: Transitionsrate p_{YX} (CML-Modell ohne immunologische Komponente):** Dargestellt ist die Sensitivitätsanalyse für die Transitionsrate p_{YX} . Siehe auch Beschreibung von Abbildung 5.4.

Einfluss der Therapiedauer auf das Rückfallverhalten

Solang keine vollständige Eradikation leukämischer Zellen erreicht wird, kommt es innerhalb des vereinfachten Modells immer zu einem sofortigen Rezidiv (siehe Abbildung 5.9). Eine vollständige Eradikation wird allerdings nur unter langen Therapiezeiten erreicht und würde bei der angenommenen Kompartimentgröße K_Y (1 Million Zellen) eine Therapiedauer von 52,3 Jahren für den medianen Patienten benötigen. Höhere Werte für K_Y würden zu einer entsprechend längeren benötigten Therapiedauer führen, niedrigere Werte zu einer kürzeren Therapiedauer.

5. Ergebnisse

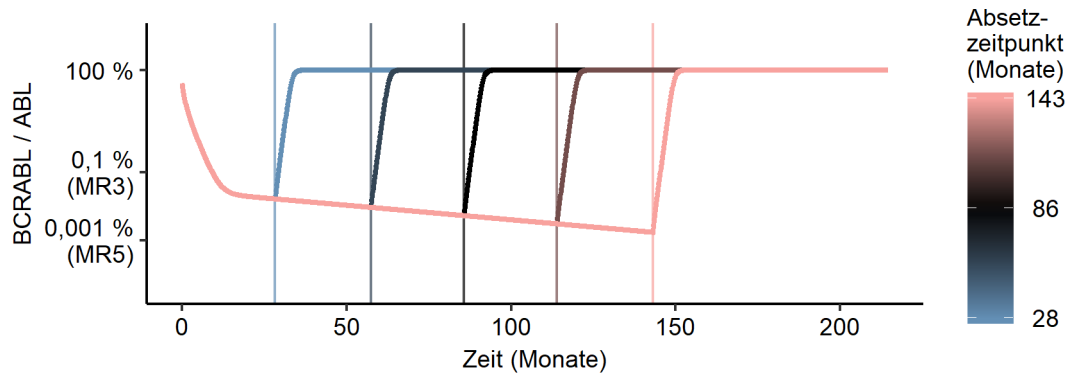


Abbildung 5.9.: **Einfluss der Behandlungsdauer (CML-Modell *ohne* immunologische Komponente)**: Dargestellt sind die Simulationen eines medianen Patienten für verschiedene Absetzzeitpunkte. Diese sind durch vertikale Linien in den korrespondierenden Farben dargestellt. Da keine vollständige Eradikation leukämischer Zellen erreicht wurde, führt das Absetzen des TKI bei den dargestellten Behandlungszeiten immer zu einem sofortigen Rezidiv des medianen Patienten.

Zusammenfassung

Den einzelnen Parametern des Modells konnten verschiedene, spezifische Auswirkungen auf den BCR-ABL/ABL-Verlauf zugeordnet werden. So beeinflusst die Differenz der Proliferationsrate p_Y und der Eradikationsrate e_{TKI} den initialen, steilen BCR-ABL/ABL Abfall α , während p_Y ebenso die Geschwindigkeit der Entwicklung eines Rezidiv steuert. Die Transitionsraten p_{XY} und p_{YX} wirken sich auf den Anstieg und die Höhe des zweiten, langsameren Abfalls β aus. Dabei kommt es unabhängig von den gewählten Parameterwerten immer zu einem Rezidiv, wenn keine vollständige Eradikation leukämischer Zellen erreicht wurde, welche eine sehr lange Therapiedauer voraussetzen würde.

5.3.3. Anpassung an die klinischen Daten

Um zu analysieren, wie gut das vereinfachte Modell *ohne* immunologische Komponente das Verhalten der Patienten unter und nach TKI-Therapie beschreiben kann, erfolgte eine Anpassung des Modells an die BCR-ABL/ABL Verläufe der 21 selektierten Patienten vor Absetzen der Therapie (siehe Kapitel 4.3.5 Anpassungsstrategie B).

Das Modell erlaubt eine gute Beschreibung des bi-exponentiellen BCR-ABL/ABL Abfalls sowie des Wiederanstiegs der BCR-ABL/ABL Level bei Patienten mit einem Rezidiv (siehe Abbildung 5.10A), versagt allerdings bei der Beschreibung einer Remission nach Absetzen des TKI (siehe Abbildung 5.10B). Durch das Fehlen einer Komponente

5.3. CML-Modell ohne immunologische Komponente

zur Kontrolle residualer leukämischer Zellen, kommt es bei allen Patienten zu einem Rezidiv, wenn keine komplette Eradikation leukämischer Zellen erreicht wurde (siehe Abbildung 5.11 und Tabelle 5.2). Damit steht das Modell im klaren Gegensatz zu den beobachteten klinischen Daten.

Die Modellanpassungen für alle Patienten sind in Abbildung A.3 und A.4 dargestellt, die zugehörigen ermittelten Parameterwerte sind in Tabelle A.1 aufgelistet.

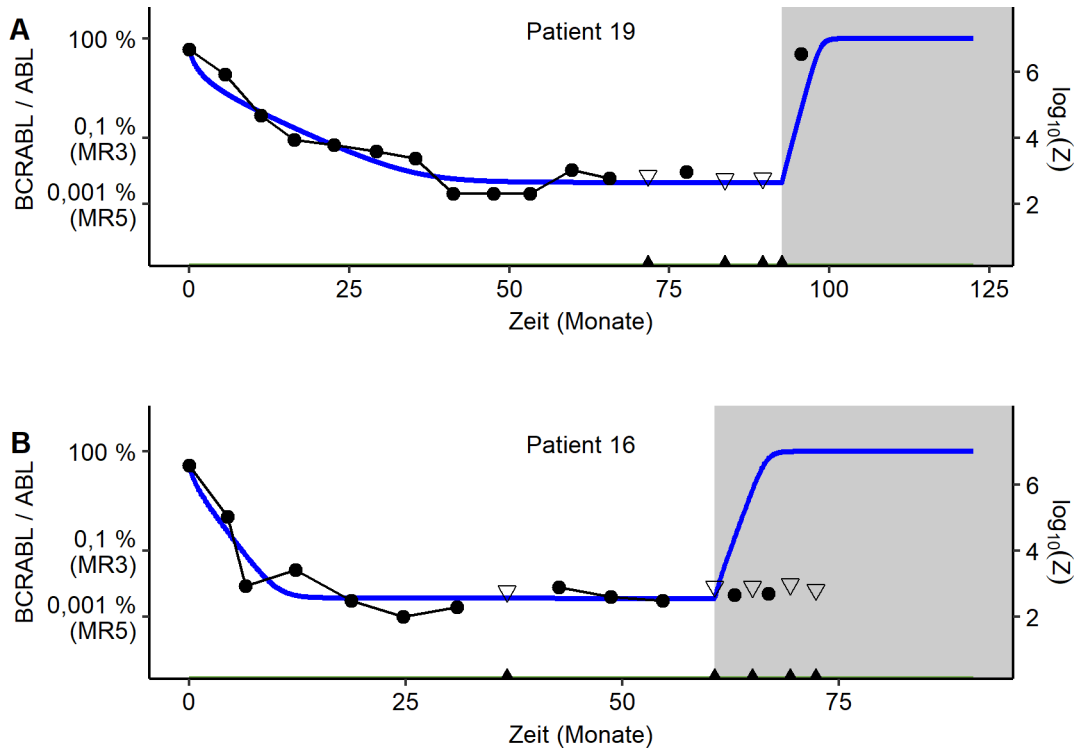


Abbildung 5.10.: **Anwendung des CML-Modells ohne immunologische Komponente auf einzelne Patienten:** Darstellung der Anpassung des vereinfachten Modells ohne immunologische Komponente an einen repräsentativen Patienten mit klinischem Rezidiv (A) und einen Patienten ohne klinisches Rezidiv (B) unter Nutzung von Anpassungsstrategie B (siehe Kapitel 4.3.5). BCR-ABL/ABL Messungen sind als schwarze Punkte dargestellt. Schwarze Dreiecke zeigen die untere Detektionsschwelle für undetektierbare BCR-ABL Level an, welche anhand des gemessenen Referenzgens ABL berechnet wurde. Die korrespondierende Modellanpassung ist als blaue Linie dargestellt. Der Beginn des grauen Hintergrunds kennzeichnet den Zeitpunkt des TKI-Absetzens. Die Modellanpassungen für alle 21 Patienten sind in Abbildung A.3 und A.4 dargestellt.

5. Ergebnisse

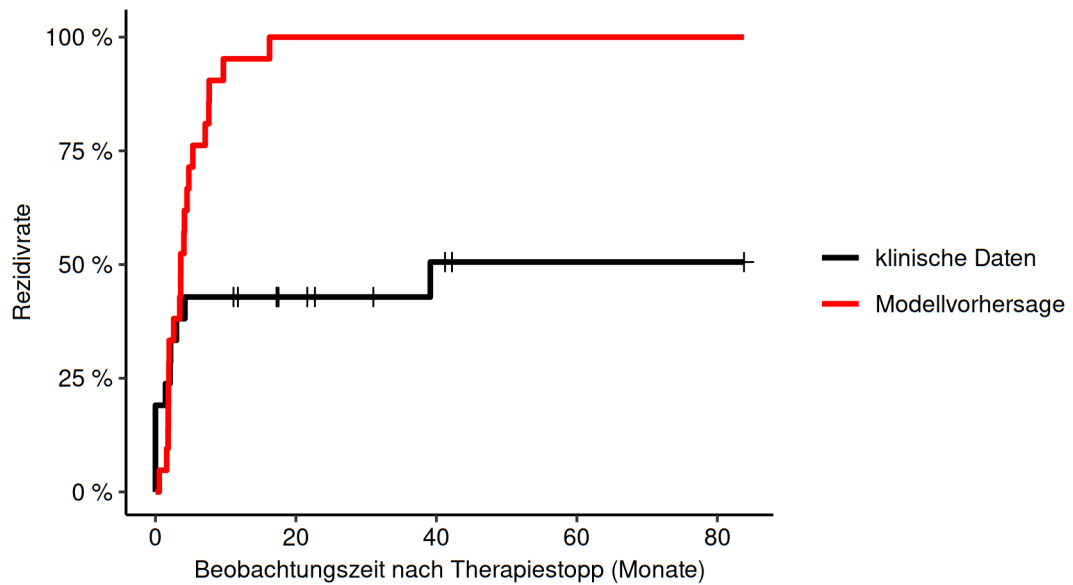


Abbildung 5.11.: **Kaplan-Meier-Schätzer für das Rezidivverhalten des CML-Modells *ohne* immunologische Komponente:** Darstellung der kumulativen Rezidivrate der Modellsimulationen (CML-Modell *ohne* immunologische Komponente unter Nutzung von Anpassungsstrategie B (siehe Kapitel 4.3.5), rot) im Vergleich zu den klinischen Daten (schwarz). Zensierungen der klinischen Daten sind durch kurze vertikale Striche gekennzeichnet.

	Remission (klinische Daten)	Rezidiv (klinische Daten)
Remission (Modellvorhersage)	0	0
Rezidiv (Modellvorhersage)	11	10

Tabelle 5.2.: **Vorhersage des CML-Modells *ohne* immunologische Komponente** unter Nutzung von Anpassungsstrategie B (siehe Kapitel 4.3.5)

5.4. CML-Modell *mit* immunologischer Komponente (Immunmodell)

Das im letzten Kapitel vorgestellte mathematische Modell der CML *ohne* eine immunologische Komponente erlaubte keine korrekte Beschreibung des Rezidivverhaltens, da residuale leukämische Zellen nach Absetzen der TKI-Therapie ungehemmt proliferieren und es somit bei allen simulierten Patienten zu einem sofortigen Rezidiv kam. Ergebnisse neuerer klinischer Studien ergaben Hinweise auf eine mögliche immunologische Komponente, welche über eine Kontrolle residualer leukämischer Zellen zur Verhinderung eines Rezidivs bei Patienten beitragen könnte (Schütz et al., 2017; Ilan-der et al., 2017; Rea et al., 2017) .

Im Folgenden soll untersucht werden, ob ein mathematisches Modell mit einer solchen immunologischen Komponente eine bessere Beschreibung des Rezidivverhaltens ermöglicht. Weiterhin werden die Mechanismen analysiert, welche das individuelle Rezidivverhalten bestimmen und es wird untersucht, ob eine individuelle Anpassung des Therapieregimes das Rückfallverhalten der Patienten positiv beeinflussen könnte.

5.4.1. Aufbau des Modells

Dazu wird das vorher verwendete CML-Modell *ohne* immunologische Komponente um eine Population Immunzellen (Z) erweitert. Kurz zusammengefasst haben diese einen zytotoxischen Effekt auf periphere, proliferierende leukämische Zellen Y , während ruhende leukämische Zellen in X nicht beeinflusst werden (Tarafdar et al., 2017). Die Proliferation der Immunzellen wird dabei durch die Anwesenheit peripherer leukämischer Zellen mit einer Proliferationsrate p_Z stimuliert, während hohe leukämische Zelllevel über eine Immuninhibitionskonstante K_Z diese Proliferation hemmen. Unabhängig vom Level leukämischer Zellen besteht eine konstante Immunzellproduktion r_Z . Weiterhin besitzen die Immunzellen eine Apoptoserate a (siehe Kapitel 4.3.2 und Abbildung 4.4).

5.4.2. Anpassung an die klinischen Daten

Da keine klinischen Parameter zur Abschätzung des individuellen antileukämischen Immunzustandes der Patienten zur Verfügung standen, wurden verschiedene Ansätze zur Schätzung der beiden Immunparameter p_Z und K_Z anhand der BCR-ABL/ABL Verläufe untersucht und die resultierenden Simulationsergebnisse mit den klinischen Daten verglichen. Im Folgenden werden diese 3 Ansätze vorgestellt.

Generische immunologische Komponente

In einem ersten Ansatz erfolgte die Annahme einer generischen Konfiguration des Immunsystems mit identischen Werten der Parameter K_Z und p_Z für alle Patienten. Dazu wird Anpassungsstrategie C verwendet (siehe Kapitel 4.3.5). Obwohl die Werte der beiden immunologischen Parameter so angepasst werden konnten, dass die Gesamtrezidivrate sowie die zeitliche Verteilung der Rezidive etwa den klinischen Daten entsprach (siehe Abbildung 5.12), versagte dieser Ansatz auf individueller Patientenebene. Lediglich von 8 der 21 Patienten konnte das Rezidivverhalten korrekt vorhergesagt werden (siehe Tabelle 5.3). Dies spricht somit stark gegen die Idee einer einheitlichen Konfiguration des Immunsystems bei allen Patienten, aber für die Idee interindividueller Unterschiede der immunologischen Parameter p_Z und K_Z .

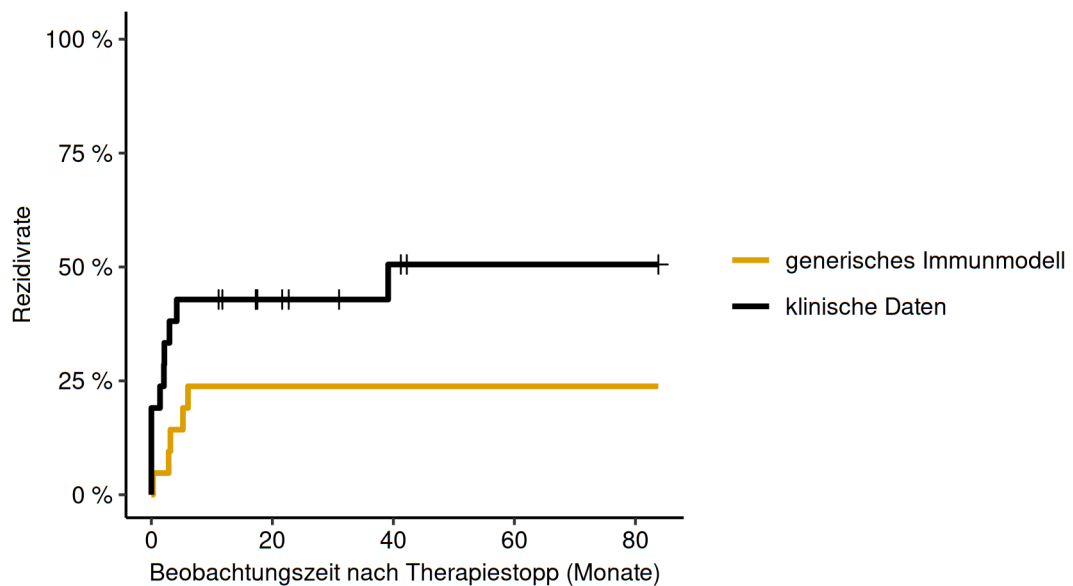


Abbildung 5.12.: **Kaplan-Meier-Schätzer für das Rezidivverhalten des Immunmodells mit generischer immunologischer Komponente:** Darstellung der kumulativen Rezidivrate der Modellsimulationen (braun) im Vergleich zu den klinischen Daten (schwarz). Zensierungen der klinischen Daten sind durch kurze vertikale Striche gekennzeichnet. Es erfolgte die Verwendung der Anpassungsstrategie C (siehe Kapitel 4.3.5).

5.4. CML-Modell mit immunologischer Komponente (Immunmodell)

	Remission (klinische Daten)	Rezidiv (klinische Daten)
Remission (Modellvorhersage)	7	9
Rezidiv (Modellvorhersage)	4	1

Tabelle 5.3.: **Vorhersage des Immunmodells mit *generischer* immunologischer Komponente** durch Nutzung von Anpassungsstrategie C (siehe Kapitel 4.3.5).

Individuelle immunologische Komponente (Anpassung an Daten vor dem Absetzen)

In einem zweiten Ansatz erfolgte die Schätzung patientenspezifischer immunologischer Parameter, welche durch eine Anpassung des Modells an die BCR-ABL/ABL Messwerte *vor* Absetzen der Therapie (siehe Kapitel 4.3.5 Anpassungsstrategie D) ermittelt wurden. Dabei zeigte sich, dass die Immunsystemparameter p_Z und K_Z mit dieser Methode nicht eindeutig identifizierbar waren und über eine hohe Breite möglicher Werte variierten. Weiterhin zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied der ermittelten Parametern zwischen Patienten mit und ohne Rezidiv (siehe Abbildung 5.13).

Zur Beurteilung eines möglichen Zusammenhangs zwischen den beiden Immunparametern K_Z und p_Z erfolgte eine gleichzeitige Betrachtung der jeweils 100 besten mittels des ABC-Ansatzes ermittelten Parameterkombinationen aller Patienten. Dies zeigte ebenso keine Unterschiede in der Verteilung der Parameterkombinationen zwischen Patienten mit und ohne Rezidiv (siehe Abbildung 5.14).

Dies stimmt mit den vorherigen Ergebnissen überein, welche keinen strukturellen Unterschied der BCR-ABL/ABL Verläufe vor Absetzen der Therapie zwischen Patienten mit und ohne Rezidiv zeigten (siehe Kapitel 5.2).

Während die so durchgeführten Simulationen mit den klinischen Daten vergleichbare Rezidivraten und Zeitpunkte des Auftretens der Rezidive ergaben (siehe Abbildung 5.15), versagt dieser Ansatz auf der individuellen Patientenebene. Lediglich für 11 der 21 Patienten konnte das Rezidivverhalten korrekt vorhergesagt werden (siehe Tabelle 5.4).

5. Ergebnisse

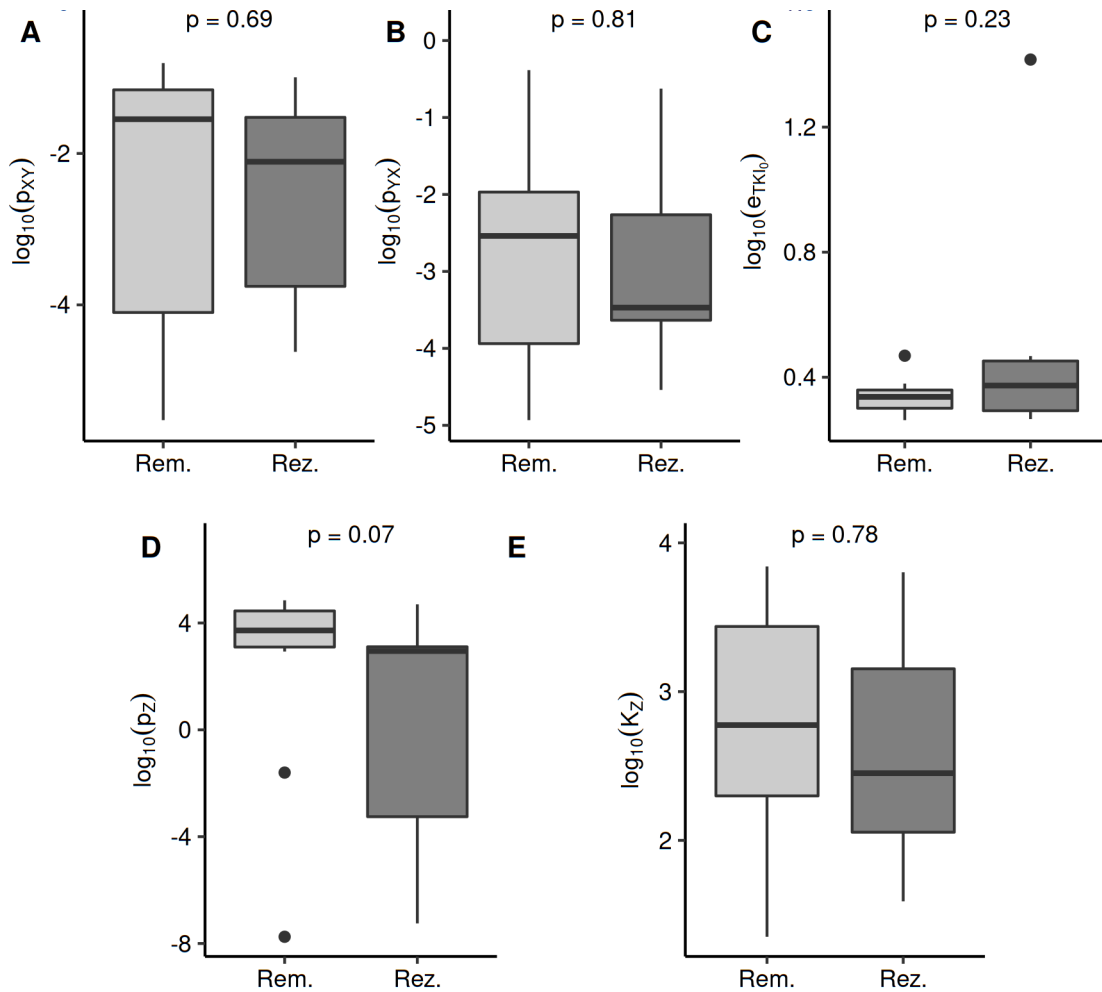


Abbildung 5.13.: **Parametervergleich: Immunmodell mit *individueller immunologischer Komponente (Anpassung an Daten vor dem Absetzen):*** Vergleich der ermittelten Parameter für Patienten mit einem Rezidiv (Rez., dunkelgrau) und Patienten ohne Rezidiv (Rem., hellgrau), welche unter Anwendung von Anpassungsstrategie D (siehe Kapitel 4.3.5) ermittelt wurden. Die p-Werte der korrespondierenden Kolmogorov-Smirnov-Tests sind jeweils dargestellt. Für die dargestellten Parameter wurden die in Tabelle 4.1 angegebenen Einheiten verwendet.

5.4. CML-Modell mit immunologischer Komponente (Immunmodell)

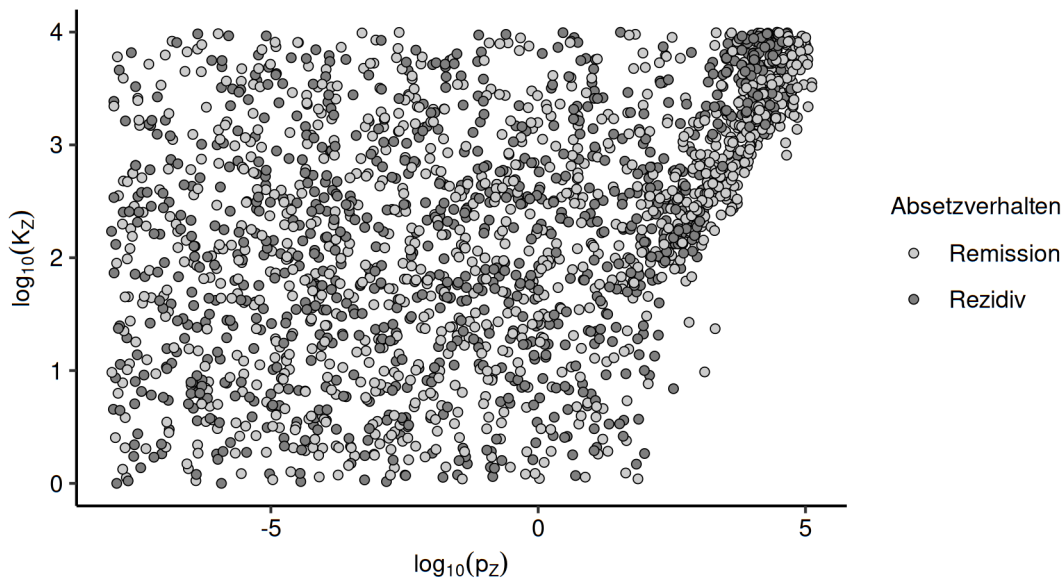


Abbildung 5.14.: **Vergleich der Immunparameter: Immunmodell mit *individueller* immunologischer Komponente (Anpassung an Daten *vor* dem Absetzen):** Darstellung der jeweils 100 besten mittels des ABC-Ansatzes ermittelten Parameterkombinationen jedes Patienten. Parameterkombinationen von Patienten mit einem Rezidiv sind dunkelgrau dargestellt, Parameterkombinationen von Patienten ohne Rezidiv hellgrau. Die Parameterwerte wurden unter Nutzung der Anpassungsstrategie D ermittelt (siehe Kapitel 4.3.5). Für die dargestellten Parameter wurden die in Tabelle 4.1 angegebenen Einheiten verwendet.

	Remission (klinische Daten)	Rezidiv (klinische Daten)
Remission (Modellvorhersage)	4	3
Rezidiv (Modellvorhersage)	7	7

Tabelle 5.4.: **Vorhersage des Immunmodell mit *individueller* immunologischer Komponente (Anpassung an Daten *vor* dem Absetzen)** durch Nutzung von Anpassungsstrategie D (siehe Kapitel 4.3.5).

5. Ergebnisse

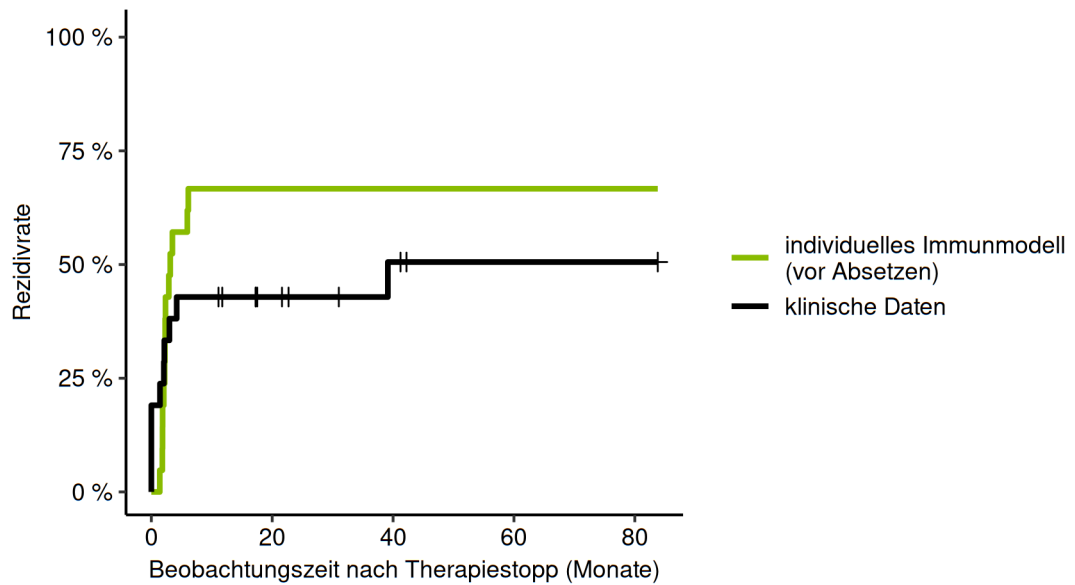


Abbildung 5.15.: **Kaplan-Meier-Schätzer für das Rezidivverhalten des Immunmodell mit *individueller* immunologischer Komponente (Anpassung an Daten vor dem Absetzen)**: Darstellung der kumulativen Rezidivrate der Modellsimulationen (dunkelgrün) im Vergleich zu den klinischen Daten (schwarz). Zensierungen der klinischen Daten sind durch kurze vertikale Striche gekennzeichnet. Es erfolgte die Verwendung der Anpassungsstrategie D (siehe Kapitel 4.3.5).

Individuelle immunologische Komponente (Anpassung an Daten vor und nach dem Absetzen)

Mit dem dritten Ansatz konnte gezeigt werden, dass die Annahme patientenspezifischer Immunparameter aufrechterhalten werden kann, wenn eine Anpassung des Immunmodells an die BCR-ABL/ABL Messwerte *vor und nach* Absetzen der Therapie erfolgt (siehe Kapitel 4.3.5, Anpassungsstrategie E). Unter dieser Annahme zeigen die Modellvorhersagen sowohl auf Populationsebene als auch auf individueller Patientenebene die erwarteten Ergebnisse (siehe Tabelle 5.5 und Abbildung 5.16). Die Modellvorhersagen für zwei repräsentative Patienten sind in Abbildung 5.17 dargestellt, die Abbildungen zu den Modellvorhersagen aller Patienten in Abbildung A.5 und A.6, die korrespondierenden Parameterwerte finden sich in Tabelle A.2.

Ein Blick auf die so ermittelten Parameterwerte zeigt keinen signifikanten Unterschied der Verteilungen der Parameter p_{XY} ($p=0,09$; siehe Abbildung 5.18A), p_{YX} ($p=0,07$; siehe Abbildung 5.18B) und e_{TKI_0} ($p=0,89$; siehe Abbildung 5.18C). Allerdings stellt sich eine signifikant höhere Immunproliferationsrate p_Z für Patienten ohne Rezidiv dar ($p=0,02$; siehe Abbildung 5.18D). Für die Immuninhibitionskonstant K_Z konnte hingegen ebenso kein Unterschied festgestellt werden ($p=0,57$; siehe Abbildung 5.18E). Um einen möglichen Zusammenhang zwischen den Werten der beiden Immunparameter p_Z und K_Z aufzudecken, erfolgte weiterhin eine gleichzeitige Betrachtung der jeweils 100 besten mittels ABC ermittelten Immunparameterkombinationen jedes Patienten. Dieses Vorgehen zeigt, dass Patienten mit und ohne Rezidiv je getrennte Parameterbereiche für p_Z und K_Z aufweisen (siehe Abbildung 5.19).

	Remission (klinische Daten)	Rezidiv (klinische Daten)
Remission (Modellvorhersage)	11	0
Rezidiv (Modellvorhersage)	0	10

Tabelle 5.5.: **Vorhersage des Immunmodells mit individueller immunologischer Komponente (Anpassung an Daten vor und nach dem Absetzen)** durch Nutzung von Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5).

5. Ergebnisse

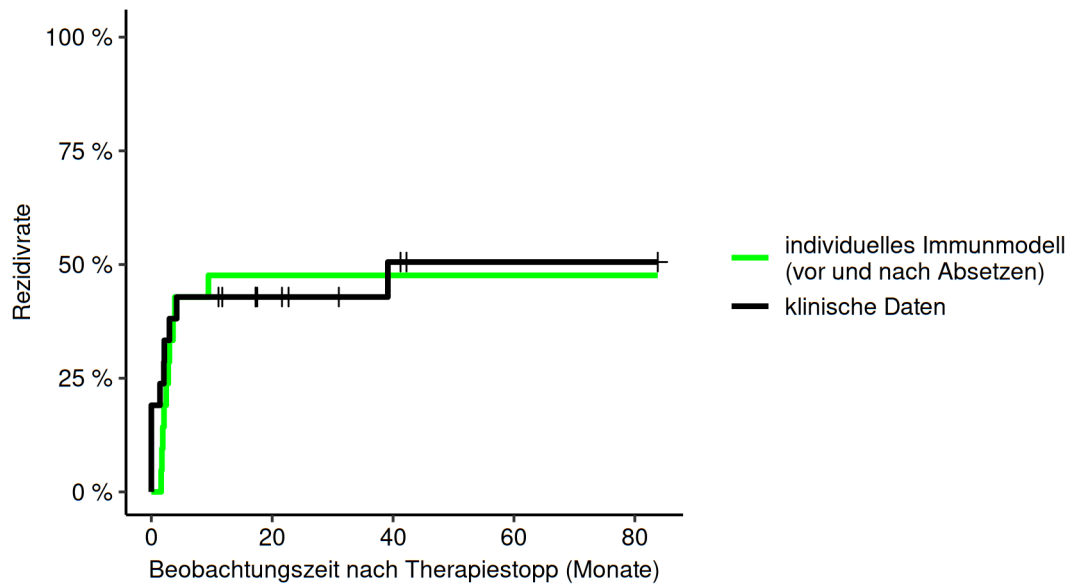


Abbildung 5.16.: **Kaplan-Meier-Schätzer für das Rezidivverhalten des Immunmodell mit *individueller* immunologischer Komponente (Anpassung an Daten vor und nach dem Absetzen):** Darstellung der kumulativen Rezidivrate der Modellsimulationen (grün) im Vergleich zu den klinischen Daten (schwarz). Zensurierungen der klinischen Daten sind durch kurze vertikale Striche gekennzeichnet. Es erfolgte die Verwendung der Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5).

5.4. CML-Modell mit immunologischer Komponente (Immunmodell)

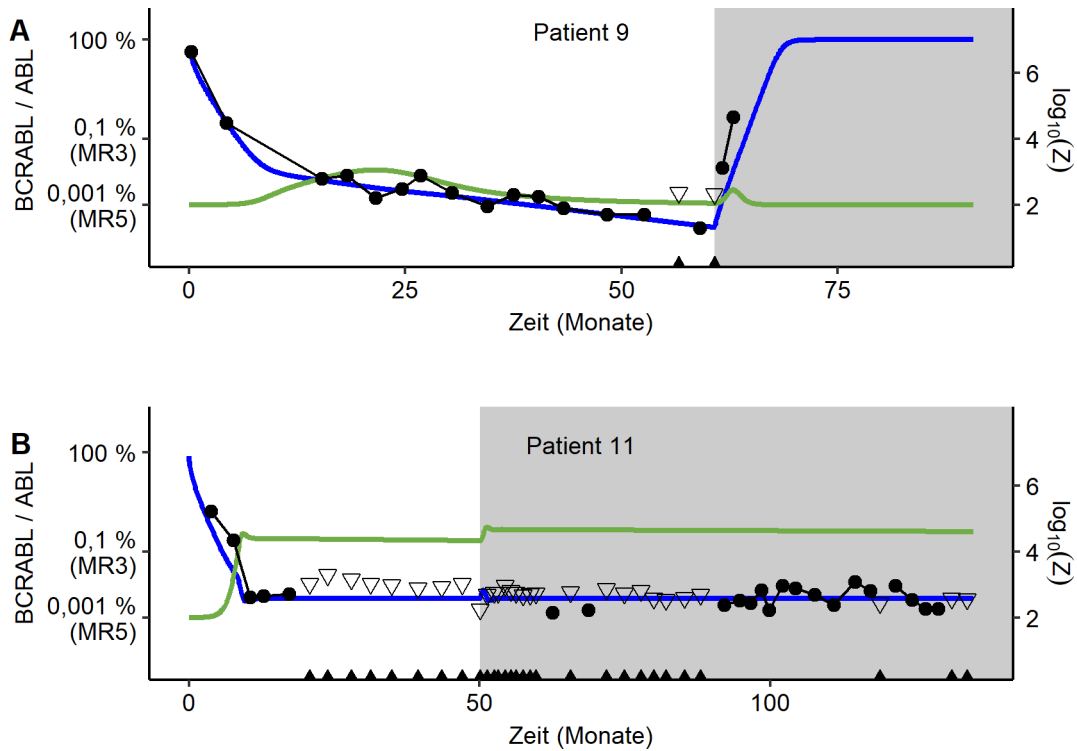


Abbildung 5.17.: Anwendung des Immunmodells mit *individueller* immunologischer Komponente (Anpassung an Daten *vor und nach* dem Absetzen) auf einzelne Patienten: Darstellung der Anpassung des Immunmodells mit *individueller* immunologischer Komponente an einen repräsentativen Patienten mit Rezidiv (**A**) und einen Patienten ohne Rezidiv (**B**) unter Verwendung von Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5). BCR-ABL/ABL Messungen sind als schwarze Punkte dargestellt. Schwarze Dreiecke zeigen die untere Detektionsschwelle für undetektierbare BCR-ABL Level an, welche anhand des gemessenen Referenzgens ABL berechnet wurde. Der Beginn des grauen Hintergrunds kennzeichnet den Zeitpunkt des TKI-Absetzens. Die korrespondierende Modellanpassung ist durch eine blaue Linie (BCR-ABL/ABL) und grüne Linie (Immunzellen) auf einer logarithmischen Skala dargestellt. Die Modellanpassungen für alle 21 Patienten sind in Abbildung A.5 und A.6 dargestellt.

5. Ergebnisse

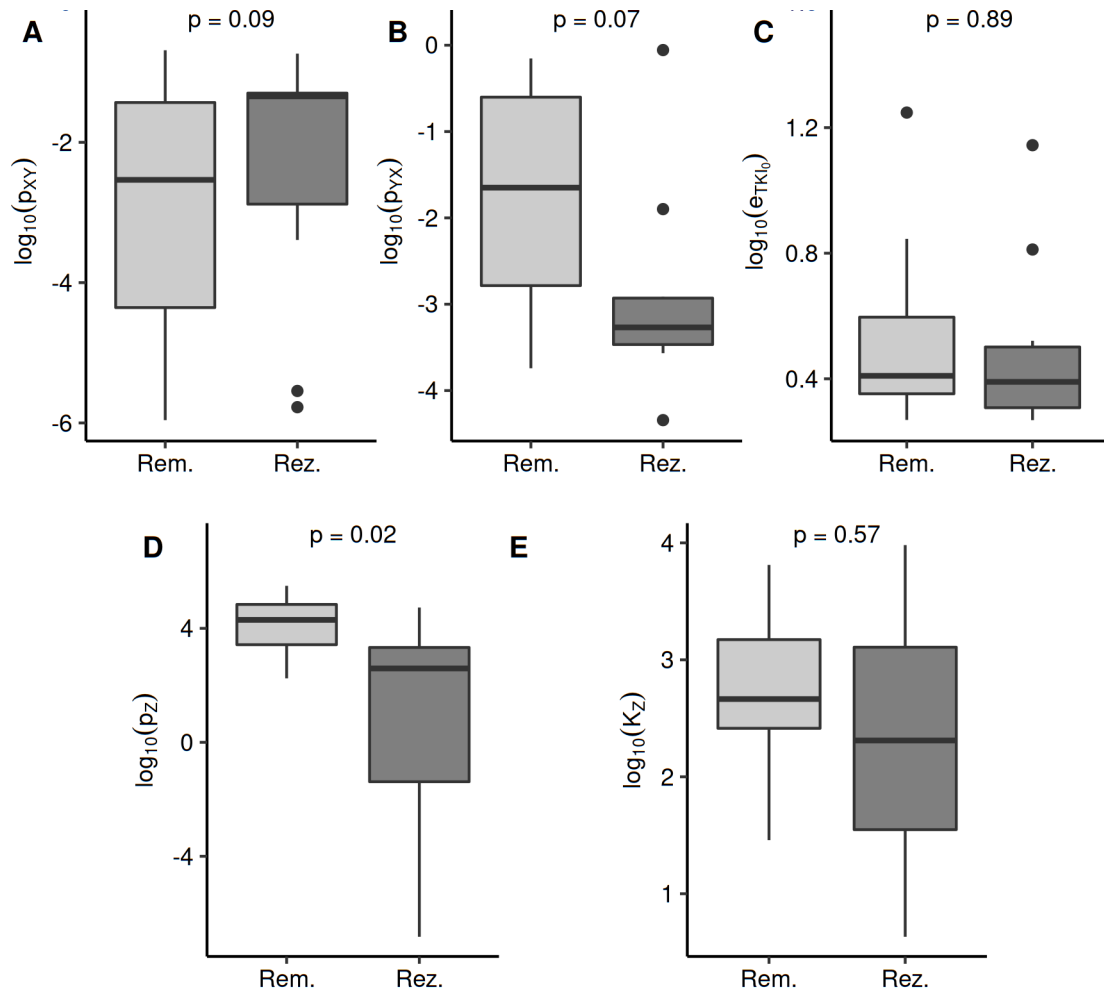


Abbildung 5.18.: **Parametervergleich: Immunmodell mit *individueller immunologischer Komponente (Anpassung an Daten vor und nach dem Absetzen)***: Vergleich der ermittelten Parameter für Patienten mit einem Rezidiv (Rez., dunkelgrau) und Patienten ohne Rezidiv (Rem., hellgrau), welche unter Anwendung von Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5) ermittelt wurden. Die p-Werte der korrespondierenden Kolmogorov-Smirnov-Tests sind jeweils dargestellt. Für die dargestellten Parameter wurden die in Tabelle 4.1 angegebenen Einheiten verwendet.

5.4. CML-Modell mit immunologischer Komponente (Immunmodell)

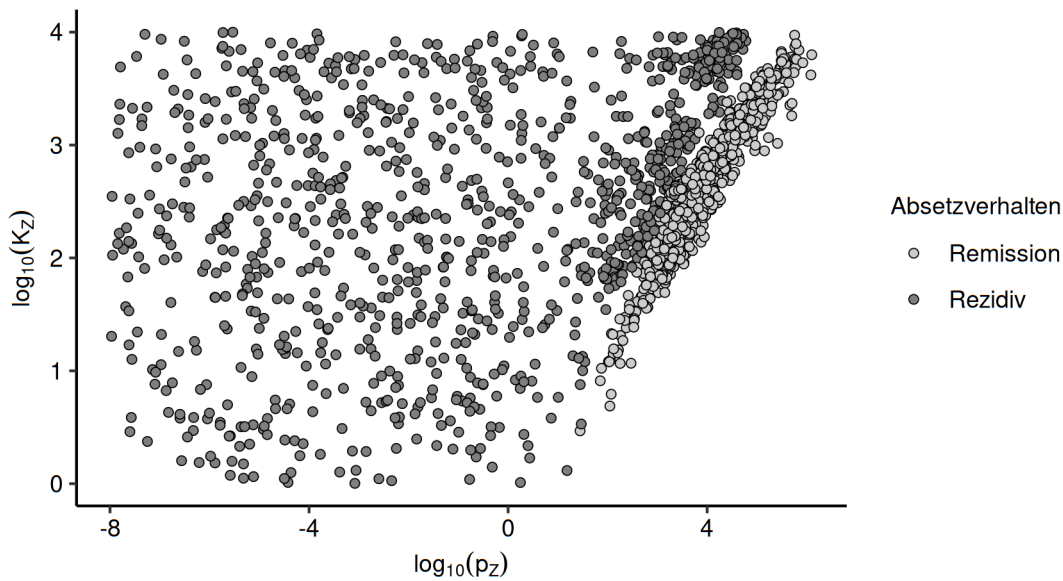


Abbildung 5.19.: **Vergleich der Immunparameter: Immunmodell mit *individueller* immunologischer Komponente (Anpassung an Daten *vor und nach* dem Absetzen):** Darstellung der jeweils 100 besten mittels des ABC-Ansatzes ermittelten Parameterkombinationen jedes Patienten. Parameterkombinationen von Patienten mit einem Rezidiv sind dunkelgrau dargestellt, Parameterkombinationen von Patienten ohne Rezidiv hellgrau. Die Parameterwerte wurden unter Nutzung der Anpassungsstrategie E ermittelt (siehe Kapitel 4.3.5). Für die dargestellten Parameter wurden die in Tabelle 4.1 angegebenen Einheiten verwendet.

Zusammenfassung

Unter Nutzung des mathematischen Modells mit einer *generischen* immunologischen Komponente (ebenso wie unter Nutzung des mathematischen Modells *ohne* immunologisch Komponente, siehe Kapitel 5.3.3) konnten die klinischen Daten nicht korrekt beschrieben werden. Es war eine individuelle immunologische Komponente notwendig und ebenso ausreichend, um die individuellen BCR-ABL/ABL Verläufe vor und nach Beendigung der Therapie zu beschreiben. Dabei konnten die individuellen immunologischen Parameter nicht anhand der initialen BCR-ABL/ABL Kinetik vor Absetzen der Therapie ermittelt werden, sondern nur unter Einbeziehung der BCR-ABL/ABL Veränderungen in Folge der durch das Absetzen entstehenden Störung des Systems. Weiterhin unterschieden sich Patienten mit und ohne Rezidiv vor allem bezüglich der geschätzten Immunproliferationsrate p_Z voneinander und wiesen unterschiedliche Verteilungen der Immunparameter p_Z und K_Z auf.

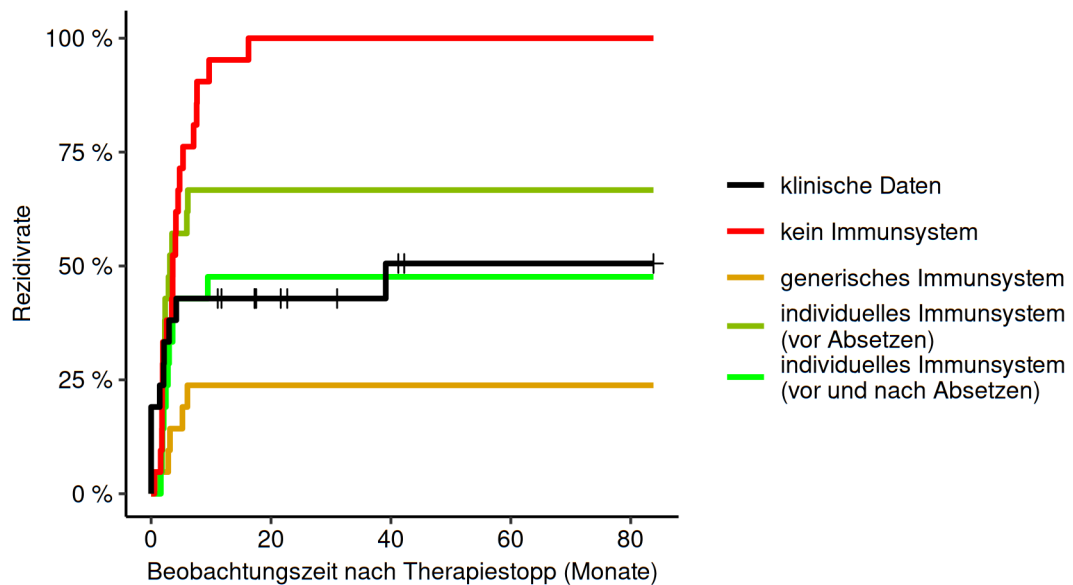


Abbildung 5.20.: **Vergleich der Kaplan-Meier-Schätzer der verschiedenen Anpassungsstrategien:** Vergleich der Beschreibung des Rezidivverhaltens durch das CML-Modell *ohne* immunologische Komponente (rot) und die verschiedenen Anpassungsstrategien des Immunmodells (orange: *generische* immunologische Komponente, dunkelgrün: *individuelle* immunologische Komponente (Daten *vor* dem Absetzen), grün: *individuelle* immunologische Komponente (Daten *vor und nach* dem Absetzen)) mit den klinischen Daten (schwarz). Zensurierungen der klinischen Daten sind durch kurze vertikale Striche gekennzeichnet.

5.4.3. Klassifizierung der Patienten anhand ihrer Immunantwort

Eine genauere Betrachtung der identifizierten Parameter des immunologischen Modells, welche unter Nutzung der Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5) ermittelt wurden, zeigt, dass die Patienten anhand der ihnen jeweils zugehörigen Attraktorlandschaft des ODE-Modells klassifiziert werden können. Dabei sind die Phasenräume der einzelnen Patienten jeweils durch das Vorhandensein bzw. Fehlen spezifischer Gleichgewichtszustände sowie einer unterschiedlichen Konfiguration der Anziehungsbereiche dieser Attraktoren gekennzeichnet.

Konkret kann in Abhängigkeit der Werte der immunologischen und leukämischen Parameter ein Rezidiv-Gleichgewichtszustand E_H ($Y \approx K_Y$, Z niedrig), ein Remissions-Gleichgewichtszustand E_L ($0 < Y \ll K_Y$, Z hoch) und ein Heilungs-Gleichgewichtszustand E_0 ($Y = 0$, Z niedrig) nach Stopp der TKI-Therapie auftreten (siehe Kapitel A.2). Der Heilungs-Attraktor E_0 beschreibt eine komplette Eradikation leukämischer Zellen und stellt für alle Patienten einen instabilen Gleichgewichtszustand dar. Bei dem Remissions-Attraktor E_L , welcher eine immunologische Kontrolle residualer leukämischer Zellen beschreibt sowie bei dem Rezidiv-Attraktor E_H handelt es sich hingegen um stabile Gleichgewichtszustände. Weiterhin existiert neben dem Gleichgewichtszustand E_L noch ein zweiter, jedoch instabiler und somit klinisch wenig relevanter Remissions-Attraktor E_S .

Aus der Attraktorlandschaft ergeben sich folgende drei Klassen:

- **Klasse A (insuffiziente Immunantwort):** Für bestimmte Parameterkonfigurationen besitzt die Attraktorlandschaft lediglich einen stabilen Gleichgewichtszustand: den Rezidiv-Attraktor E_H . Dies bedeutet, dass ein zu dieser Klasse gehöriger Patient aufgrund seiner *insuffizienten* Immunantwort immer ein Rezidiv nach Therapiestopp aufweisen wird, falls keine komplette Eradikation leukämischer Zellen erfolgt ist. Die korrespondierende Attraktorlandschaft eines solchen Patienten, welche das vorhergesagte Rezidivverhalten nach Absetzen der Therapie in Abhängigkeit der zu diesem Zeitpunkt bestehenden Zahl leukämischer Zellen und Immunzellen widerspiegelt, ist in Abbildung 5.21A dargestellt, der korrespondierende BCR-ABL/ABL Verlauf des Patienten in Abbildung 5.21B. Unter Berücksichtigung der ermittelten Parameterwerte fallen 6 der 21 Patienten in Klasse A und erleiden alle ein Rezidiv nach Absetzen der Therapie. Die verbleibenden 5 Patienten der Klasse A sind in Abbildung A.7 gezeigt.
- **Klasse B (suffiziente und starke Immunantwort):** Für andere Parameterkonfigurationen weist die Attraktorlandschaft zwei stabile Gleichgewichtszustände

5. Ergebnisse

de auf: Den Rezidiv-Attraktor E_H und den Remissions-Attraktor E_L . In diesem Fall besteht eine klare Abgrenzung eines Bereichs niedriger leukämischer Zellen, unter welcher die vorliegende *suffiziente und starke* Immunantwort des Patienten die residualen leukämischen Zellen nach Therapiestopp unter Kontrolle halten kann. Die korrespondierende Attraktorlandschaft zeigt zwei entsprechende Anziehungsbereiche. Abbildung 5.21C zeigt diese für einen repräsentativen Patienten zusammen mit seinem BCR-ABL/ABL Verlauf (Abbildung 5.21D). Unter Berücksichtigung der ermittelten Parameterwerte fallen 8 der 21 Patienten in diese Gruppe, welche nach Stopp der TKI-Therapie alle in Remission verbleiben. Die Attraktorlandschaften der anderen 7 Patienten der Klasse B werden in Abbildung A.8 gezeigt.

- **Klasse C (suffiziente und schwache Immunantwort):** Patienten dieser dritten Klasse weisen die gleichen Gleichgewichtszustände wie Patienten der Klasse B auf, allerdings fällt der Heilungs-Attraktor E_0 bei Patienten der Klasse C nicht in den Anziehungsbereich des Remissions-Attraktor E_L . Lediglich für einen kleinen Bereich einer niedrigen Zahl leukämischer Zellen und einer hohen Zahl Immunzellen besteht eine ausreichende Immunsystemaktivität, um ein Rezidiv nach Therapiestopp zu vermeiden. Abbildung 5.22A/C stellt diesen isolierten Anziehungsbereich des Attraktors E_L für zwei repräsentative Patienten der Klasse C dar. Die korrespondierenden BCR-ABL/ABL Verläufe sind in Abbildung 5.22B/D gezeigt. Im Idealfall bewirkt die TKI-Therapie bei diesen Patienten eine Reduktion der Zahl leukämischer Zellen auf ein Niveau, das eine suffiziente Proliferation der Immunzellen bewirkt, sodass durch Erreichen des Anziehungsbereich des Remissions-Attraktors ein Rezidiv verhindert werden kann. Falls die Zahl leukämischer Zellen unter Therapie stärker reduziert wird, führt dies durch eine verminderte Aktivierung der immunologischen Komponente zu einem Rezidiv nach Absetzen der Therapie. Dieses Szenario beschreibt daher einen Patienten, welcher potentiell eine immunologisch kontrollierte Remission erreichen kann, also eine *suffiziente und schwache* Immunantwort aufweist. Das angewandte Modell sagt für 7 der 21 Patienten eine Zugehörigkeit zu dieser Klasse vorher. Von diesen zeigten 4 Patienten nach Therapiestopp ein Rezidiv, während 3 Patienten in Remission verblieben. Die Attraktorlandschaften der anderen 5 Patienten der Klasse C sind in Abbildung A.9 gezeigt.

Zur Vollständigkeit soll erwähnt werden, dass weiterhin eine vierte Klasse der Immunantwort existiert (Klasse D), welche lediglich den Heilungs-Attraktor aufweist. In die-

5.4. CML-Modell mit immunologischer Komponente (Immunmodell)

sen Fall würde sich aufgrund einer sehr starken Immunantwort keine CML entwickeln können. Entsprechend tauchen Personen dieser Klasse in der vorliegenden Patientenkohorte nicht auf.

Weiterhin unterscheiden sich Patienten der Klasse B und C von den anderen Klassen durch das Vorhandensein eines *Immunfensters*, eines Bereichs leukämischer Zellen, in welchem eine suffiziente Stimulation des Immunkompartiments stattfindet (siehe grüner Bereich in Abbildung 5.21D und 5.22B/D). Konkret ist dieses Immunfenster dabei als Bereich definiert, für welchen die durch leukämische Zellen stimulierte Immunzellproliferation die Apoptoserate der Immunzellen übersteigt (siehe Abbildung 4.5 sowie Kapitel 4.3.2 und Kapitel A.1).

5. Ergebnisse

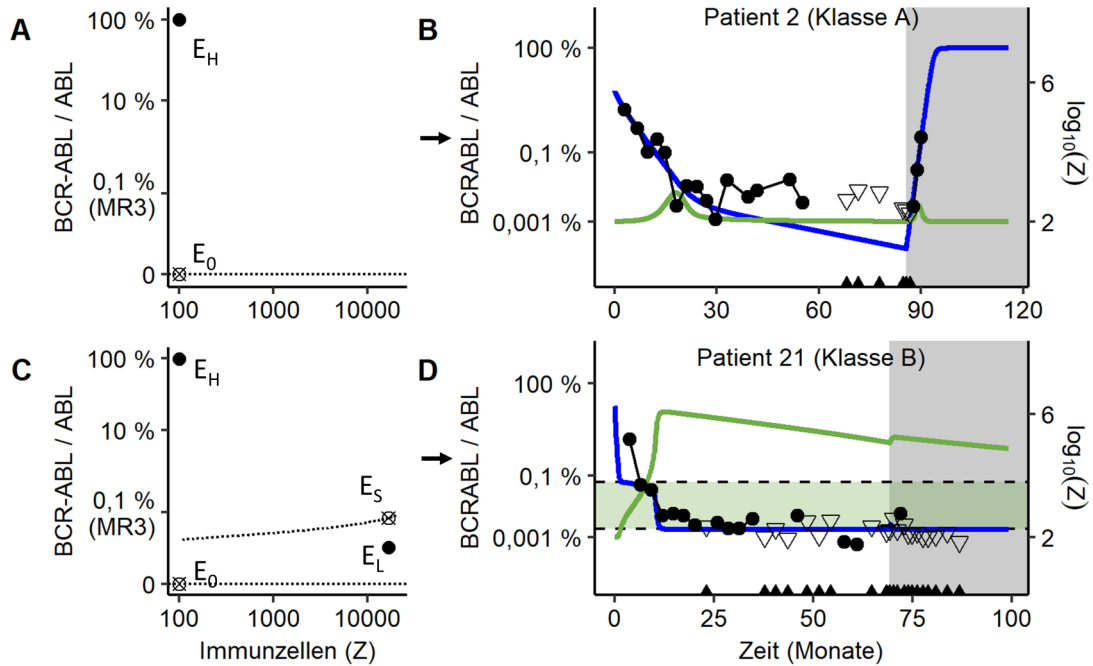


Abbildung 5.21.: **Klassifikation der Patienten anhand ihrer Attraktorlandschaft (1)**: Repräsentation der Attraktorlandschaft mit zugehörigen klinischen Daten und Simulationsergebnissen des Immunmodells mit Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5) für je einen repräsentativen Patienten der Klasse A und B. Der Phasenraum (X, Y, Z) der Patienten ist je auf der linken Seite dargestellt und wurde auf die zweidimensionale Fläche $X = (p_{YX}/p_{XY}) * Y$ beschränkt. Stabile Gleichgewichtszustände sind durch gefüllte Kreise (\bullet), instabile Gleichgewichtszustände durch Kreise mit einem Kreuz (\otimes) repräsentiert. Die Ordinate wurde mittels $Y \rightarrow \sqrt[6]{Y}$ transformiert, die Abszisse ist mit einer logarithmischen Skala dargestellt. Die korrespondierende Modellsimulation mit den klinischen Daten ist je auf der rechten Seite dargestellt (siehe Abbildungsbeschreibung 5.17). Das Immunfenster der Patienten ist durch einen grünen Hintergrund gekennzeichnet. Patienten der Klasse A zeigen nur einen Anziehungsbereich für den Rezidiv-Attraktor E_H (A), wodurch es nach Therapiestopp zu einem Rezidiv kommt (B). Klasse B Patienten zeigen zusätzlich einen Remissions-Attraktor E_L mit einem entsprechenden Anziehungsbereich (C). Die Separatrix, welche die Anziehungsbereiche der beiden stabilen Gleichgewichtszustände E_L und E_H trennt, ist durch eine gestrichelte Linie gekennzeichnet, welche durch den Sattel-Knoten-Gleichgewichtszustand E_S verläuft. Patienten der Klasse B zeigen eine Remission nach Therapiestopp (D). Der Heilungs-Attraktor E_0 stellt für beide Patienten einen instabilen Zustand dar.

5.4. CML-Modell mit immunologischer Komponente (Immunmodell)

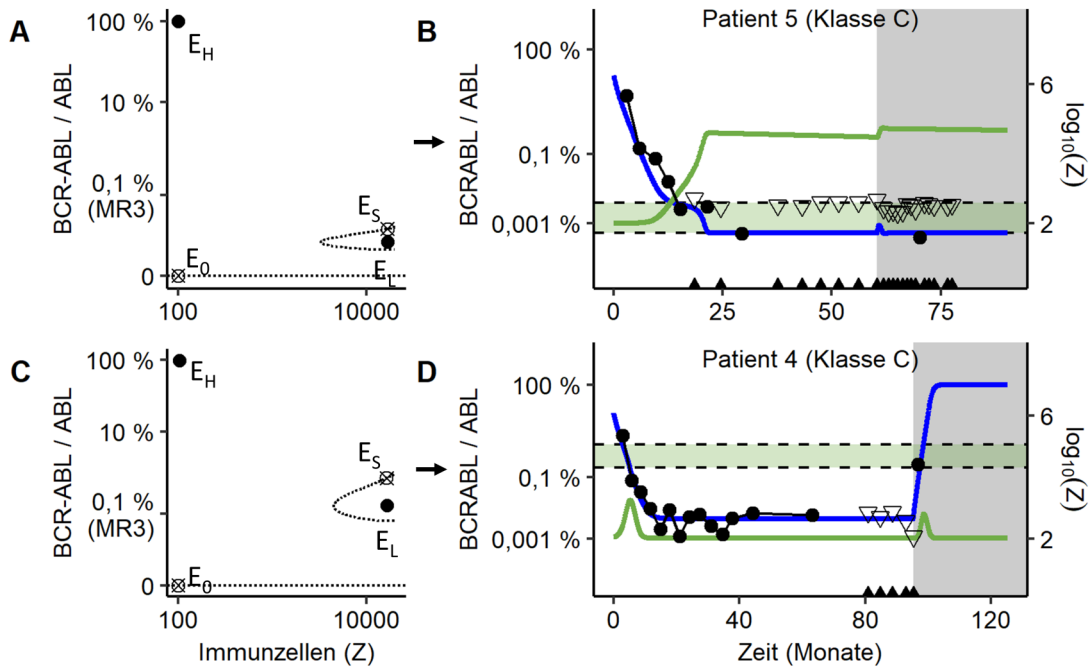


Abbildung 5.22.: **Klassifikation der Patienten anhand ihrer Attraktorlandschaft (2)**: Repräsentation der Attraktorlandschaft mit zugehörigen klinischen Daten und Simulationsergebnissen des Immunmodells mit Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5) für zwei repräsentative Patienten der Klasse C. Eine detaillierte Beschreibung der Darstellung kann der Abbildung 5.21 entnommen werden. Klasse C Patienten zeigen wie auch Patienten der Klasse B einen stabilen Remissions-Attraktor E_L und einen stabilen Rezidiv-Attraktor E_H mit entsprechenden Anziehungsbereichen. Allerdings stellt für diese Patienten der Anziehungsbereich des Remissions-Attraktor E_L eine isolierte Fläche dar (A/C) und beinhaltet nicht den Heilungs-Attraktor E_0 . Patienten der Klasse C können eine Remission (B) oder ein Rezidiv (D) nach Therapiestopp zeigen.

5.4.4. Sensitivitätsanalyse

Um die Auswirkungen von Veränderungen der einzelnen Parameter auf das Rezidivverhalten innerhalb des Immunmodells zu untersuchen, erfolgte eine Sensitivitätsanalyse anhand eines „medianen“ CML-Patienten (siehe Kapitel 4.3.6). Da das Rezidivverhalten der Patienten essenziell von der jeweiligen Attraktorlandschaft des Patienten und der korrespondierenden Stärke seiner Immunantwort (Klasse A–C) abhängt, erfolgt im Gegensatz zur Sensitivitätsanalyse des CML-Modells *ohne* immunologische Komponente (siehe Kapitel 5.3.2) eine Betrachtung der Auswirkungen einzelner Parameter auf die Attraktorlandschaft des medianen Patienten. Konkret erfolgt dies durch Anpassungen der einzelnen Parameter auf jeweils 11%, 33%, 300% und 900% des ursprünglichen Wertes des medianen Patienten.

Der mediane Patient gehört dabei zur Klasse C (*suffiziente und schwache* Immunantwort) und liegt somit bezüglich der Stärke der Immunantwort zwischen Klasse A (*insuffiziente* Immunantwort) und Klasse B (*suffiziente und starke* Immunantwort). Dies erlaubt jeweils die Beurteilung, ob eine Erhöhung/Verringerung eines entsprechenden Parameters die Immunantwort verstärkt (d.h. zu Klasse B verschiebt) oder schwächt (d.h. zu Klasse A verschiebt).

Das Phasenportrait und der simulierte BCR-ABL/ABL Verlauf des medianen Patienten unter einer 10-jährigen TKI-Therapie sind in Abbildung 5.23 dargestellt. Auf eine Betrachtung des Parameters K_y wurde verzichtet, da dieser eine Skalierung des Systems bewirkt, allerdings keine Auswirkungen auf das BCR-ABL/ABL Verhältnis zur Folge hat (siehe Kapitel 5.3.2).

Im Folgenden wird der Einfluss der verschiedenen Parameter nacheinander besprochen.

Proliferationsrate p_Y

Eine Erhöhung der Proliferationsrate leukämischer Zellen p_Y bewirkt, dass höhere Immunzelllevel bei Absetzen des TKI vorhanden sein müssen, um ein Rezidiv zu verhindern (siehe Abbildung 5.24A). Weiterhin verschiebt sich der Remissions-Attraktor E_L ebenso zu höheren Leveln immunologischer Zellen. Wird p_Y über den Wert der TKI-Eliminationsrate e_{TKI} erhöht, kommt es unter Therapie zu einem weiteren Anstieg des BCR-ABL/ABL Levels, es kann ohne Erhöhung der Therapiedosis in diesem Fall keine Remission mehr durch die Therapie erreicht werden. Bei einer Verringerung von p_Y kommt es dagegen zu einem Übergang in eine *suffiziente und starke* Immunantwort (Klasse B).

5.4. CML-Modell mit immunologischer Komponente (Immunmodell)

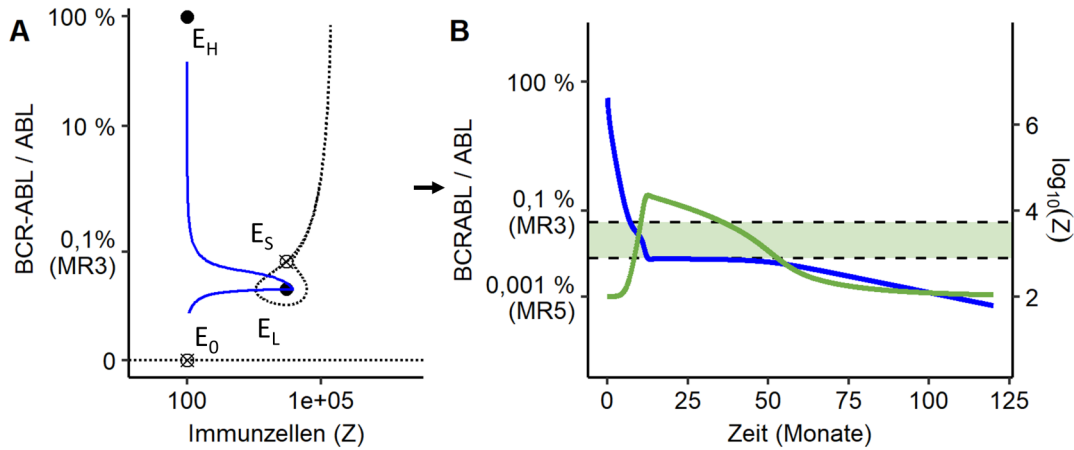


Abbildung 5.23.: **Medianer Patient:** **A:** Darstellung der Attraktorlandschaft des medianen Patienten. Zusätzlich ist der Verlauf der Immunzellen und des BCR-ABL/ABL Verhältnisses für eine simulierte 10-jährige Therapie dargestellt (blaue Linie). **B:** Darstellung des zeitlichen Verlaufs des BCR-ABL/ABL Verhältnisses (blaue Linie) und der Immunzellzahl (grüne Linie) des medianen Patienten unter einer 10-jährigen Therapie. Details zur Darstellungsweise können Abbildung 5.21 entnommen werden.

TKI-Eliminationsrate e_{TKI_0}

Eine Veränderung der TKI-Eliminationsrate e_{TKI_0} beeinflusst die Attraktorlandschaft nicht (da nach dem Absetzen $e_{TKI} = 0$ gilt) und hat entsprechend ebenso keine Auswirkung auf die Lage der Gleichgewichtszustände (siehe Abbildung 5.24B). Wird e_{TKI_0} auf einen Wert kleiner als p_Y verringert, kommt es unter Therapie zu einem weiteren Anstieg des BCR-ABL/ABL Levels. Somit kann in diesem Fall unter Therapie keine Remission mehr erreicht werden. Höhere Werte für e_{TKI_0} führen zu einem schnelleren Abfall des BCR-ABL/ABL Levels und verkürzen daher die Zeit des Systems innerhalb des Immunfensters. Dies führt zu geringeren Immunzellleveln unter Therapie, wodurch ebenso beeinflusst wird, ob der Anziehungsbereich des Remissions-Attraktor E_L erreicht werden kann.

Transitionsraten p_{XY} und p_{YX}

Veränderungen der Transitionsraten p_{XY} und p_{YX} beeinflussen die Attraktorlandschaft nur geringfügig, innerhalb der untersuchten Parameterbereiche ergab sich keine Veränderung der Klassifizierung der Immunantwort. Eine niedrige Aktivierungsrate p_{XY} und eine hohe Inaktivierungsrate p_{YX} führen zu höheren Leveln der Immunzellen unter Therapie und können so trotzdem einen Einfluss auf das Rezidivverhalten

5. Ergebnisse

haben. Weiterhin stellen sich keine Effekte auf die Gleichgewichtszustände dar (siehe Abbildung 5.24C/D).

5.4. CML-Modell mit immunologischer Komponente (Immunmodell)

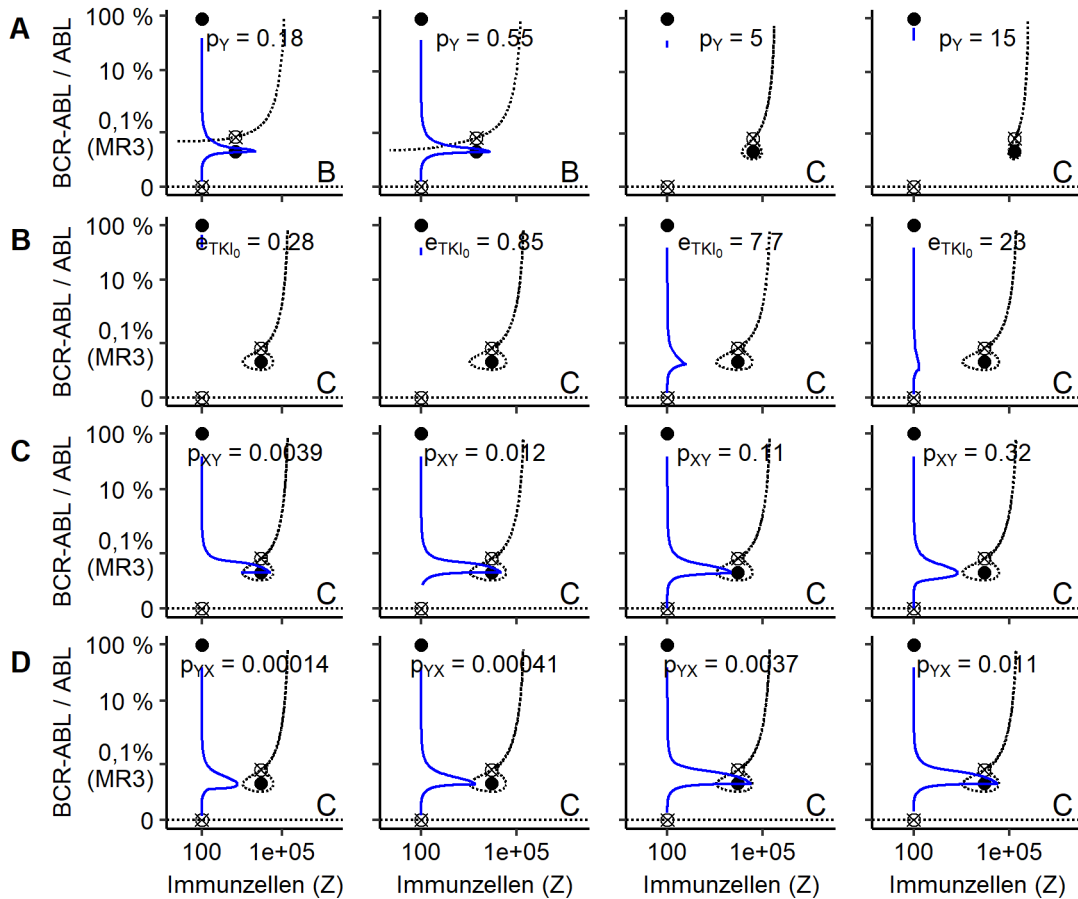


Abbildung 5.24.: **Sensitivitätsanalyse nicht-immunologische Parameter (Immunmodell):** Darstellung des Einflusses von Veränderungen der nicht-immunologischen Parameter auf die Attraktorlandschaft des medianen Patienten. Jede Reihe (**A**: p_Y , **B**: e_{TKI_0} , **C**: p_{XY} , **D**: p_{YX}) zeigt dabei die Folgen einer Anpassung eines Parameters auf 11%, 33%, 300% und 900% des Originalwertes des medianen Patienten (siehe Abbildung 5.23). Die aus der Attraktorlandschaft resultierende Stärke der Immunantwort (Klasse A–C) ist je in der unteren rechten Ecke jedes Phasenportraits gekennzeichnet. Weiterhin ist der Verlauf des BCR-ABL/ABL Verhältnisses und der Immunzellen unter einer 10-jährigen Therapie dargestellt. Weitere Details zur Darstellungsweise können Abbildung 5.21 entnommen werden. Für die angegebenen Parameter gelten die in Tabelle 4.1 angegebenen Einheiten.

Immunproliferationsrate p_Z , Immuninhibitionskonstante K_Z und Apoptoserate a

Veränderungen der Immunproliferationsrate p_Z , der Immuninhibitionskonstante K_Z und der Apoptoserate a der Immunzellen haben einen ähnlichen Einfluss auf die Attraktorlandschaft, die Klassifizierung der Immunantwort und den Verlauf des BCR-ABL/ABL Verhältnisses und der Immunzelllevel unter Therapie, wobei sich p_Z gegensätzlich zu K_Z und a verhält.

Eine Erhöhung der Proliferationsrate p_Z sowie eine Verringerung der Apoptoserate a und der Immuninhibitionskonstante K_Z bewirkt einen Übergang der Immunantwort zu einer *suffizienten und starken* Immunantwort der Klasse B (siehe Abbildung 5.25A–C). Weiterhin wird somit eine deutlich stärkere Stimulation des Immunzelllevels im Therapieverlauf erreicht. Bei Verringerung der Proliferationsrate p_Z sowie bei Erhöhung der Apoptoserate a und der Immuninhibitionskonstante K_Z kommt es hingegen zu einem Übergang zu einer *insuffizienten* Immunantwort (Klasse A) mit deutlich verringerter Aktivierung des Immunsystems im Therapieverlauf. Eine Veränderung der Lage des Remissions-Attraktors E_0 tritt ebenso auf. Höhere Werte für p_Z bzw. niedrigere Werte für a und K_Z führen zu einem Remissions-Attraktor bei niedrigeren BCR-ABL/ABL Verhältnissen, während gegensätzliche Veränderungen der Parameter eine Verschiebung zu höheren BCR-ABL/ABL Leveln bewirken.

Eine Veränderung der Apoptoserate a beeinflusst ebenso das Basis-Immunzelllevel und somit die Lage des Rezidiv-Attraktors E_H . Höhere Werte für a führen dabei zu einem niedrigeren Immunzelllevel in diesem Zustand (siehe Abbildung 5.25C).

Immunzellbildungsrate r_z

Veränderungen der Immunzellbildungsrate r_z zeigen lediglich einen geringen Einfluss auf die Attraktorlandschaft und führen innerhalb des betrachteten Parameterbereichs zu keiner Veränderung der Klassifizierung der Immunantwort. Eine höhere Immunzellbildungsrate führt allerdings zu einem höheren Basis-Immunlevel und verschiebt somit den Rezidiv-Attraktor E_H zu einem höheren Immunzelllevel (siehe Abbildung 5.25D).

Interaktionsrate m

Veränderungen der Interaktionsrate m zeigen lediglich einen geringen Einfluss auf die Attraktorlandschaft und führen innerhalb des betrachteten Parameterbereichs zu keiner Veränderung der Klassifizierung der Immunantwort. Eine höhere Interaktionsrate m verschiebt den Remissions-Attraktor E_L zu niedrigeren Immunzellleveln, verrin-

5.4. CML-Modell mit immunologischer Komponente (Immunmodell)

gert aber ebenso die unter Therapie erreichte Zahl der Immunzellen (siehe Abbildung 5.25E).

Zusammenfassung

Den Parametern p_Z (Immunproliferationsrate), K_Z (Immunitationskonstante) und a (Apoptoserate der Immunzellen) kommt eine entscheidende Bedeutung in der Kontrolle des Rezidivverhaltens zu, indem sie die Stärke der Immunantwort (d.h. die Zuordnung zu den Klassen A bis C) bestimmen. Während die Proliferationsrate leukämischer Zellen (p_Y) ebenso einen Effekt auf die Stärke der Immunantwort zeigt, ist diese im untersuchten Parameterbereich nur für die Unterscheidung einer *suffizienten und starken* Immunantwort von einer *suffizienten und schwachen* Immunantwort ausschlaggebend und hat keine Auswirkungen auf die Existenz eines Remissions-Attraktors. Die TKI-Eliminationsrate (e_{TKI_0}) sowie die beiden Transitionsraten (p_{XY} und p_{YX}) zeigen im Gegensatz hierzu nur einen geringen Einfluss auf die Attraktorlandschaft. Sie beeinflussen allerdings ebenso den Verlauf des BCR-ABL/ABL Verhältnisses und der Immunzellen unter TKI-Therapie und bestimmen somit, ob unter Therapie ein Übergang in den Anziehungsbereich des Remissions-Attraktors stattfindet. Die Immunzellbildungsrate r_z und die Interaktionsrate m zeigen innerhalb des Modells insgesamt nur eine geringe Auswirkung auf das Rückfallverhalten und den Verlauf des BCR-ABL/ABL Verhältnisses und der Immunzellen.

5. Ergebnisse

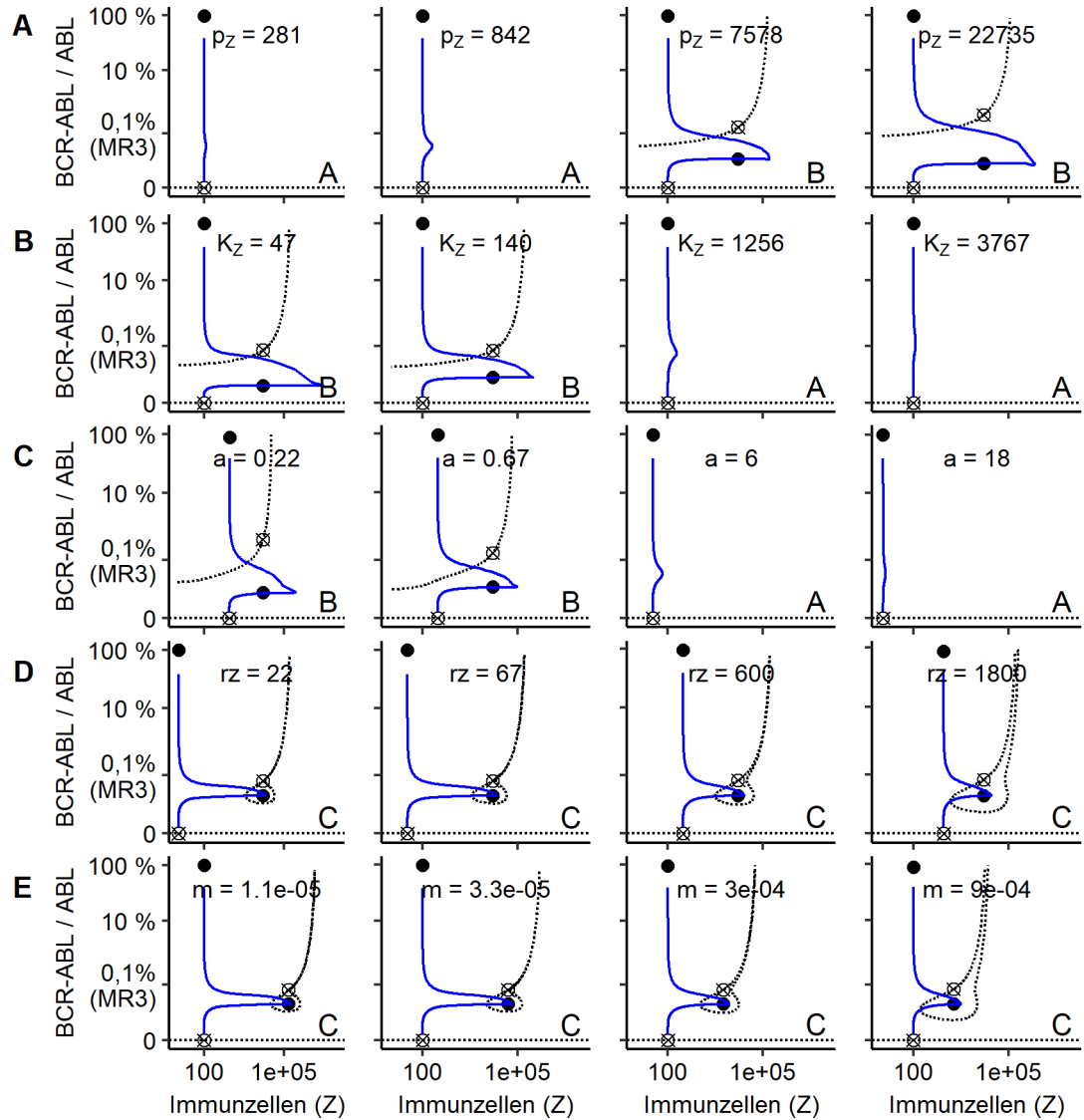


Abbildung 5.25.: **Sensitivitätsanalyse immunologische Parameter (Immunmodell)**: Darstellung des Einflusses von Veränderungen der immunologischen Parameter auf die Attraktorlandschaft des medianen Patienten. Jede Reihe (**A**: p_Z , **B**: K_Z , **C**: a , **D**: r_Z , **E**: m) zeigt dabei die Folgen einer Anpassung eines Parameters auf 11%, 33%, 300% und 900% des Originalwertes des medianen Patienten (siehe Abbildung 5.23). Die aus der Attraktorlandschaft resultierende Stärke der Immunantwort (Klasse A–C) ist je in der unteren rechten Ecke jedes Phasenportraits gekennzeichnet. Weiterhin ist der Verlauf des BCR-ABL/ABL Verhältnisses und der Immunzellen unter einer 10-jährigen Therapie dargestellt. Weitere Details zur Darstellungsweise können Abbildung 5.21 entnommen werden. Für die dargestellten Parameter gelten die in Tabelle 4.1 angegebenen Einheiten.

5.4.5. Einfluss der Therapie auf das Rezidivverhalten

In diesem Kapitel erfolgt eine Untersuchung, wie das Rezidivverhalten von Patienten durch eine Anpassung der Therapiedosierung und der Therapiedauer positiv beeinflusst werden kann, also ein Rezidiv verhindert werden kann. Dabei werden die einzelnen Klassen der Immunantwortstärke getrennt besprochen und es werden konkrete Vorschläge dargelegt, wie aus mathematischer Sicht innerhalb des Modells ein Rezidiv verhindert werden kann.

Patienten mit *insuffizienter* Immunantwort (Klasse A)

Patienten der Klasse A besitzen kein Immunfenster und weisen eine *insuffiziente* Immunantwort auf. Da sie lediglich einen stabilen Gleichgewichtszustand, den Rezidiv-Attraktor E_H , aufzeigen und es sich bei dem Heilungs-Attraktor E_0 um einen instabilen Gleichgewichtszustand handelt, kann für diese Patienten innerhalb des Modells lediglich durch eine komplette Eradikation leukämischer Zellen eine therapiefreie Remission ermöglicht werden. Eine Simulation längerer Behandlungszeiten für Patienten der Klasse A unter Nutzung des immunologischen Modells und der Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5) zeigt bei einer Kompartimentgröße K_Y von 1 Million Zellen, dass hierzu eine mediane Therapiedauer von 29 Jahren notwendig wäre und dies für viele Patienten entsprechend eine lebenslange TKI-Therapie zur Folge hätte. Hierbei ist zu beachten, dass diese Zeitspanne erheblich von der Wahl der Kompartimentgröße K_Y abhängt. So würde eine Eradikation aller leukämischen Zellen bei einer Kompartimentgröße von 10 Millionen Zellen etwa 34,5 Jahre benötigen und bei einer Kompartimentgröße von 100.000 Zellen lediglich 23,5 Jahre.

Ursächlich für die lange benötigte Zeitdauer bis zur kompletten Eradikation aller leukämischen Zellen innerhalb des Modells ist unter anderem die fehlende Wirkung der TKI-Therapie auf ruhende leukämische Zellen in X , wodurch die Elimination dieser Zellen durch die Aktivierungsrate p_{XY} beschränkt wird. Die Simulation einer Therapie bis zur vollständigen Eradikation aller leukämischen Zellen, welche somit ein Absetzen ohne Rezidiv ermöglichen würde, ist für einen repräsentativen Patienten in Abbildung 5.26 dargestellt.

5. Ergebnisse

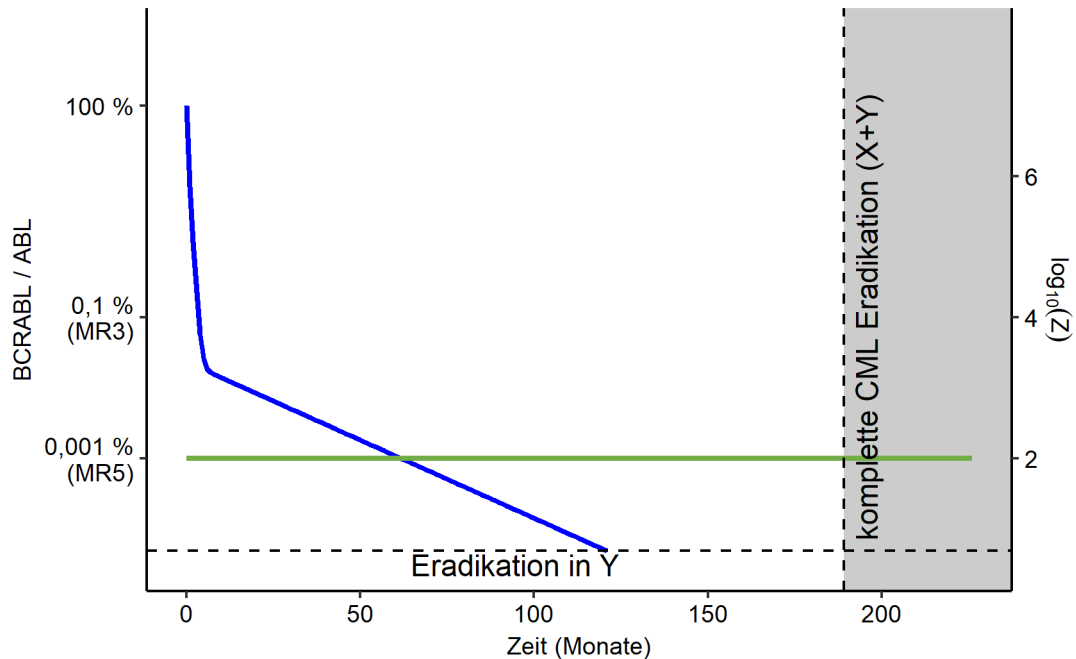


Abbildung 5.26.: **Eradikation aller leukämischen Zellen:** Darstellung des zeitlichen Verlaufs des BCR-ABL/ABL Verhältnisses (blaue Linie) und der Immunzellen (grüne Linie) auf einer logarithmischen Skala bei Simulation einer 16-jährigen TKI-Therapie für einen Patienten der Klasse A (*insuffiziente* Immunantwort). Nach 121 Monaten wird eine Eradikation aller leukämischen Zellen im peripheren Kompartiment Y erreicht (horizontale gestrichelte Linie), die vollständige Eradikation aller leukämischen Zellen ($X + Y$) wird nach 189 Monaten erreicht (vertikale gestrichelte Linie). Ein Absetzen der Therapie nach diesem Zeitpunkt (grauer Hintergrund) würde entsprechend ohne Rezidiv bleiben. Für die Simulation wurde das Immunmodell mit Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5) für Patient 18 verwendet.

Patienten mit *suffizienter und starker* Immunantwort (Klasse B)

Patienten der Klasse B und C besitzen ein Immunfenster und weisen eine *suffiziente* Immunantwort innerhalb des Modells auf. Da sie einen stabilen Remissions-Attraktor E_L besitzen, kann bei diesen Patienten eine immunologisch kontrollierte Remission erreicht werden.

Patienten der Klasse B mit einer *suffizienten und starken* Immunantwort zeigten in den klinischen Daten keine Rezidive nach Absetzen der TKI-Therapie. Sie sind durch eine Immunsystemkonfiguration gekennzeichnet, welche eine immunologisch kontrollierte Remission erlaubt, wenn die Zahl leukämischer Zellen vor Absetzen der Therapie unter eine entsprechende Grenze reduziert wird. Entscheidend hierfür ist, dass durch

5.4. CML-Modell mit immunologischer Komponente (Immunmodell)

eine ausreichend lange TKI-Therapie die Zahl der leukämischen Zellen die in Abbildung 5.27 gezeigte gestrichelte Linie überschreitet.

Folglich würde eine Therapieoptimierung bei diesen Patienten daher vor allem in einer Verkürzung der Therapiedauer bestehen. Entsprechende Simulationen für Patienten dieser Klasse unter Nutzung des immunologischen Modells und der Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5) sagen dabei vorher, dass für diese Patienten im Durchschnitt bereits bei einer Therapiedauer von etwa 20% (Bereich: 2%–40%) der ursprünglichen Therapiedauer eine Remission nach Therapiestopp erreicht wird. In Abbildung 5.27 ist eine solche Reduktion der Therapiedauer für einen repräsentativen Patienten der Gruppe B dargestellt.

5. Ergebnisse

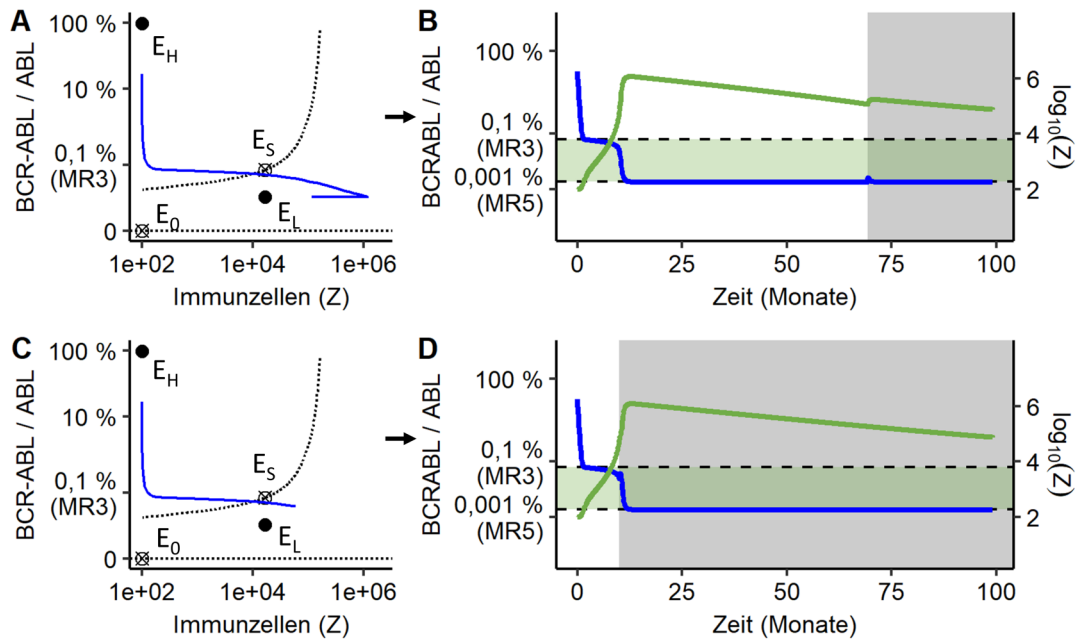


Abbildung 5.27.: **Verkürzung der Therapiedauer:** Darstellung des Einflusses der Therapiedauer auf das Rezidivverhalten eines Patienten der Klasse B (*suffiziente und starke* Immunantwort). Der Verlauf des BCR-ABL/ABL Verhältnisses und der Immunzellen ist jeweils auf der linken Seite bis zum Absetzzeitpunkt im Phasenportrait und auf der rechten Seite im gesamten Zeitverlauf dargestellt. Bei Simulation der tatsächlichen Therapiedauer von 69 Monaten (d.h. der Therapiedauer, die der gezeigte Patient auch innerhalb der klinischen Studie erhalten hat), erreicht dieser den Anziehungsbereich des Remissions-Attraktors E_L (A) und verbleibt nach Therapiestopp in Remission (B). Simulationen einer kürzeren Therapiedauer für den gleichen Patienten zeigen, dass dieser Anziehungsbereich auch bei deutlich kürzerer Therapiedauer (10 Monate) erreicht wird (C) und der Patient in Remission verbleibt (D). Details zur Darstellungsweise der Phasenportraits und des BCR-ABL/ABL Zeitverläufe können der Beschreibung von Abbildung 5.21 entnommen werden. Für die Simulation wurde das Immunmodell mit Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5) für Patient 21 verwendet.

Patienten mit *suffizienter und schwacher* Immunantwort (Klasse C)

In Kontrast zu Klasse B können Patienten der Klasse C ebenso ein Rezidiv trotz einer langen TKI-Therapiedauer zeigen. Lediglich falls die leukämische Zellzahl innerhalb eines schmalen Bereichs gehalten wird, kommt es zu einer suffizienten Stimulation des Immunsystems. Für den Fall, dass die leukämischen Zelllevel noch zu hoch sind, wird eine suffiziente Immunantwort weiterhin unterdrückt, während zu niedrige leukämische Zelllevel das Immunsystem zu schwach stimulieren. Daher kann eine therapiefreie Remission nur erreicht werden, wenn die leukämischen Zelllevel während der Therapie für eine entsprechende Zeitspanne innerhalb des Immunfensters gehalten werden und somit eine adäquate Proliferation der Immunzellen erreicht wird, so dass der Patient den Anziehungsbereich des Remissions-Attraktors E_L erreicht.

Eine Überlagerung der Phasenporträts der Patienten mit *suffizienter und schwacher* Immunantwort mit den korrespondierenden, vorhergesagten Verläufen ihrer Level leukämischer Zellen und Immunzellen unter TKI-Therapie zeigt, dass 4 der 7 Patienten aus Klasse C während ihrer Therapie den Anziehungsbereich des Remissions-Attraktors E_L innerhalb der Modellvorhersage erreichen würden (siehe Abbildung A.9). Für diese Patienten könnte ein Rezidiv verhindert werden, indem die Therapie innerhalb des Anziehungsbereichs des Remissions-Attraktors E_L abgesetzt wird, also eine optimale Therapiedauer verwendet wird. Abbildung 5.28 veranschaulicht diese Abhängigkeit des Rezidivverhaltens von der exakten Wahl des Absetzzeitpunktes für einen repräsentativen Patienten aus Klasse C.

Für die verbleibenden drei Patienten der Klasse C, die im Verlauf der TKI-Therapie den Anziehungsbereich des Remissions-Attraktors E_L nicht erreichen, kann durch eine alleinige Anpassung der Therapiedauer keine Remission erreicht werden. Eine mögliche Strategie zum Erreichen dieses Gleichgewichtszustandes stellt dabei eine Anpassung der *Therapiedosierung* dar, welche den Zeitraum verlängert, in welchem sich der Patient innerhalb des Immunfensters befindet. Um dies zu verdeutlichen, erfolgte die Simulation einer Therapiestrategie mit einer Verringerung der TKI-Dosis beim Erreichen der unteren Grenze des Immunfensters, wodurch der Patient für längere Zeit innerhalb des Immunfensters gehalten wird, sodass es zu einer weiteren Proliferation der Immunzellen kommt. Modelltechnisch erfolgt dies durch eine Multiplikation der ursprünglichen Therapiedosierung e_{TKI_0} mit einer sigmoiden Funktion (siehe Gleichung 4.10 und Abbildung 4.6 in Kapitel 4.3.2). Die Anwendung einer solchen Therapiestrategie auf die verbleibenden drei Patienten zeigt, dass hierdurch bei ausreichender Therapiedauer bei allen drei Patienten eine immunologisch kontrollierte Remission er-

5. Ergebnisse

reicht werden könnte. Ein repräsentatives Beispiel für eine solche Optimierung von Dauer und Dosierung der Therapie ist in Abbildung 5.29 dargestellt.

5.4. CML-Modell mit immunologischer Komponente (Immunmodell)

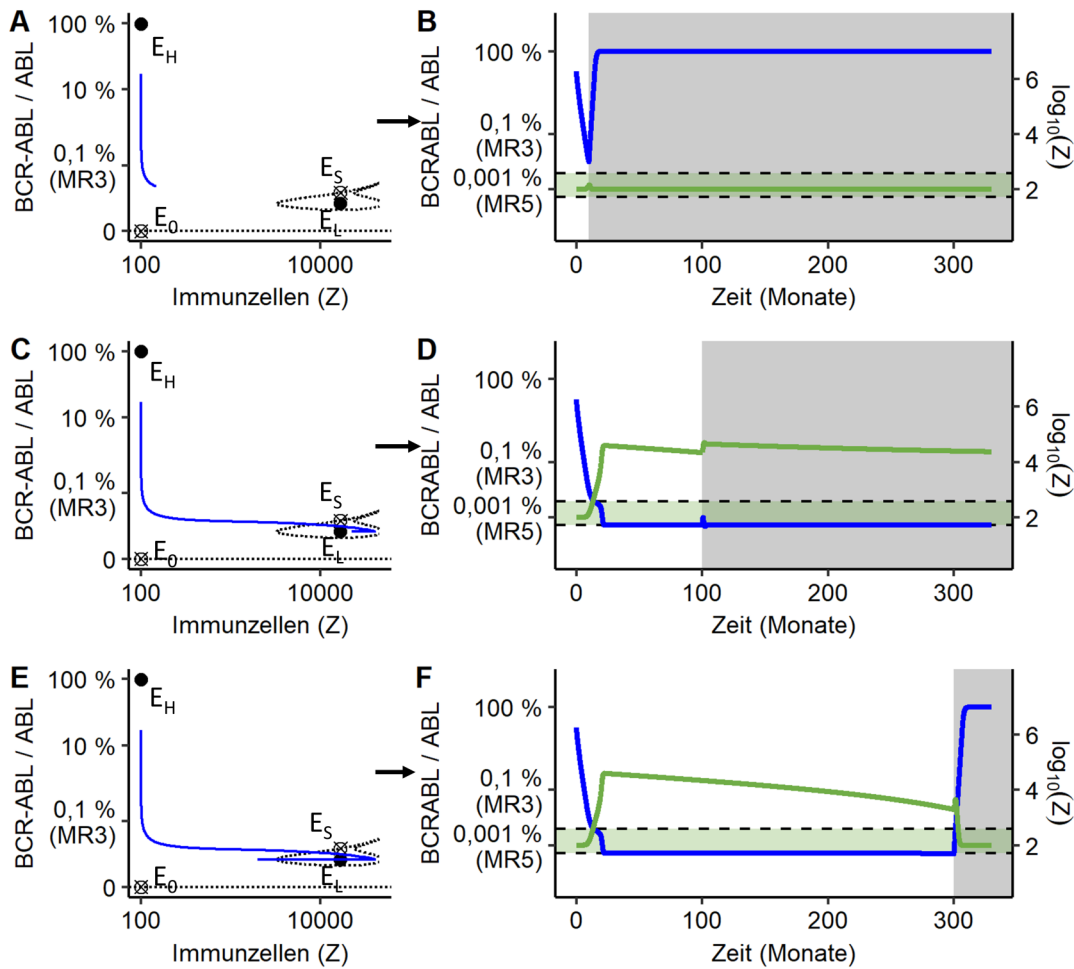


Abbildung 5.28.: **Optimierung der Therapiedauer:** Darstellung des Einflusses der Therapiedauer auf das Rezidivverhalten eines Patienten der Klasse C (*suffiziente und schwache* Immunantwort). Der Verlauf des BCR-ABL/ABL Verhältnisses und der Immunzellen ist jeweils auf der linken Seite im Phasenportrait bis zum Absetzzeitpunkt und auf der rechten Seite im gesamten Zeitverlauf dargestellt. Bei kurzer Therapiedauer verbleibt der Patient im Anziehungsbereich des Rezidiv-Attraktors E_H (A), weshalb er nach Therapiestopp ein Rezidiv zeigt (B). Nur bei einer mittleren Therapiedauer wird der Anziehungsbereich des Remissions-Attraktors E_L erreicht (C) und durch eine ausreichende Stimulation des Immunsystems innerhalb des Immunfensters ein Rezidiv verhindert (D), während bei zu langer Therapiedauer erneut ein Übergang in den Anziehungsbereich des Rezidiv-Gleichgewichtszustandes E_H stattfindet (E) und dies in einem Rezidiv resultiert (F). Details zur Darstellungsweise der Phasenportraits und des BCR-ABL/ABL Zeitverläufe können der Beschreibung von Abbildung 5.21 entnommen werden. Für die Simulation wurde das Immunmodell mit Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5) für Patient 5 verwendet.

5. Ergebnisse

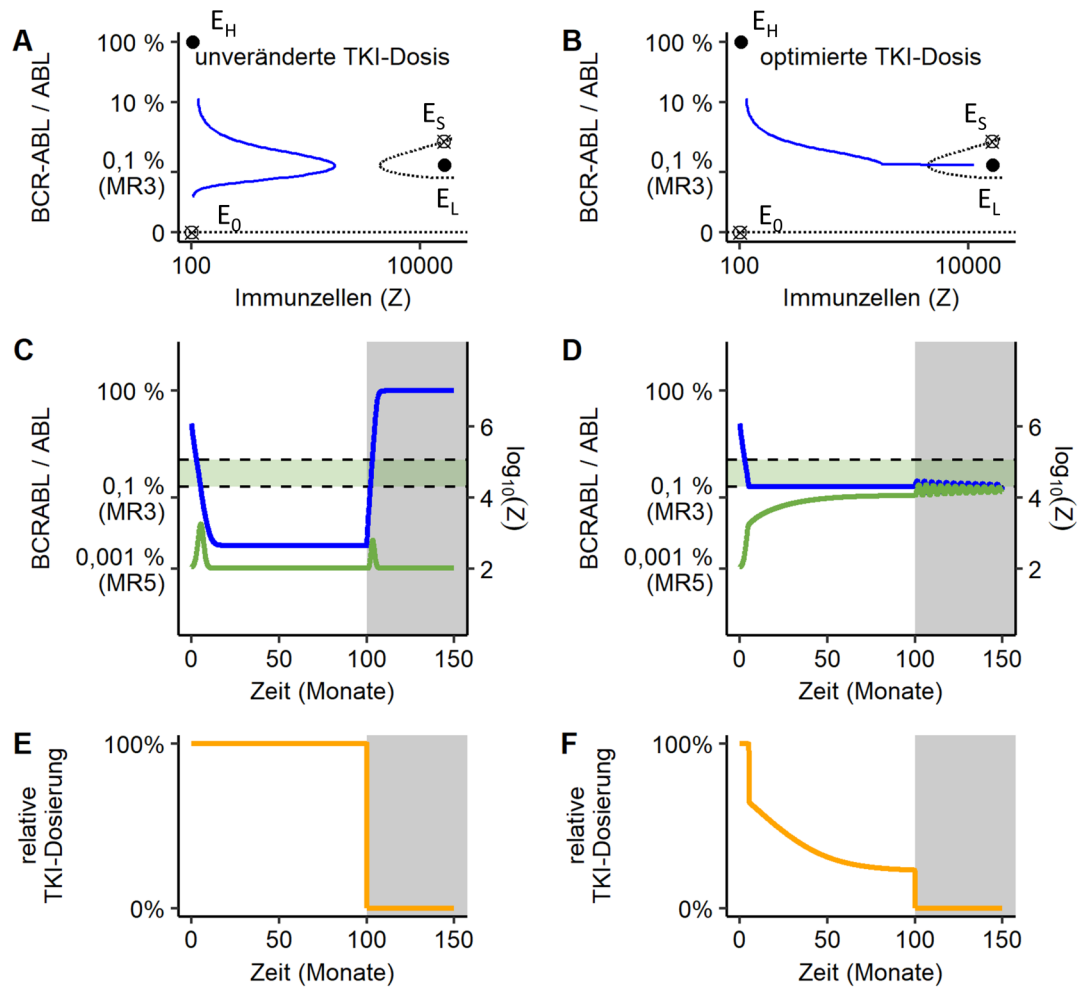


Abbildung 5.29.: **Optimierung der Therapieintensität:** Darstellung einer Strategie zur Optimierung der Therapiedosis, mit der innerhalb der Modellsimulationen eine Verhinderung des Rezidivs für Patienten mit *suffizienter und schwacher* Immunantwort (Klasse C) erreicht wird. Auf der linken Seite ist die bisher verwendete Therapiestrategie mit konstanter TKI-Dosierung dargestellt, rechts die optimierte Therapiestrategie. Für beide Fälle erfolgt die Darstellung des Phasenportraits mit dem Verlauf des BCR-ABL/ABL Verhältnisses und der Immunzellen bis zum Absetzzeitpunkt (**A/B**) und für den gesamten Zeitverlauf inklusive Therapiestopp (**C/D**). Die aus den beiden Therapiestrategien resultierenden Therapieintensitäten sind im Zeitverlauf ebenso dargestellt (**E/F**). Details zur Darstellungsweise der Phasenportraits und der BCR-ABL/ABL Zeitverläufe können der Beschreibung von Abbildung 5.21 entnommen werden. Für die Simulation wurde das Immunmodell mit Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5) und Gleichung 4.10 für Patient 4 verwendet.

5.4.6. Informationsgewinn durch Simulation einer Dosisreduktion

Hintergrund

In den vorherigen Absätzen konnte gezeigt werden, dass eine eindeutige Bestimmung der immunologischen Parameter und die daraus resultierende korrekte Beschreibung des Rezidivverhaltens nur möglich ist, wenn die BCR-ABL/ABL Messwerte nach dem Absetzen in die Analyse mit einbezogen werden. Allerdings kann ein solcher Ansatz natürlich nicht zur Vorhersage des Rezidivverhaltens nach Absetzen der Therapie dienen. Daher soll im Folgenden untersucht werden, ob auch eine andere Systemstörung, wie eine temporäre Dosisreduktion, in der Lage ist die notwendigen Informationen zu liefern, um die individuellen immunologischen Parameter der Patienten bestimmen zu können und somit auch Informationen zum Rezidivverhalten der Patienten nach Absetzen der Therapie zur Verfügung zu stellen. Die vorliegenden individuellen Anpassungen des Immunmodells ermöglichen dabei Simulationen, wie ein Patient sich in einem solchen Therapieszenario, also einer temporären Reduktion der TKI-Dosis, verhalten würde. Anschließend können diese Vorhersagen mit den Ergebnissen klinischer Studien verglichen werden.

Vorgehen

Hierzu erfolgte für die vorliegenden 21 Patienten unter Nutzung des Immunmodells und der mittels Anpassungsstrategie E ermittelten Parameter (siehe Kapitel 4.3.5) die Simulation einer 12-monatigen Halbierung der TKI-Dosis im Anschluss an die ursprüngliche Therapiezeit. Anschließend wurde ein Absetzen der TKI-Therapie simuliert. Dabei wurde für die Dosisreduktion eine lineare Dosis-Wirkungs-Beziehung für den eingesetzten TKI angenommen (La Rosee, 2004; Deininger et al., 2003). Die Simulationsergebnisse von zwei repräsentativen Patienten sind in Abbildung 5.30A/B dargestellt.

Auf die ermittelten BCR-ABL/ABL Verläufe während des 12-monatigen Zeitraums der Dosisreduktion wurde ein lineares Regressionsmodell angewendet, der BCR-ABL/ABL Verlauf über diesen Zeitraum also mittels einer Gerade approximiert. Um den Informationsgehalt des so ermittelten Anstiegs während der Dosisreduktion in Hinblick auf das klinische Rezidivverhalten nach Absetzen der Therapie zu analysieren, wurde ein logistisches Regressionsmodell verwendet (siehe Kapitel 4.3.8). Weiterhin wurde der BCR-ABL/ABL Anstieg mit der Klasse der Immunantwort der jeweiligen Patienten in Beziehung gesetzt.

5. Ergebnisse

Ergebnisse

Die Darstellung des klinischen Rezidivverhaltens gegen den ermittelten BCR-ABL/ABL Anstieg während der Dosisreduktion zeigt, dass Patienten mit einem höheren BCR-ABL/ABL Anstieg öfter ein Rezidiv zeigen als Patienten mit einem geringen bzw. fehlenden BCR-ABL/ABL Anstieg (siehe Abbildung 5.30C). Dabei geht ein Anstieg von 0,01 auf der logarithmierten BCR-ABL/ABL-Skala mit einem um 21% (OR: 1,21, 95% Konfidenzintervall: 1,07–1,51) erhöhten Risiko für ein Rezidiv einher. Die Überlagerung dieser Abbildung mit der jeweiligen Stärke der Immunantwort (Klasse A–C) der einzelnen Patienten zeigt weiterhin, dass Patienten mit *insuffizienter* Immunantwort (Klasse A) stärkere BCR-ABL/ABL Anstiege zeigen, während Patienten der Klasse B mit *suffizienter und starker* Immunantwort nahezu konstante BCR-ABL/ABL Level aufweisen. Patienten der Klasse C präsentieren sowohl konstante als auch steigende BCR-ABL/ABL Verläufe, wobei höhere BCR-ABL/ABL Anstiege auch hier öfter bei Patienten mit einem Rezidiv beobachtet werden.

Diese Ergebnisse sind dabei sowohl quantitativ als auch qualitativ in Übereinstimmung mit einer Analyse von klinischen Daten der DESTINY-Studie (NCT01804985). Diese unterscheidet sich von anderen TKI-Absetzstudien vor allem dadurch, dass vor Absetzen des TKI eine 12-monatige Dosisreduktion auf 50% der ursprünglichen TKI-Dosis durchgeführt wurde (Clark et al., 2019). Auf Basis von 171 Patienten dieser Studie konnten Gottschalk et al. demonstrieren, dass ein BCR-ABL/ABL Anstieg während der Dosisreduktionsphase mit einem ähnlichen Anstieg (OR: 1,28, 95% Konfidenzintervall: 1,17–1,42) der Rezidivwahrscheinlichkeit nach Absetzen der Therapie assoziiert war (Gottschalk et al., 2020).

Auch wenn eine direkte Anpassung der Patienten der DESTINY-Studie an das hier verwendete Modell aufgrund einer fehlenden Verfügbarkeit der BCR-ABL/ABL-Messwerte vor Beginn der Dosisreduktion nicht möglich war, deuten diese Ergebnisse stark darauf hin, dass Veränderungen der TKI-Dosis und die daraus resultierenden BCR-ABL/ABL-Werte Informationen zu einer Vorhersage des individuellen Rezidivverhaltens von Patienten beinhalten.

5.4. CML-Modell mit immunologischer Komponente (Immunmodell)

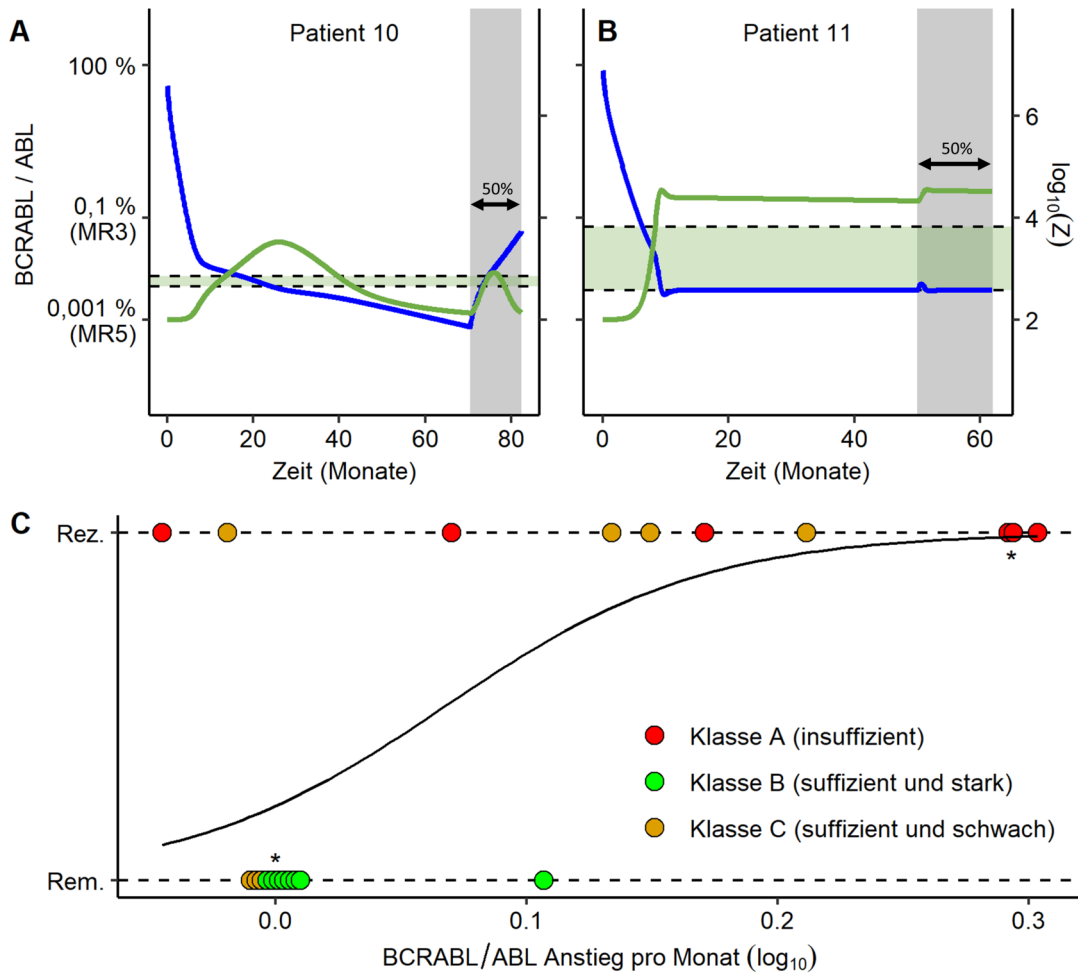


Abbildung 5.30.: **Informationsgewinn durch Simulation einer Dosisreduktion:** **A/B** Simulation einer 12-monatige Dosisreduktion (grauer Bereich) für einen Patienten mit klinischem Rezidiv (**A**) und ohne klinisches Rezidiv (**B**) anhand des Immunmodells. Die Parameterwerte des Modells wurden anhand Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5) ermittelt. Die blaue Linie kennzeichnet den berechneten BCR-ABL/ABL-Verlauf der Simulation, die grüne Linie die korrespondierende Zahl der Immunzellen auf einer logarithmischen Skala. Der grüne Bereich kennzeichnet das Immunfenster. Für den 12-monatigen Dosisreduktionsbereich erfolgte die Berechnung des durchschnittlichen BCR-ABL/ABL Anstiegs anhand eines linearen Regressionsmodells. **C:** Darstellung eines logistischen Regressionsmodells für das klinisch beobachtete Rezidivverhalten der Patienten (Rem.=Remission, Rez.=Rezidiv) in Relation zu ihrem ermittelten BCR-ABL/ABL Anstieg im Dosisreduktionsintervall. Die prognostizierte Stärke der Immunantwort (Klasse A–C) der einzelnen Patienten ist farblich gekennzeichnet. Um Überlagerungen nahe beieinanderliegender Punkte zu vermeiden, wurden nahe beieinander liegende Punkte leicht horizontal gegeneinander verschoben (*).

6. Diskussion

Die Einführung einer spezifischen Therapie der CML durch TKIs hat die Behandlung der CML maßgeblich beeinflusst und stellt aktuell die Standardtherapie für betroffene Patienten dar (Baccarani et al., 2013). Mehrere klinische Studien zeigten, dass bei einem Teil der Patienten mit gutem Therapieansprechen im Verlauf die Therapie beendet werden kann, ohne dass es zu einem Rezidiv kommt (Mahon et al., 2010; Rousselot et al., 2014; Kumagai et al., 2018; Okada et al., 2018; Saussele et al., 2018). Dabei sind allerdings weder die Mechanismen geklärt, welche einem Rezidiv bzw. einer therapiefreien Remission zugrunde liegen, noch kann vorhergesagt werden, welche Patienten von einem Absetzen der Therapie profitieren würden. Diese Problemstellungen wurden in der vorliegenden Arbeit adressiert, indem die Ergebnisse aktueller Studien zur Rolle des Immunsystems bei CML-Patienten (Ilander et al., 2017; Rea et al., 2017; Schütz et al., 2017) in ein mathematisches Modell der CML integriert worden. Im Folgenden wird anhand der vorliegenden Ergebnisse dieser Arbeit auf die initial (siehe Kapitel 1.2) formulierten Fragestellungen eingegangen und eine Einordnung der Ergebnisse in das aktuelle wissenschaftliche Forschungsgebiet vorgenommen. Anschließend erfolgt eine kritische Betrachtung der angewandten Methoden und es wird ein Ausblick gegeben, wie die Ergebnisse dieser Arbeit in zukünftige Forschungsarbeiten einfließen können.

6.1. Diskussion der initial formulierten Fragestellungen

Fragestellung 1: Ist ein um eine immunologische Komponente erweitertes mathematisches Modell notwendig und in der Lage, das Verhalten von Patienten unter TKI-Therapie und nach Absetzen dieser korrekt zu beschreiben?

Zur Beantwortung dieser Frage erfolgte initial die Anpassung eines mathematischen Modells der CML *ohne* immunologische Komponente an die BCR-ABL/ABL Messwerte der vorliegenden 21 Patienten. Es zeigte sich, dass auf diese Weise zwar eine Beschreibung der Patientenverläufe vor Absetzen der Therapie möglich ist, es nach Absetzen der Therapie innerhalb dieses Modells aber durch das Vorliegen residua-

6. Diskussion

ler leukämischer Zellen zu einem Rezidiv aller Patienten kommt. Dies widerspricht klar den vorliegenden klinischen Daten. Innerhalb dieses Modells *ohne* immunologische Komponente konnte eine therapiefreie Remission nur durch eine komplette Eradikation leukämischer Zellen erreicht werden, welche in Übereinstimmung mit den Modellvorhersagen von Horn et al. allerdings eine deutlich längere Therapiedauer voraussetzen würde (Horn et al., 2013). Weiterhin widerspricht die Notwendigkeit einer kompletten Eradikation den Daten klinischer Studien, welche bei vielen Patienten wiederholt niedrige BCR-ABL Level trotz anhaltender therapiefreier Remission nachweisen konnten (Rousselot et al., 2014).

Daher erfolgte in einem nächsten Schritt die Erweiterung dieses Modells um eine individuelle immunologische Komponente als einen möglichen TKI-unabhängigen Mechanismus zur Kontrolle residualer leukämischer Zellen. Auf diese Weise konnte eine korrekte Beschreibung der vorliegenden Patientendaten *vor und nach* Absetzen der TKI-Therapie erreicht werden.

Fragestellung 2: Welche Mechanismen liegen dem Rückfallverhalten innerhalb des Modells zugrunde? Welche Rolle spielt die immunologische Komponente in diesem Zusammenhang?

Basierend auf den Simulationsergebnissen dieser Arbeit können die vorliegenden Patienten in Abhängigkeit der vorhergesagten Konfiguration ihres Immunsystems in drei verschiedene Gruppen (A–C) eingeteilt werden. Diese Einteilung ist dabei entscheidend für das vorhergesagte individuelle Rezidivverhalten: Patienten mit einer *insuffizienten* Immunantwort (Klasse A) sind nicht in der Lage, eine Population residualer leukämischer Zellen zu kontrollieren und erleiden somit ein Rezidiv, wenn keine vollständige Eradikation leukämischer Zellen erreicht wurde. Im Gegensatz hierzu zeigen Patienten der Klasse B und C eine *suffiziente* Immunantwort und besitzen die Fähigkeit, eine erneute Proliferation residualer leukämischer Zellen nach Absetzen der Therapie zu unterdrücken. Grundlage hierfür ist das Vorliegen eines *Immunfensters* bei Patienten der Klasse B/C, d.h. eines Bereichs leukämischer Zellen, in welchem eine effiziente Stimulation des Immunsystems erfolgt. Für Patienten mit einer *suffizienten und starken* Immunantwort (Klasse B) muss zum Erreichen einer therapiefreien Remission die Zahl leukämischer Zellen durch die TKI-Therapie lediglich unter einen bestimmten Grenzwert gesenkt werden. In Kontrast hierzu hängt das vorhergesagte Rezidivverhalten von Patienten mit einer *suffizienten und schwachen* Immunantwort (Klasse C) von einem optimalen Gleichgewicht zwischen der Zahl leukämischer Zellen und der Aktivität des Immunsystems zum Zeitpunkt des Absetzens der Therapie ab.

Somit unterstützt diese Arbeit im Sinne eines konzeptionellen Modellierungsansatzes die Ergebnisse aktueller klinischer Studien, welche einer anti-leukämischen Immunantwort eine Bedeutung in der Aufrechterhaltung einer therapiefreien Remission zuschreiben (Ilander et al., 2017; Rea et al., 2017; Schütz et al., 2017), indem es zeigt, dass aus Modellsicht einer solchen immunologischen Komponente eine entscheidende Rolle für das individuelle Rezidivverhalten zukommen könnte. Weiterhin erweitert diese Arbeit die Anwendungsgebiete immunologischer Modelle der CML, welche sich bisher auf die Beschreibung des Verhaltens unter TKI-Therapie konzentrierten (Kim et al., 2008; Wodarz, 2010; Clapp et al., 2015; Besse et al., 2018), auf den Bereich des Therapieabsetzens und der Beschreibung einer therapiefreien Remission.

Fragestellung 3: Kann das Rückfallverhalten von Patienten unter Nutzung dieses Modells bereits vor dem Absetzen des TKI vorhergesagt werden?

Zur Vorhersage des individuellen Rezidivverhaltens ist eine korrekte Bestimmung der Modellparameter für jeden Patienten notwendig, wobei insbesondere den Immunparametern eine entscheidende Rolle zukommt. Durch die Untersuchung verschiedener Anpassungsstrategien konnte gezeigt werden, dass anhand der BCR-ABL/ABL Messwerte *vor* Absetzen der Therapie keine eindeutige Identifikation der Immunparameter möglich ist und entsprechend unter Nutzung dieses Modells aktuell keine Vorhersage des Rezidivverhaltens getroffen werden kann.

Die Verwendung einer Anpassungsstrategie, welche ebenso Messwerte *nach* Absetzen der Therapie einbezieht, ermöglichte hingegen eine eindeutige Parameterabschätzung mit korrekter Beschreibung des Absetzverhaltens und zeigt, dass die aus dem Absetzen des TKI resultierende Systemstörung die zur Anpassung notwendigen Informationen beinhaltet. Da hierzu die Daten nach Absetzen der Therapie benötigt werden, kann mittels dieses Verfahrens das individuelle Absetzverhalten nicht direkt vorhergesagt werden.

Allerdings zeigten die Ergebnisse der Simulation einer 12-monatigen Dosisreduktion, dass auch BCR-ABL/ABL Veränderungen, welche aus schwächeren Systemstörungen resultieren, ebenso eine Information zur Stärke der Immunantwort (Klasse A–C) des Patienten liefern und teilweise eine Vorhersage des Rezidivverhaltens ermöglichen könnten. Dies wird zusätzlich durch eine Analyse von Patientendaten der DESTINY-Studie (NCT01804985) unterstützt, welche zeigte, dass die BCR-ABL/ABL-Verläufe während einer solchen 12-monatigen Dosisreduktionsphase eine Identifizierung von Patienten mit einem hohen Rezidivrisiko erlaubt (Clark et al., 2019; Gottschalk et al., 2020). Darüber hinaus zeigte sich in dieser Studie eine Reduktion von therapieasso-

6. Diskussion

ziierten Nebenwirkungen (Clark et al., 2019) bei einer lediglich 7%igen Rezidivrate, sodass eine solche Dosisreduktion eine sichere Therapieintervention darstellt (Clark et al., 2017) und einen geeigneten Ansatz für weitere Untersuchungen zur Vorhersage des Rezidivverhaltens bilden könnte.

Alternativ könnte eine Methode zur direkten Quantifizierung des individuellen anti-leukämischen Immunzustandes eines Patienten zu einer Bestimmung der immunologischen Modellparameter ohne die Notwendigkeit einer Systemstörung beitragen und dadurch ebenso einen Beitrag zur Vorhersage des individuellen Rezidivverhaltens liefern. Hierbei muss jedoch angemerkt werden, dass aktuell kein direkt mit einem vereinfachten anti-leukämischen Immunkompartiment korrespondierender Marker bekannt ist. Allerdings zeigten mehrere aktuelle Studien Korrelationen zwischen verschiedenen immunologischen Markern und dem Rezidivverhalten von CML-Patienten nach Absetzen der Therapie (Ilander et al., 2017; Rea et al., 2017; Schütz et al., 2017).

Fragestellung 4: Kann durch eine Anpassung der Therapie (z.B. Veränderung von Dauer und Dosierung der TKI-Gabe) innerhalb des Modells das Rückfallverhalten von Patienten positiv beeinflusst werden, d.h. für manche Patienten ein Rezidiv verhindert werden?

Eine Untersuchung verschiedener Strategien zur Optimierung von Dauer und Dosierung der TKI-Therapie zeigte, dass durch individuell angepasste Therapiestrategien bei einigen Patienten ein Rezidiv innerhalb der Modellvorhersagen verhindert werden konnte. Eine entscheidende Rolle spielte hierbei die Stärke der Immunantwort des Patienten (Klasse A-C): Während für Patienten der Klasse A (*insuffiziente* Immunantwort) in den Modellvorhersagen ein Rezidiv nicht verhindert werden konnte und Patienten der Klasse B (*suffiziente und starke* Immunantwort) bereits ohne Optimierung in therapiefreier Remission verblieben, konnte bei allen Patienten der Klasse C (*suffiziente und schwache* Immunantwort) durch eine Therapieanpassung eine immunologisch kontrollierte Remission innerhalb der Modellvorhersagen erreicht werden. Entscheidend zeigte sich hierfür eine Optimierung der Zahl immunologischer Zellen vor Absetzen des TKI durch eine individuell angepasste Therapie, welche die leukämischen Zellen für ausreichende Zeit innerhalb des Immunfensters hält und somit eine ausreichende Stimulation der Immunantwort bewirkt. Auch wenn ein solches Therapie-regime aufgrund der Notwendigkeit eines engmaschigen Monitorings der individuellen leukämischen Last und des Immunzustandes des Patienten sowie einer exakten Titration der TKI-Dosis klinisch schwierig umzusetzen ist, illustriert dies den potenziellen Nutzen individueller Therapieentscheidungen auf Basis von Modellvorhersagen.

6.2. Kritische Betrachtung der Herangehensweise

6.2.1. Patientenselektion

In dieser Arbeit wurden die BCR-ABL/ABL-Kinetiken von CML-Patienten aus verschiedenen TKI-Absetzstudien (EURO-SKI, STIM, STIM2) sowie Registerdaten lokaler Behandlungszentren als Grundlage für die Modellanpassungen verwendet. Trotz Anwendung der in Kapitel 4.1.2 genannten Selektionskriterien besteht daher auch innerhalb der selektierten Patienten eine gewisse Heterogenität bezüglich klinischer Parameter (z.B. Absetzkriterien) und der Datenerfassung (z.B. Häufigkeit und Zeitpunkte der BCR-ABL Messungen, Vollständigkeit der erhobenen Daten). Weiterhin erfolgte ein Ausschluss vieler Patienten aufgrund einer unzureichenden Qualität der erhobenen BCR-ABL Messungen (z.B. fehlenden initiale Messungen, geringe Gesamt-messzahl, fehlende Daten nach Absetzen des TKI), so dass für die vorliegenden Analysen lediglich ein Datensatz aus 21 Patienten bereitstand. Daher muss von einer nur eingeschränkten Repräsentativität der vorliegenden Daten für die Gesamtheit der CML-Patienten ausgegangen werden. Bei insgesamt niedriger Patientenzahl und hoher Heterogenität der Daten ist außerdem ein relativ hoher Unterschied zwischen Patienten mit und ohne Rezidiv notwendig, damit sich dieser signifikant in den verwendeten Daten darstellt. Die Ergebnisse des Vergleichs von Patienten mit und ohne Rezidiv (siehe Kapitel 5.2) schließen daher geringere Unterschiede zwischen beiden Gruppen, wie die mehrfach beschriebene Korrelation zwischen hoher TKI-Therapiedauer und niedriger Rezidivrate (Mahon et al., 2010; Saussele et al., 2018), nicht sicher aus. Darüber hinaus werden die weiteren Schlussfolgerungen der konzeptionellen Modellierung dieser Arbeit hierdurch nicht relevant eingeschränkt, da die überwiegend qualitativen Analysen und die dargestellte prinzipielle prädiktive Aussagekraft des Modells nicht von einer großen Patientenkohorte abhängt.

6.2.2. Modellierung der CML

Die Ergebnisse dieser Arbeit basieren auf einer Reihe verschiedener Vereinfachungen und Annahmen, welche im Folgenden nacheinander angesprochen werden sollen.

Modellierung der leukämischen Zellen

Bezüglich der Modellierung der leukämischen Zellen wurde zur Vereinfachung des Modells lediglich zwischen ruhenden und proliferierenden leukämischen Zellen unterschieden und auf eine weitere Differenzierung verschiedener Subpopulationen verzichtet.

6. Diskussion

Ebenso wurden keine Unterscheidung zwischen proliferierenden leukämischen Stammzellen im Knochenmark und differenzierten leukämischen Zellen im peripheren Blut getroffen, sondern es wurden beide Zellpopulationen im Kompartiment Y zusammengefasst. Fassoni et al. zeigten dabei in einer vorausgegangenen Arbeit, dass eine solche zusätzliche Differenzierung keinen relevanten Effekt auf das Verhalten des mathematischen Modells zeigt (Fassoni et al., 2018).

Modellierung der Therapie

Zur Modellierung der TKI-Therapie erfolgte die Annahme eines konservativen Szenarios: Es wurde lediglich von einem direkten zytotoxischen Effekt auf proliferierende leukämische Zellen ausgegangen, ohne dass ein Einfluss auf die Aktivierungsrate ruhender leukämischer Stammzellen implementiert wurde. Eine Annahme eines solchen Effektes, d.h. einer Verringerung der Transitionsrate p_{XY} unter Therapie, würde dabei die benötigte Therapiedauer für eine komplette Eradikation leukämischer Zellen noch weiter erhöhen, da auf ruhende Zellen kein TKI-Effekt besteht. Dies würde somit die Idee einer notwendigen Komponente zur Kontrolle residueller leukämischer Zellen weiter unterstützen.

Überdies erfolgte keine Implementierung einer TKI-Resistenz, welche einen weiteren Rezidivmechanismus zusätzlich zu den hier vorgestellten Mechanismen darstellen würde.

Modellierung der immunologischen Komponente

Ebenso wurden mehrere Vereinfachungen bei der Modellierung der immunologischen Komponente angenommen. So bestehen Hinweise auf direkte immunmodulatorische Einflüsse einer TKI-Therapie, insbesondere für den TKI Dasatinib (Hughes & Yong, 2017). Im hier angewandten Modell wird von keiner direkten Wirkung des TKI auf das Immunsystem, sondern lediglich von einer indirekten Wirkung über die leukämische Zellzahl ausgegangen. Patienten mit einer Dasatinib-Therapie fanden sich allerdings nicht in der untersuchten Patientenkohorte.

Außerdem wurde aus Gründen der Vereinfachung eine einheitliche anti-leukämische Immunkomponente verwendet, welche nicht zwischen verschiedenen Immunzelltypen und deren Wechselwirkungen unterscheidet. Mehrere klinische Studien konnten allerdings zeigen, dass verschiedene Immunzelltypen einen Einfluss auf das Rezidivverhalten von Patienten nach Absetzen der TKI-Therapie haben (Ilander & Mustjoki, 2017; Rea et al., 2017; Schütz et al., 2017).

Während in der Vergangenheit ähnliche, auf einem Immunfenster basierende Ansätze der CML-Modellierung untersucht worden (Clapp et al., 2015; Besse et al., 2018), wurde ebenso gezeigt, dass andere Möglichkeiten der Interaktion zwischen leukämischen Zellen und Immunzellen das Rezidivverhalten qualitativ gleichermaßen korrekt beschreiben können (Fassoni et al., 2019).

Modellanpassung

Um eindeutige Parameterwerte bei den Anpassungen des Modells an die Patientendaten zu erreichen, wurde sich auf eine Anpassung der beiden immunologischen Parameter (p_Z, K_Z) sowie der Transitionsraten (p_{XY}, p_{YX}) und der Eliminationsrate e_{TKI_0} beschränkt. Allerdings kommt ebenso den anderen Parametern, insbesondere der Apoptoserate a der Immunzellen und der Proliferationsrate p_Y der leukämischen Zellen auch eine Bedeutung in der Kontrolle des Rezidivverhaltens innerhalb des Modells zu (siehe Kapitel 5.4.4).

Da eine gleichzeitige Schätzung von e_{TKI_0} und p_Y nicht möglich war, erfolgte die Verwendung einer mittleren Proliferationsrate für alle Patienten, welche anhand der Geschwindigkeit der erneuten Proliferation leukämischer Zellen bei Patienten mit einem Rezidiv ermittelt wurde (siehe Kapitel 4.3.5). Hierfür wurde zur Vereinfachung des Modells und um eine Schätzung von p_Y zu ermöglichen, nicht explizit berücksichtigt, dass eine TKI-Therapie die Proliferationsrate leukämischer Zellen reduziert (Druker et al., 1996; Holtz, 2002). Diese Vereinfachung konnte vorgenommen werden, da für das Modellverhalten vor Absetzen der Therapie lediglich die Differenz aus p_Y und e_{TKI_0} entscheidend ist und e_{TKI_0} keinen Einfluss nach Absetzen der Therapie besitzt. Somit ist es möglich, die Wirkung des TKI auf die Apoptoserate und Proliferationsrate gemeinsam über den Parameter e_{TKI_0} abzubilden.

Fassoni et al. nutzten hingegen einen anderen Ansatz zur Ermittlung der Proliferationsrate leukämischer Zellen. Sie schätzten die Proliferationsrate der leukämischen Zellen anhand der Latenz des Auftretens einer Leukämie bei Überlebenden des Atombombenangriffs auf Hiroshima und Nagasaki (Fassoni et al., 2018). Allerdings ermittelten sie auf diese Weise eine geringere Proliferationsrate ($p_Y = 0,19$) als in dieser Arbeit angenommen wurde. Eine mögliche Erklärung hierfür könnten klonale Selektionsprozesse darstellen, welche bei anderen Leukämieformen als Ursache für ein unterschiedliches Proliferationsverhalten der leukämischen Zellen bei Diagnosestellung im Vergleich zum Rezidiv diskutiert werden (Stiehl et al., 2014). Weiterhin erscheint es vorstellbar, dass bei Patienten mit einem Rezidiv eine höhere Proliferationsrate, also eine aggressiver wachsende Leukämie vorliegt, die Proliferationsrate der leukämischen Zellen der

6. Diskussion

Patienten ohne Rezidiv in dieser Arbeit also insgesamt überschätzt wurde. Entsprechend ist es möglich, dass für Patienten ohne Rezidiv die Stärke des Immunsystems überschätzt wurde und der beobachtete Unterschied der immunologischen Parameter zwischen Patienten mit und ohne Rezidiv zu einem Teil auch hierdurch bedingt ist. Aufgrund einer fehlenden Korrespondenz des verwendeten einfachen Immunkompartiments mit einem direkt messbaren biologischen Parameter, wurden für die immunologischen Parameter a (Apoptoserate), r_z (Immunzellbildungsrate) und m (Interaktionsrate) arbiträre Werte verwendet, welche eine niedrige Aktivität des Immunsystems bei hohen Leveln oder Fehlen leukämischer Zellen sicherstellen. Für die Parameter r_z und m konnte dabei gezeigt werden, dass der Einfluss beider Parameter auf das Rezidivverhalten gering ist, während der Einfluss von a teilweise dem Einfluss der Immuninhibitionskonstante K_Z gleicht.

Weiterhin wurde auf eine explizite Überprüfung der Robustheit der geschätzten Parameterwerte (z.B. durch Anwendung einer Profile-Likelihood-Methode) verzichtet. Allerdings kann durch Verwendung des sequentiellen ABC-Ansatzes (statt z.B. eines simpleren ABC-Rejection-Algorithmus oder einer Maximum-Likelihood-Methode wie bei der Anpassung des bi-exponentiellen Modells in dieser Arbeit) bereits von einer gewissen Robustheit der ermittelten Parameterwerte ausgegangen werden, da die Verteilung der Parameter zu einer im Optimum gespitzten Verteilung konvergierten.

Modellierung einer optimierten Therapieintensität

Die in dieser Arbeit verwendete Strategie zur Dosisoptimierung folgt einem simplen Ansatz, welcher die TKI-Dosis bei Erreichen der unteren Grenze des Immunfensters reduziert. Obwohl das Modell dabei von einer kontinuierlichen TKI-Applikation ausgeht, könnte klinisch ein ähnlicher Effekt erreicht werden, wenn die Gabe des TKI bei jedem Unterschreiten des Immunfensters pausiert wird. Aus klinischer Sicht ist dieser Ansatz allerdings problematisch, da zum einen die Abschätzung des Immunfensters aktuell vor Absetzen der Therapie nicht möglich erscheint und ein solches Therapieschema ebenso sehr häufige Messungen der BCR-ABL Spiegel im Blut notwendig macht.

Eine allgemeine Dosisreduktion um einen konstanten Faktor (z.B. 50%) stellt hierbei eine mögliche Alternative dar, führte allerdings in Studien bei einigen Patienten zu einem Rezidiv (Clark et al., 2017). Weiterhin bleibt bei einem solchen Ansatz ebenso unklar, wann bzw. ob ein Absetzen der Therapie ohne Rezidiv möglich ist.

6.3. Ausblick

6.3.1. Erweiterungsmöglichkeiten des verwendeten mathematischen Modells

Aus den Betrachtungen des vorangegangenen Kapitels ergeben sich eine Reihe von Erweiterungsmöglichkeiten für das verwendete mathematische Modell der CML. In Bezug auf die Therapie der CML besteht die Möglichkeit, das verwendete Modell durch Implementation weiterer Therapiemethoden (z.B. Interferon- α) zur Beschreibung anderer klinischer Therapieszenarien nutzbar zu machen. Eine Integration substanzspezifischer Effekte (z.B. immunmodulatorischer Auswirkungen von Dasatinib) könnte darüber hinaus die Präzision der Modellvorhersagen für bestimmte Patienten verbessern. Weiterhin besteht die Möglichkeit, das Modells um den Mechanismus einer TKI-Resistenz zu erweitern, um diese klinische Situation ebenso beschreiben zu können. Weitere Erkenntnisse zur Rolle verschiedener Immunzelltypen bei CML-Patienten sowie der Interaktionen zwischen diesen würden außerdem eine weitere Differenzierung des hier verwendeten Immunzellkompartiment ermöglichen und könnten somit der Verbesserung der Beschreibung und Vorhersage des Verhaltens von CML-Patienten dienen. Schließlich bleibt es ebenso Aufgabe weiterer Forschungsarbeiten, die Auswirkungen anderer möglicher mathematischer Interaktionsformen zwischen leukämischen Zellen und Immunzellen zu untersuchen und zu analysieren, ob diese eine bessere Beschreibung der klinischen Daten ermöglichen.

6.3.2. Unterstützung des Designs klinischer Studien

Die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse stellen lediglich Hypothesen dar, welche in weiteren klinischen Studien auf ihre Gültigkeit überprüft werden müssen. Dabei können die Ergebnisse und Vorhersagen der angewandten Modellierungsansätze dieser Arbeit allerdings das Design entsprechender Studien unterstützen. Mit Hilfe der Ergebnisse klinischer Studien kann wiederum die Konsistenz der Vorhersagen mathematischer Modelle überprüft werden und somit auch ein Rückschluss auf die dem Modell zugrunde liegenden biologischen Grundlagen getroffen werden.

Einen solchen Ansatz stellt unter anderem die hier durchgeführte Nachbildung der DESTINY-Studie mit einer 12-monatigen Dosisreduktion vor Absetzen der Therapie dar (Clark et al., 2019). Die hohe qualitative und quantitative Übereinstimmung der Ergebnisse der in dieser Arbeit durchgeführten Simulationen mit Analysen der DESTINY-Studie (Gottschalk et al., 2020) unterstützt dabei das in dieser Arbeit ange-

6. *Diskussion*

wandte mathematische Modell sowie die diesem Modell zugrunde liegenden Annahmen der Interaktionen zwischen leukämischen Zellen und Immunzellen. Weitere klinische Studien, welche Systemstörungen ähnlich einer solchen passageren Dosisanpassung integrieren, könnten bei gleichzeitiger Verfügbarkeit der gesamten BCR-ABL/ABL-Verläufe voraussichtlich eine bessere Patientencharakterisierung ermöglichen und somit zu einer Verbesserung der Modellprognosen beitragen.

Einen weiteren Ansatz würden klinische Studien darstellen, in welchen die individuelle Fähigkeit einer anti-leukämischen Immunantwort unter TKI-Therapie regelmäßig gemessen und anschließend mit dem beobachteten Rezidivverhalten in Relation gesetzt wird. Hierbei besteht allerdings ein weiterer Forschungsbedarf, um einen robusten Marker zur Quantifizierung einer solchen anti-leukämischen Immunkomponente zu finden.

7. Zusammenfassung

Hintergrund Die Chronisch Myeloische Leukämie (CML) ist eine maligne, hämatologische Erkrankung, welche auf der unregulierten Proliferation von leukämischen myeloischen Zellen im Knochenmark beruht. Ursache der CML stellt in den meisten Fällen die balancierte Translokation $t(9;22)(q34;q11)$ dar, welche zur Expression der konstitutiv aktiven Tyrosinkinase BCR-ABL und somit zur malignen Transformation der hämatopoetischen Stammzelle führt. Die Folge ist eine Verdrängung der normalen Hämatopoese durch leukämische Zellen mit einem unbehandelt letalen Verlauf.

Die Einführung einer spezifischen Therapie der CML durch Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKIs) hat die Behandlung der CML maßgeblich beeinflusst und stellt aktuell die Standardtherapie für betroffene Patienten dar.

Mehrere klinische Studien zeigten, dass bei einem Teil der Patienten mit gutem Therapieansprechen im Verlauf die Therapie beendet werden kann, ohne dass es dabei zu einem Rückfall der Patienten kommt. Da aktuell eine sichere Identifikation dieser Patienten nicht möglich ist, findet diese experimentelle Therapieoption aufgrund des hohen Rezidivrisikos überwiegend nur in klinischen Studien Anwendung. Weiterhin sind die Mechanismen, welche einer therapiefreien Remission zugrunde liegen, nicht endgültig geklärt. Allerdings ergaben mehrere aktuelle Studien Hinweise auf eine immunologische Komponente, der in diesem Zusammenhang eine entscheidende Rolle zukommen könnte.

Während mathematische Modelle das konzeptuelle Verständnis der Mechanismen der CML-Therapie in den letzten Jahren vorangebracht haben und Vorhersagen des Krankheitsverlaufs unter TKI-Therapie erlauben, bleibt die Entwicklung eines Modells zur Vorhersage des Rezidivverhaltens nach Stopp einer TKI-Therapie weiterhin Gegenstand aktueller und zukünftiger Forschung. Weiterhin ist unklar, ob hierzu eine immunologische Modellkomponente berücksichtigt werden muss und auf welche Art und Weise sich diese auf das individuelle Rezidivverhalten auswirken würde.

Fragestellung Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein mathematisches Modell der CML um eine immunologische Komponente erweitert, um eine bessere Beschreibung des

7. Zusammenfassung

Verhaltens von CML-Patienten unter TKI-Therapie und nach Beendigung dieser zu ermöglichen. Es wurde im Sinne eines konzeptionellen Modellierungsansatzes untersucht, welche Mechanismen dem Rezidivverhalten innerhalb eines solchen Modells zugrunde liegen und ob anhand des verwendeten Modells das Auftreten eines Rezidivs zuverlässig vorhergesagt werden kann. Weiterhin wurde der Einfluss von Therapiedauer und Therapieintensität auf das vorhergesagte Rezidivverhalten untersucht.

Material und Methoden Grundlage dieser Arbeit stellen BCR-ABL Verlaufsmessungen von 21 CML-Patienten dar, welche mit einem TKI behandelt wurden und bei denen dieser im Rahmen einer klinischen Intervention abgesetzt wurde.

Initial erfolgte ein Vergleich von Patienten mit und ohne Rezidiv anhand der vorliegenden klinischen Daten und eines statistischen Modells von Horn et al., welches den BCR-ABL/ABL Abfall unter Therapie als bi-exponentielle Funktion beschreibt (Horn et al., 2013).

Anschließend erfolgte die Anpassung eines auf gewöhnlichen Differentialgleichungen (ODE) basierenden mathematischen Modells der CML *ohne* immunologische Komponente an die Patientendaten sowie die Anpassung eines um eine immunologische Komponente erweiterten Modells. Die Ergebnisse beider Modellanpassungen sowie die Ergebnisse verschiedener Strategien zur Anpassung der immunologischen Parameter wurden miteinander verglichen.

Es erfolgte eine Untersuchung der ermittelten individuellen Modellparameter und Attraktorlandschaften des Rezidivverhaltens, um die dem Modell zugrunde liegenden Mechanismen des Rezidivverhaltens besser zu verstehen. Weiterhin wurden Simulationen für verschiedene Therapiedauern und Therapieintensitäten durchgeführt.

Abschließend erfolgte die Simulation einer 12-monatigen Dosisreduktion vor Absetzen der Therapie. Mit Hilfe eines logistischen Regressionsmodells wurde analysiert, ob anhand des vorhergesagten BCR-ABL/ABL Verlaufs während der Dosisreduktion eine Vorhersage des Rezidivverhaltens nach Absetzen der Therapie möglich ist.

Ergebnisse Der Vergleich der klinischen Daten und der Charakteristika des bi-exponentiellen BCR-ABL/ABL Abfalls unter TKI-Therapie zwischen Patienten mit und ohne Rezidiv zeigte keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen und ergab somit keine Möglichkeit für eine Vorhersage des Rezidivverhaltens anhand dieser Daten.

Während die Anpassung des ODE-Modells *ohne* immunologische Komponente bereits eine gute Beschreibung des BCR-ABL/ABL Abfall unter Therapie ermöglichte, versagte dieses Modell bei der Beschreibung einer therapiefreien Remission. Nur durch

Erweiterung des Modells um eine individuelle immunologische Komponente konnte der BCR-ABL/ABL Verlauf während und nach Stopp der TKI-Therapie korrekt wiedergegeben werden. Dabei zeigte sich, dass zur Bestimmung der Modellparameter allerdings eine Einbeziehung der BCR-ABL Messwerte nach Absetzen der Therapie notwendig war.

Deutliche Unterschiede der auf diese Weise ermittelten Immunparameter zwischen Patienten mit und ohne Rezidiv signalisierten einen entscheidenden Einfluss der immunologischen Komponente auf das Rezidivverhalten. Die weitere Untersuchung der Attraktorlandschaften für das Rezidivverhalten zeigte, dass Patienten darüber hinaus anhand ihrer Immunantwort in drei verschiedene Klassen eingeteilt werden können: Einige Patienten zeigten eine *insuffiziente* Immunantwort (Klasse A) und somit nach Therapiestopp immer ein Rezidiv, da ihr Immunsystem nicht in der Lage ist, die erneute Proliferation residualer leukämischer Zellen nach Absetzen der Therapie zu verhindern. Im Gegensatz dazu zeigten einige Patienten eine *suffiziente* Immunantwort. Während Patienten mit einer *suffizienten und starken* Immunantwort (Klasse B) nur eine minimale Therapiedauer in den Simulationen zur Aufrechterhaltung einer Remission nach Therapiestopp benötigten, war die Verhinderung eines Rezidivs für Patienten mit einer *suffizienten und schwachen* Immunantwort (Klasse C) nur bei Erreichen eines optimalen Gleichgewicht zwischen der Zahl leukämischer Zellen und der Aktivität des Immunsystems möglich. Es konnte gezeigt werden, dass dies theoretisch durch eine individuelle, fein abgestimmte Anpassung von Therapiedauer und Therapieintensität erreicht werden kann.

Da eine Bestimmung der Modellparameter nur unter Einbeziehung der BCR-ABL Messungen nach Stopp der TKI-Therapie möglich war, erlaubte dieses Vorgehen entsprechend keine Vorhersage des Rezidivverhaltens. Daher erfolgte die Simulation einer 12-monatigen TKI-Dosisreduktion für jeden Patienten mit einer anschließenden Betrachtung der BCR-ABL/ABL Verläufe während der Dosisreduktion. Eine Korrelation zwischen dem BCR-ABL/ABL Anstieg innerhalb dieses Zeitraums und dem klinischen Rezidivverhalten zeigte, dass die aus einer solchen Systemstörung resultierenden Veränderungen der BCR-ABL/ABL Verläufe die notwendigen Informationen zur Vorhersage des Rezidivverhaltens liefern könnten. Dabei sind diese Modellvorhersagen in qualitativer und quantitativer Übereinstimmung mit klinischen Daten der DESTINY-Studie (NCT01804985).

Schlussfolgerungen Es konnte gezeigt werden, dass ein mathematisches Modell der CML durch Erweiterung um eine immunologische Kontrollkomponente in der Lage

7. Zusammenfassung

ist, den Krankheitsverlauf von CML Patienten während und nach Absetzen der TKI-Therapie korrekt zu beschreiben. Damit unterstützt diese Arbeit die Ergebnisse aktueller klinischer Studien, welche einer anti-leukämischen Immunantwort eine Bedeutung in der Aufrechterhaltung einer therapiefreien Remission zuschreiben.

Da eine Vorhersage des individuellen Rezidivverhaltens allein anhand der BCR-ABL Messungen vor Therapieabsetzen nicht möglich war, unterstreicht diese Arbeit die Notwendigkeit weiterer Studien auf diesem Gebiet. Dabei legen die Ergebnisse diese Arbeit nahe, dass Studien mit klinischen Interventionen, wie z.B. einer temporären TKI-Dosisreduktion, die notwendigen Informationen für solche Vorhersagen enthalten könnten.

8. Summary

Background Chronic Myeloid Leukemia (CML) is a hematological cancer characterized by the unregulated proliferation of immature myeloid cells in the bone marrow. In most cases CML results from the chromosomal translocation $t(9;22)(q34;q11)$, resulting in the expression of the constitutively activated tyrosine kinase BCR-ABL and the malignant transformation of the affected hematopoietic stem cell. This leads to a displacement of the normal hematopoiesis with a lethal course if untreated.

The introduction of Tyrosine Kinase Inhibitors (TKIs) as a specific therapy has significantly influenced the CML treatment and represents the current first line treatment option for affected patients. Several clinical trials confirmed that TKI treatment can be stopped for some well responding patients without the occurrence of a relapse. As it is not yet possible to prospectively identify those patients, TKI discontinuation is still only an experimental option within clinical trials. Also, the mechanisms leading to a relapse or a treatment-free remission still remain unclear. However, recent clinical trials suggest that an immunological component plays an important role in the long-term disease control.

Mathematical models have propelled the conceptual understanding of CML treatment dynamics and allow predictions for TKI treated CML patients. Although the development of a mathematical model predicting the individual relapse behavior after stopping TKI treatment remains the subject of current and further research. Moreover, it is also unclear whether an immunological model component needs to be considered and how it would affect the individual relapse behavior.

Aim of this work Aim of this work was the expansion of a mathematical CML model by an anti-leukemic immune component to improve the description of the disease behavior of CML patients while treated with TKI and after stopping treatment. A mathematical proof of concept analysis of the model mechanisms leading to relapse or treatment-free remission was performed. Also, it was examined whether such a model can reliably predict the occurrence of a relapse.

8. Summary

Material and methods The BCR-ABL time courses of 21 TKI-treated CML patients, for whom TKI-therapy had been stopped as a clinical intervention, were used in this work.

Initially, a comparison of patients with and without relapse was performed by using the clinical data and a statistical model of Horn et al. which describes the BCR-ABL/ABL decline of TKI-treated patients with a bi-exponential function (Horn et al., 2013).

Subsequently, an ordinary differential equation (ODE) model *without* an immune component and an expanded version of this ODE model *with* an immune component was fitted to the patient data. The results of both model adaptations and different fitting strategies were compared.

The individually estimated parameters and attractor landscapes of the relapse behavior were examined to investigate the underlying model mechanism leading to a relapse or remission. Also, simulations for different treatment durations and treatment intensities were performed.

Finally, a 12-month dose reduction period before stopping treatment was simulated. Using a logistic regression model, it was analyzed whether the resulting BCR-ABL/ABL time course within the dose reduction period yields information to predict the clinical relapse behavior.

Results A comparison of the clinical data and the bi-exponential BCR-ABL/ABL decline characteristics between relapsing and non-relapsing patients revealed no differences between both groups and thus, no chance to predict the individual relapse behavior by using this data.

While the adaptation of the ODE-model *without* the immune component could describe the BCR-ABL/ABL decrease during therapy, the model failed to describe a treatment-free remission. Only by expanding the model with an individual immune component, it was possible to correctly reproduce the BCR-ABL/ABL time courses during TKI-treatment and after treatment cessation. Also, an estimation of the individual parameters was only possible by fitting the model to the complete BCR-ABL/ABL time course (including measurements after treatment cessation).

Significant differences of the immune parameters determined in this way between relapsing and non-relapsing patients signaled an important influence of the immune component on the relapse behavior. A detailed mathematical analysis of the identified relapse behavior attractor landscapes also suggested that the available patients can be grouped in three general classes (A–C) corresponding to their individual immune response. Certain patients presented an *insufficient* immune response (class A) and

thus, consistently relapsed after stopping treatment as they were unable to prevent a renewed proliferation of residual leukemic cells after treatment cessation. In contrast, some patients showed a *sufficient* immune response. While patients with a *sufficient and strong* immune response (class B) required only a minimal treatment duration in the simulations to retain a remission after stopping treatment, the prevention of a relapse for patients with a *sufficient and weak* immune response (class C) was only possible if an optimal balance between leukemia abundance and immunological activation was achieved before treatment cessation. It could be shown that this balance can theoretically be achieved by an individual titrated and narrowly adapted treatment duration and intensity.

Since estimations of the model parameters could only be obtained if the complete data (including post-cessation measurements) were available, it was not possible to predict the individual relapse behavior. Therefore, a 12-months TKI dose reduction simulation was performed for each patient and the resulting BCR-ABL/ABL changes within this period were analyzed. A correlation between the BCR-ABL/ABL increase and the clinical relapse behavior suggested that the BCR-ABL/ABL changes from such system perturbation yields the required information for predictions of the relapse behavior. These simulation results are in qualitative and quantitative agreement with clinical data of the DESTINY trial (NCT01804985).

Conclusion It could be shown that a mathematical CML model is capable of describing the treatment response and relapse behavior of CML patients by incorporation of an immunological control component. Thus, this work supports the results of recent clinical trials which suggest an important role of immune cells for the maintenance of a treatment-free remission.

Since a prediction of the individual relapse behavior cannot be obtained from BCR-ABL measurements before stopping treatment, this work highlights the need for further research in this clinical field. Moreover, the results of this work suggest that clinical trials with treatment interventions like a TKI-dose reduction could provide the information required for those predictions.

A. Anhang

A.1. Berechnung des Immunfensters

Als Definition des Immunfensters W wird der Bereich leukämischer Zellen angenommen, für welchen die Proliferationsrate $p_Z * \frac{Y}{K_Z^2 + Y^2}$ die Apoptoserate a der Immunzellen überschreitet. Mit $Z \neq 0$ muss daher folgende Bedingung erfüllt sein:

$$p_Z * \frac{Y}{K_Z^2 + Y^2} > a \quad (\text{A.1})$$

Beim Auflösen dieser Ungleichung nach Y ergibt sich für das Immunfenster W folgender Bereich:

$$\frac{p_Z}{2a} - \sqrt{\frac{p_Z^2}{4a^2} - K_Z^2} < Y < \frac{p_Z}{2a} + \sqrt{\frac{p_Z^2}{4a^2} - K_Z^2} \quad (\text{A.2})$$

Entsprechend ist das Immunfenster W nur für Patienten definiert, für welche gilt:

$$\frac{p_Z^2}{4a^2} > K_Z^2 \quad (\text{A.3})$$

A.2. Berechnung der Attraktoren

Im verwendeten Immunmodell (Gleichung 4.5–4.7) können drei verschiedene Gleichgewichtszustände nach Absetzen des TKI (d.h. $e_{TKI} = 0$) beobachtet werden: ein Rezidiv-Attraktor (I) und zwei Remissions-Attraktoren: komplette Eradikation/Heilung (II) und immunologisch kontrollierte Remission (III). Die Berechnung der drei Gleichgewichtszustände erfolgte in Zusammenarbeit mit Artur Fassoni mit Hilfe der in *To cure or not to cure: consequences of immunological interactions in CML treatment* beschriebenen Methoden (Fassoni et al., 2019). Im Folgenden soll dazu ein kurzer Überblick gegeben werden:

A.2.1. Heilungs-Attraktor

Der Gleichgewichtszustand einer komplette Eradikation leukämischer Zellen bzw. einer kompletten Heilung beschreibt den trivialen Gleichgewichtszustand $E_0 = (X_0, Y_0, Z_0)$ des Gleichungssystems 4.5–4.7. Dieser Zustand ist definiert durch:

$$X_0 = 0 \tag{A.4}$$

$$Y_0 = 0 \tag{A.5}$$

$$Z_0 = \frac{rZ}{a} \tag{A.6}$$

A.2.2. Remissions- und Rezidiv-Attraktor

Der immunologisch kontrollierte Remissions-Attraktor $E_L = (X_L, Y_L, Z_L)$ und der Rezidiv-Attraktor $E_H = (X_H, Y_H, Z_H)$ sind durch leukämische Zelllevel ungleich Null in X und Y gekennzeichnet. Dabei ist der Rezidiv-Attraktor durch höhere leukämische Zelllevel als der Remissions-Attraktor gekennzeichnet, d.h. $X_L < X_H$ und $Y_L < Y_H$.

Die Attraktoren können wie folgt berechnet werden:

Durch Umstellen der Gleichung 4.5 ergibt sich mit $dX/dt = 0$ für X :

$$X = \frac{p_{YX}}{p_{XY}} \tag{A.7}$$

Analog ergibt sich für Z aus Gleichung 4.7 mit $dZ/dt = 0$:

$$Z = \frac{r_Z(K_Z^2 + Y^2)}{a(K_Z^2 + Y^2) - p_{ZY}} \tag{A.8}$$

A.2. Berechnung der Attraktoren

Nun kann mit $dY/dt = 0$ aus Gleichung 4.6 durch Ersetzen von X und Z nach entsprechender Vereinfachung folgende polynomiale Gleichung 3. Grades für Y erhalten werden:

$$-ap_Y Y^3 + (p_Y p_Z + K_Y(ap_Y - mr_Z))Y^2 \pm p_Y(aK_Z^2 + K_Y p_Z)Y + K_Y K_Z^2(ap_Y - mr_Z) = 0 \quad (\text{A.9})$$

Ausgehend von dieser Gleichung kann gezeigt werden, dass für Fälle mit $ap_Y < mr_Z$ keine positive Lösung dieser Gleichung für Y existiert. Dies entspricht einer Immunantwort der Klasse D, bei der Patienten keinen Rezidiv- und keinen Remissions-Attraktor aufweisen, also gesund sind.

Für die Situation $ap_Y > mr_Z$ existieren in Abhängigkeit der Diskriminante der Gleichung zwei Fälle: entweder existiert eine oder drei positive Lösungen für Y .

Falls drei Lösungen existieren, werden diese als $Y_H > Y_S > Y_L$ definiert. Unter Verwendung der Gleichungen A.7 und A.8 können die Gleichgewichtspunkte E_H , E_L und $E_S = (X_S, Y_S, Z_S)$ erhalten werden. Dies entspricht der Klasse B (*suffiziente und starke* Immunantwort) und C (*suffiziente und schwache* Immunantwort) mit zwei Anziehungsbereichen. Die Unterscheidung zwischen Klasse B und C wird daran getroffen, ob eine Störung des Gleichgewichtszustandes E_0 zu einem Übergang in den Attraktor E_L (Klasse B) oder E_H (Klasse C) führt.

Falls lediglich eine positive Lösung $Y > 0$ existiert, beschreibt diese den Rezidiv-Attraktor E_H . Dies entspricht einem Patienten der Klasse A (*insuffiziente* Immunantwort).

A. Anhang

A.3. Abbildungen und Tabellen

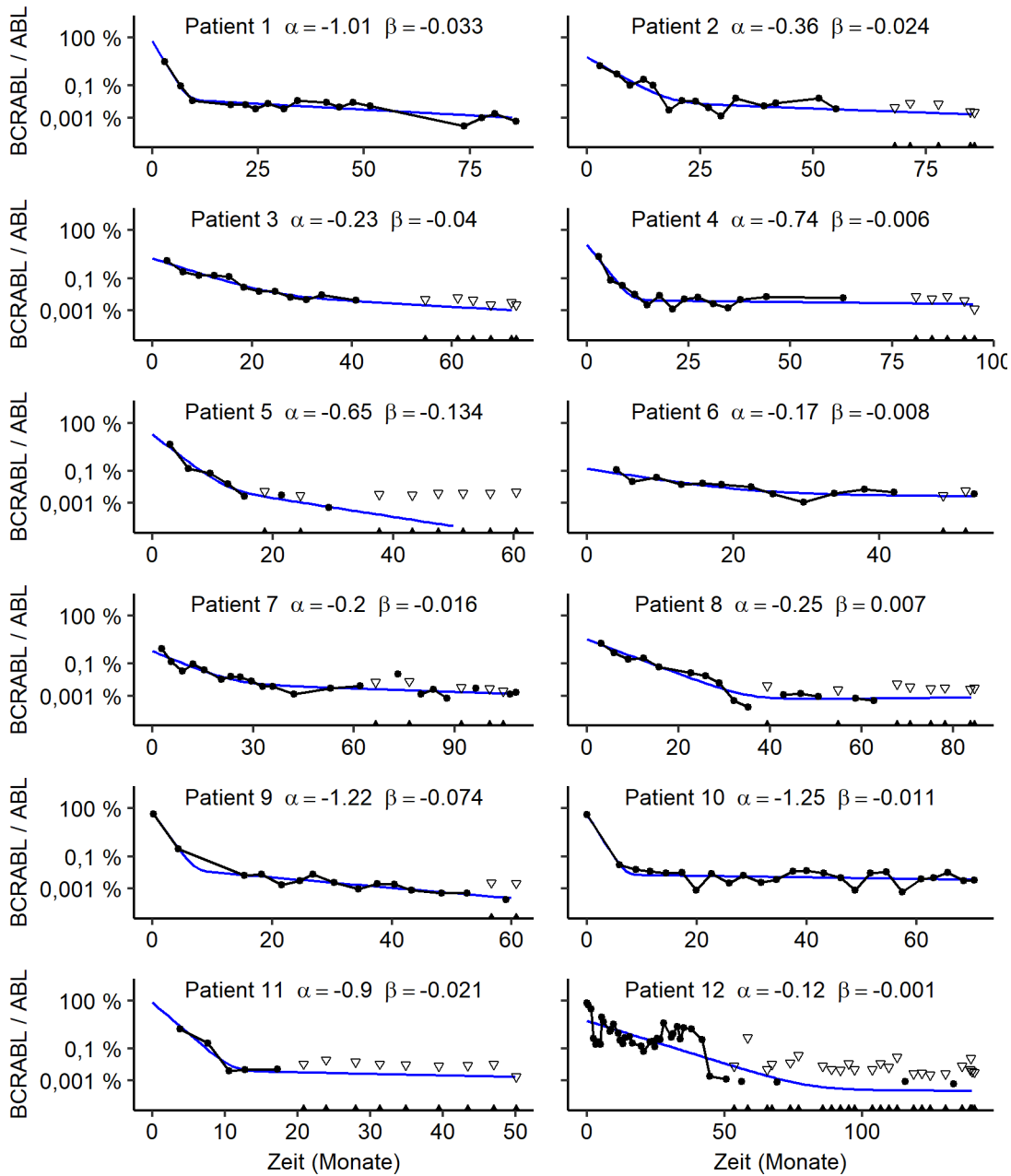


Abbildung A.1.: **Klinische Daten mit korrespondierenden bi-exponentiellen Anpassungen (1):** Darstellung der Patienten 1 bis 12, die verbleibenden Patienten sind zusammen mit der Abbildungsbeschreibung auf der nächsten Seite dargestellt.

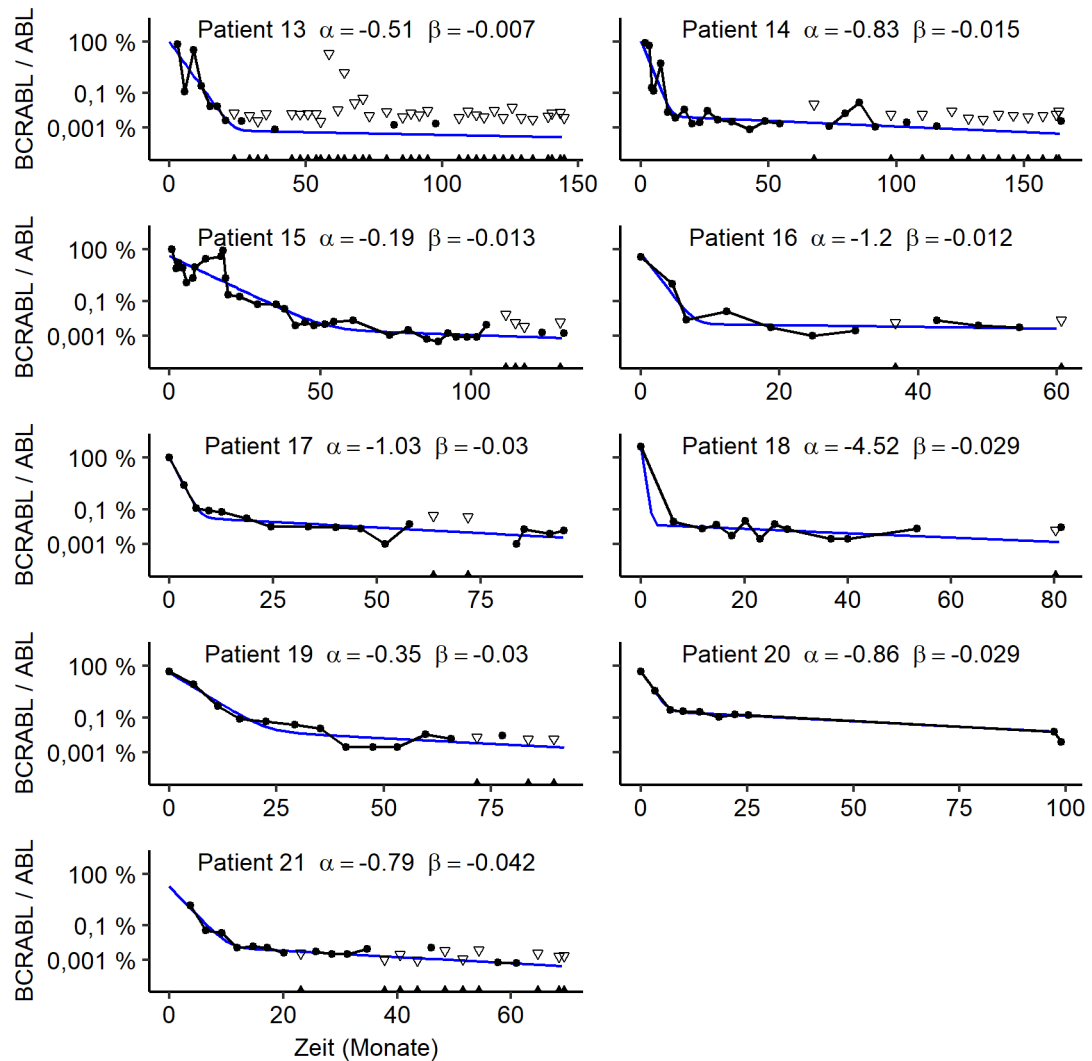


Abbildung A.2.: **Klinische Daten mit korrespondierenden bi-exponentiellen Anpassungen (2)**: Darstellung der Anpassungen des bi-exponentiellen Modells an die 21 selektierten Patienten. BCR-ABL/ABL Messungen sind als schwarze Punkte dargestellt. Schwarze Dreiecke zeigen die untere Detektionsschwelle für undetektierbare BCR-ABL Level an, welche anhand des gemessenen Referenzgens ABL berechnet wurde. Die korrespondierende bi-exponentielle Anpassung ist je als blaue Linie dargestellt und besteht aus einem initialen, steilen Abfall α und einem späteren, langsamen Abfall β . Es sind lediglich Daten bis zum Absetzen des TKI dargestellt.

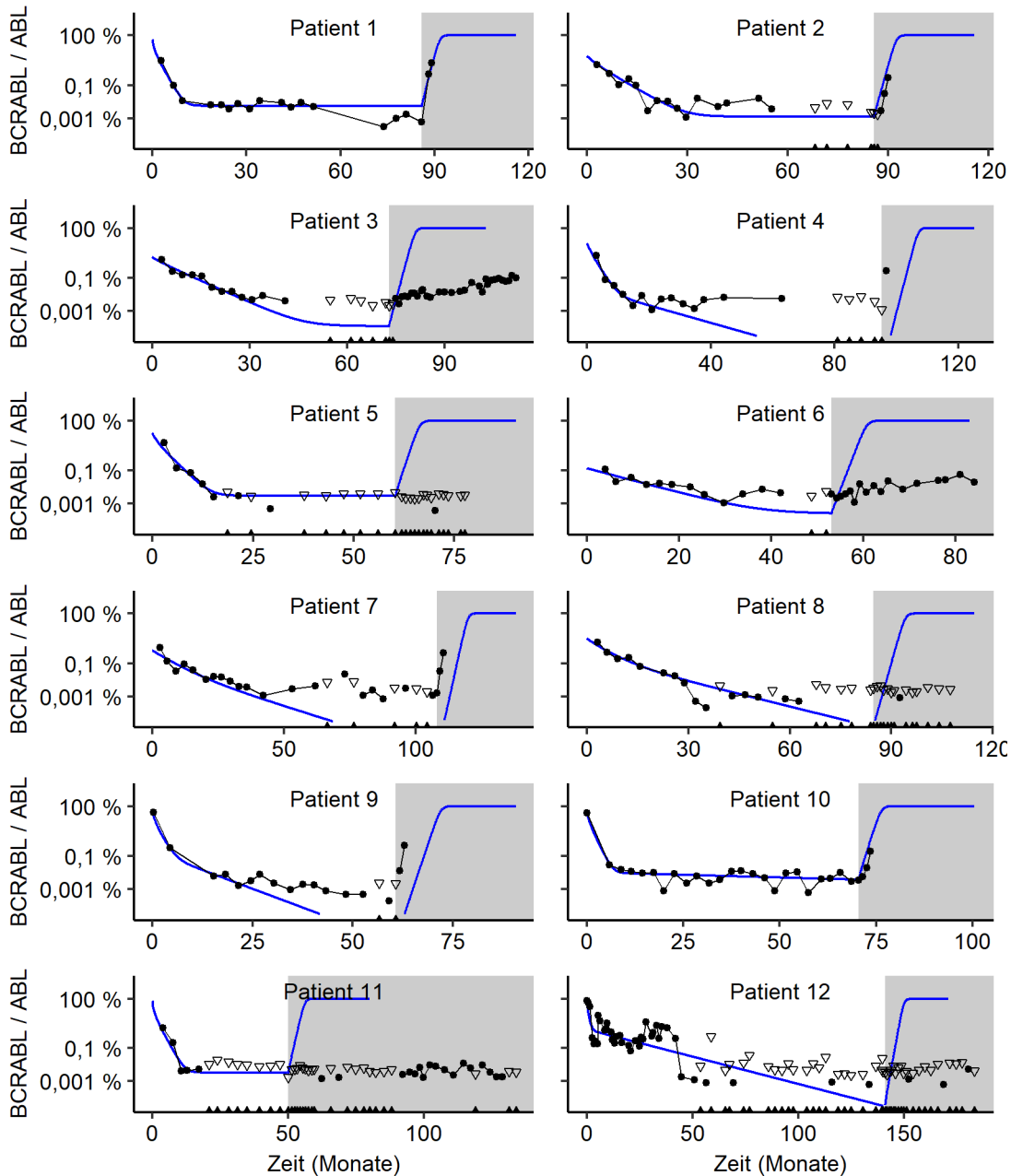


Abbildung A.3.: Anpassungen des CML-Modells *ohne* immunologische Komponente (1): Darstellung der Patienten 1 bis 12, die verbleibenden Patienten sind zusammen mit der Abbildungsbeschreibung auf der nächsten Seite dargestellt.

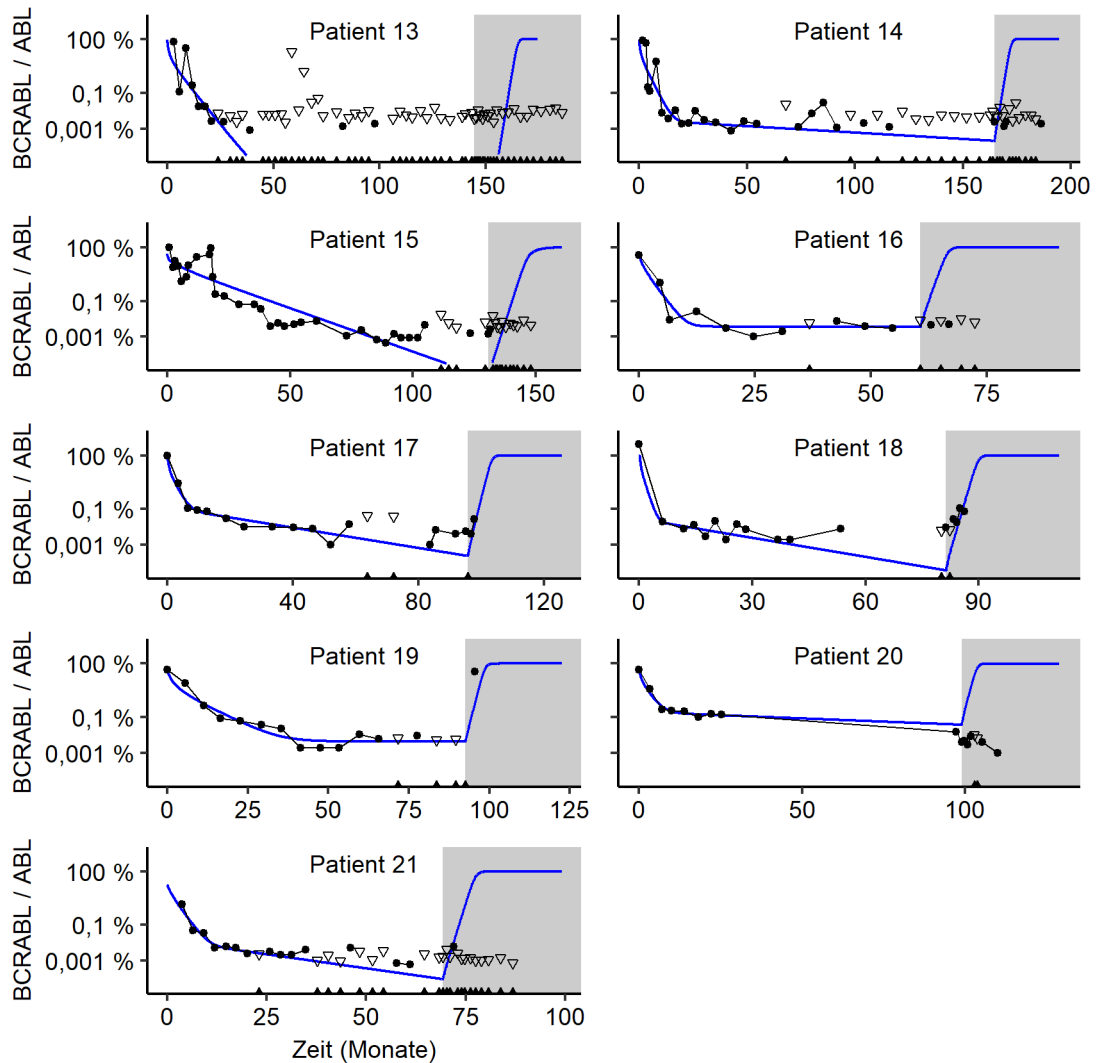


Abbildung A.4.: **Anpassungen des CML-Modells ohne immunologische Komponente (2)**: Darstellung der Anpassung des CML-Modells ohne immunologische Komponente an die 21 selektierten Patienten unter Nutzung von Anpassungsstrategie B (siehe Kapitel 4.3.5). BCR-ABL/ABL Messungen sind als schwarze Punkte dargestellt. Schwarze Dreiecke zeigen die untere Detektionsschwelle für undetektierbare BCR-ABL Level an, welche anhand des gemessenen Referenzgens ABL berechnet wurde. Die korrespondierende Modellanpassung ist als blaue Linie dargestellt. Der Beginn des grauen Hintergrunds kennzeichnet den Zeitpunkt des TKI-Absetzens. Bei einigen Patienten sinkt die Anzahl peripher messbarer leukämischer Zellen unter 1 ab, während weiterhin ruhende Zellen in X vorhanden sind. Die korrespondierenden Parameter zu den dargestellten Simulationen sind in Tabelle A.1 aufgelistet.

Patienten ID	p_{YX}	p_{XY}	e_{TKI_0}	Absetzzeitpunkt
Patient 1	0,000115	1e-06	2,42	85,9
Patient 2	6,1e-05	5,86e-06	1,93	85,7
Patient 3	1,44e-05	2,5e-05	1,86	72,9
Patient 4	0,0011	0,121	2,34	95,2
Patient 5	0,000103	1e-06	2,2	60,3
Patient 6	0,000305	1,01e-06	1,83	53
Patient 7	0,00656	0,123	1,86	108
Patient 8	0,00754	0,122	1,91	84,7
Patient 9	0,00335	0,209	2,61	60,7
Patient 10	0,000393	0,0146	2,74	70,5
Patient 11	5,22e-05	1e-06	2,35	50,1
Patient 12	0,0403	0,0788	2,99	141
Patient 13	1e-05	0,168	2	145
Patient 14	3,02e-05	0,0165	2,19	165
Patient 15	1	0,472	2,08	131
Patient 16	0,000109	0,0011	2,45	60,7
Patient 17	0,00159	0,0655	2,38	95,6
Patient 18	0,000467	0,0815	3,12	81,3
Patient 19	2,78e-05	2,81e-05	1,86	92,6
Patient 20	0,00316	0,0167	2,18	99
Patient 21	5e-04	0,0727	2,35	69,3

Tabelle A.1.: **Anpassungen des CML-Modells ohne immunologische Komponente:** Ermittelte Parameter der Anpassung des CML-Modells ohne immunologische Komponente an die selektierten Patienten unter Nutzung von Anpassungsstrategie B (siehe Kapitel 4.3.5). Folgende konstante Parameterwerte wurden verwendet: $K_Y = 1 * 10^6$ Zellen; $p_Y = 1,66$ Monat⁻¹. Für die in der Tabelle angegebenen Parameter gelten folgende Einheiten: $[p_{YX}] =$ Monat⁻¹, $[p_{XY}] =$ Monat⁻¹, $[e_{TKI_0}] =$ Monat⁻¹ und $[Absetzzeitpunkt] =$ Monat.

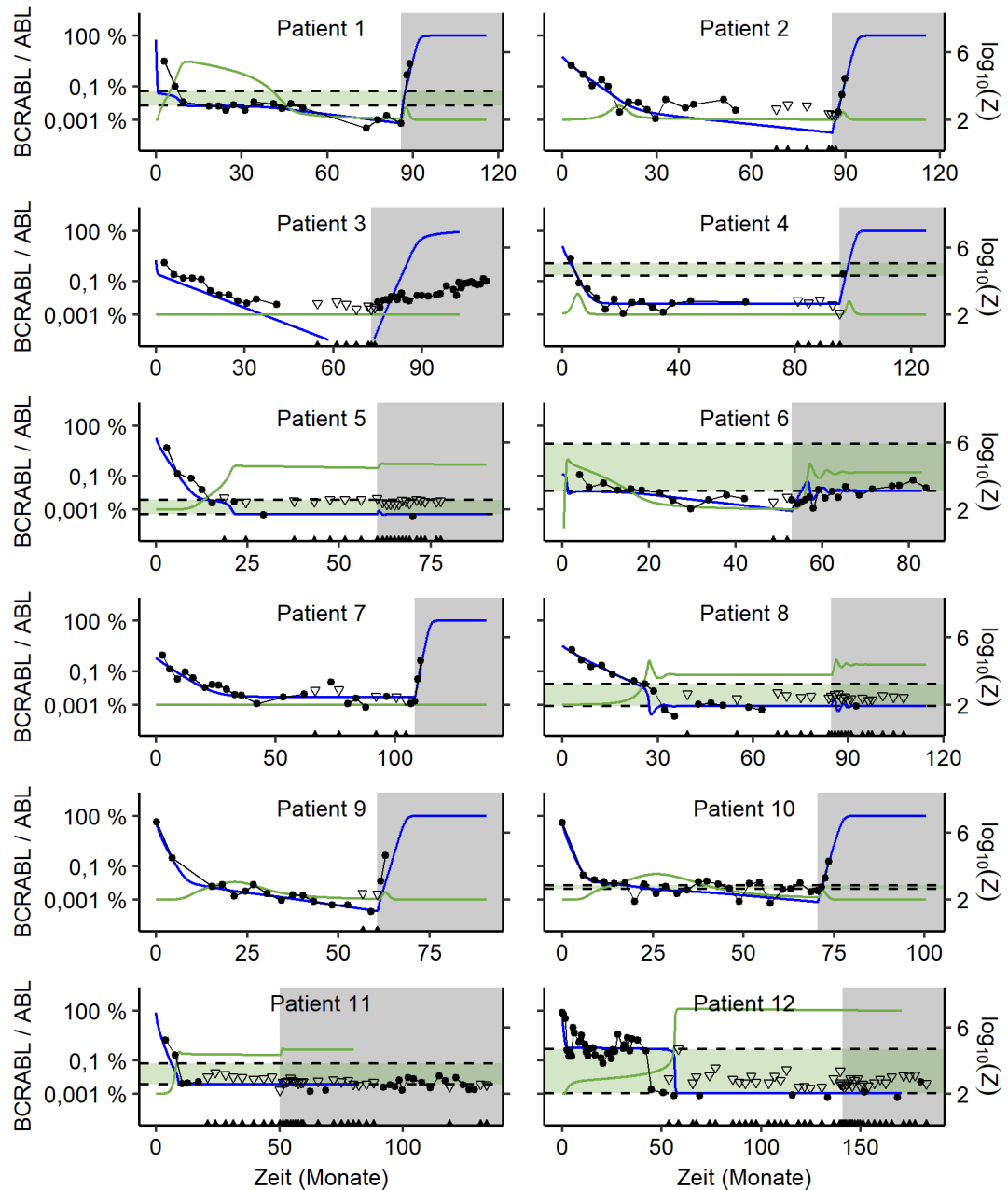


Abbildung A.5.: Anpassungen des Immunmodell mit *individueller* immunologischer Komponente (Anpassung an Daten *vor und nach* dem Absetzen)(1): Darstellung der Patienten 1 bis 12, die verbleibenden Patienten sind zusammen mit der Abbildungsbeschreibung auf der nächsten Seite dargestellt.

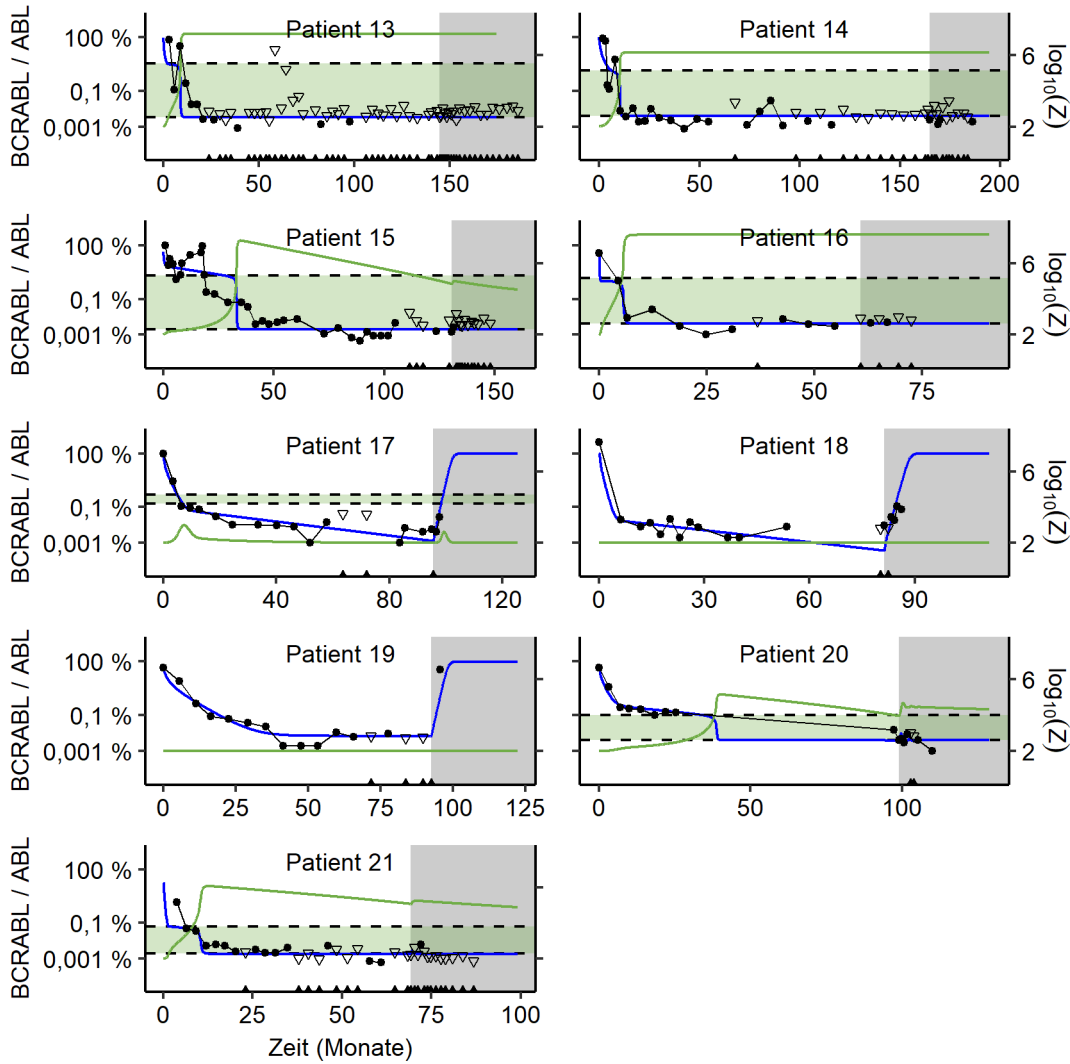


Abbildung A.6.: Anpassungen des Immunmodell mit *individueller immunologischer Komponente (Anpassung an Daten vor und nach dem Absetzen)(2)*: Darstellung der Modellanpassungen an die 21 selektierten Patienten unter Nutzung von Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5). BCR-ABL/ABL Messungen sind als schwarze Punkte dargestellt. Schwarze Dreiecke zeigen die untere Detektionsschwelle für undetektierbare BCR-ABL Level an, welche anhand des gemessenen Referenzgens ABL berechnet wurde. Die korrespondierende Modellanpassung ist durch eine blaue Linie (BCR-ABL/ABL) und grüne Linie (Immunzellen) auf einer logarithmischen Skala dargestellt. Der Beginn des grauen Hintergrunds kennzeichnet den Zeitpunkt des TKI-Absetzens. Die korrespondierenden Parameter zu den dargestellten Simulationen sind in Tabelle A.2 aufgelistet.

A. Anhang

Patienten ID	p_{YX}	p_{XY}	e_{TKI_0}	p_Z	K_Z	Absetzzeitpunkt
Patient 1	0,0126	0,0483	13,9	2210	362	85,9
Patient 2	0,00033	0,0452	1,95	1940	508	85,7
Patient 3	0,878	0,184	6,48	1,5e-07	4,29	72,9
Patient 4	0,000271	1,68e-06	2,31	53800	9570	95,2
Patient 5	0,000181	0,00615	2,38	176	28,7	60,3
Patient 6	0,702	0,205	2,07	311000	6480	53
Patient 7	0,00106	0,000406	1,86	0,00585	26,3	108
Patient 8	0,000215	4,26e-05	1,86	696	74,7	84,7
Patient 9	0,000378	0,0732	2,56	325	85,7	60,7
Patient 10	0,000635	0,0447	2,77	473	115	70,5
Patient 11	0,000302	0,00292	2,57	2820	318	50,1
Patient 12	0,0379	0,00276	4,3	19800	462	141
Patient 13	0,107	4,56e-05	3,23	132000	2120	145
Patient 14	0,00985	1,1e-06	2,13	54000	1430	165
Patient 15	0,585	0,056	3,62	82600	1300	131
Patient 16	0,586	3,22e-05	17,7	57600	1550	60,7
Patient 17	0,00122	0,0452	2,36	26800	5700	95,6
Patient 18	0,000457	0,051	3,32	6,57e-07	6,84	81,3
Patient 19	4,54e-05	2,86e-06	1,86	14,7	1740	92,6
Patient 20	0,00895	0,0387	2,38	4420	419	99
Patient 21	0,0224	0,0353	7,01	2530	212	69,3

Tabelle A.2.: **Anpassungen des Immunmodell mit *individueller* immunologischer Komponente (Anpassung an Daten vor und nach dem Absetzen):** Ermittelte Parameter der Anpassung des Modellanpassung unter Nutzung von Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5). Folgende konstante Parameterwerte wurden verwendet: $K_Y = 1 * 10^6$ Zellen; $p_Y = 1,66$ Monat⁻¹; $a = 2$ Monat⁻¹; $r_z = 200$ Zellen/Monat; $m = 1 * 10^4$ Zellen⁻¹Monat⁻¹. Für die in der Tabelle angegebenen Parameter gelten folgende Einheiten: $[p_{YX}] =$ Monat⁻¹, $[p_{XY}] =$ Monat⁻¹, $[e_{TKI_0}] =$ Monat⁻¹, $[p_Z] =$ Zellen/Monat, $[K_Z] =$ Zellen und $[Absetzzeitpunkt] =$ Monat.

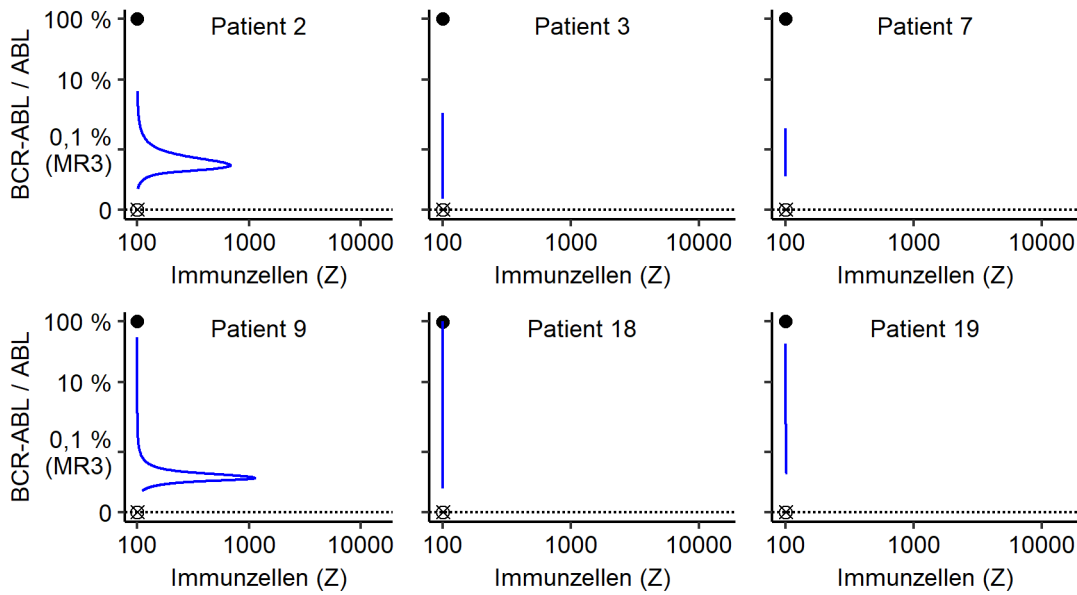


Abbildung A.7.: **Phasenportraits (Klasse A)**: Repräsentationen der Attraktorlandschaften aller Patienten der Klasse A (*insuffiziente* Immunantwort), welche anhand des Immunmodells und Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5) ermittelt wurden. Der Phasenraum (X, Y, Z) der Patienten wurde auf die zweidimensionale Fläche $X = (p_{YX}/p_{XY}) * Y$ beschränkt. Stabile Gleichgewichtszustände sind durch gefüllte Kreise (●), instabile Gleichgewichtszustände durch Kreise mit einem Kreuz (⊗) repräsentiert. Die Ordinate wurde mittels $Y \rightarrow \sqrt[6]{Y}$ transformiert, die Abszisse ist mit einer logarithmischen Skala dargestellt. Der korrespondierende, simulierte BCR-ABL/ABL Verlauf jedes Patienten bis zum Absetzzeitpunkt ist als blaue Linie dargestellt.

A. Anhang

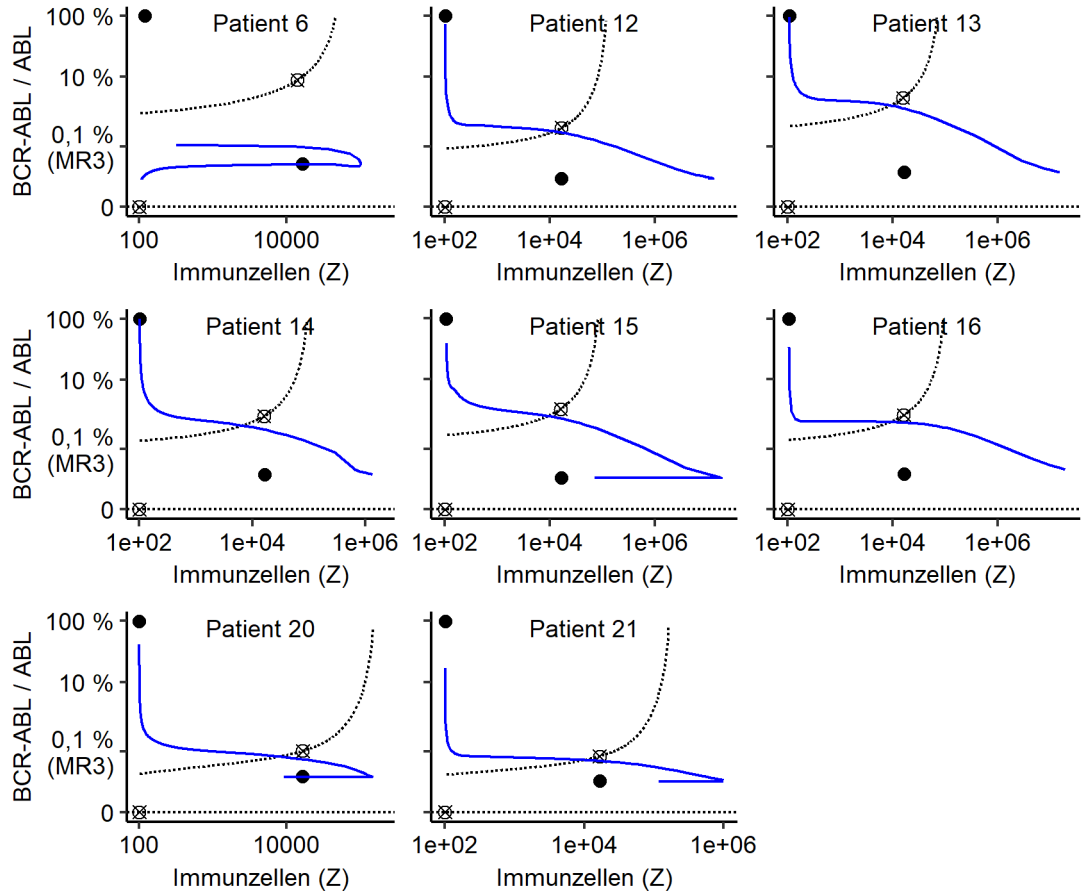


Abbildung A.8: **Phasenportraits (Klasse B)**: Repräsentationen der Attraktorlandschaften aller Patienten der Klasse B (*suffiziente und starke* Immunantwort), welche anhand des Immunmodells und Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5) ermittelt wurden. Der Phasenraum (X, Y, Z) wurde auf die zweidimensionale Fläche $X = (p_{YX}/p_{XY}) * Y$ beschränkt. Stabile Gleichgewichtszustände sind durch gefüllte Kreise (●), instabile Gleichgewichtszustände durch Kreise mit einem Kreuz (⊗) repräsentiert. Die Ordinate wurde mittels $Y \rightarrow \sqrt[6]{Y}$ transformiert, die Abszisse ist mit einer logarithmischen Skala dargestellt. Die Separatrix zwischen den Anziehungsbereichen ist durch eine gestrichelte Linie dargestellt. Der korrespondierende, simulierte BCR-ABL/ABL Verlauf jedes Patienten bis zum Absetzzeitpunkt ist als blaue Linie dargestellt.

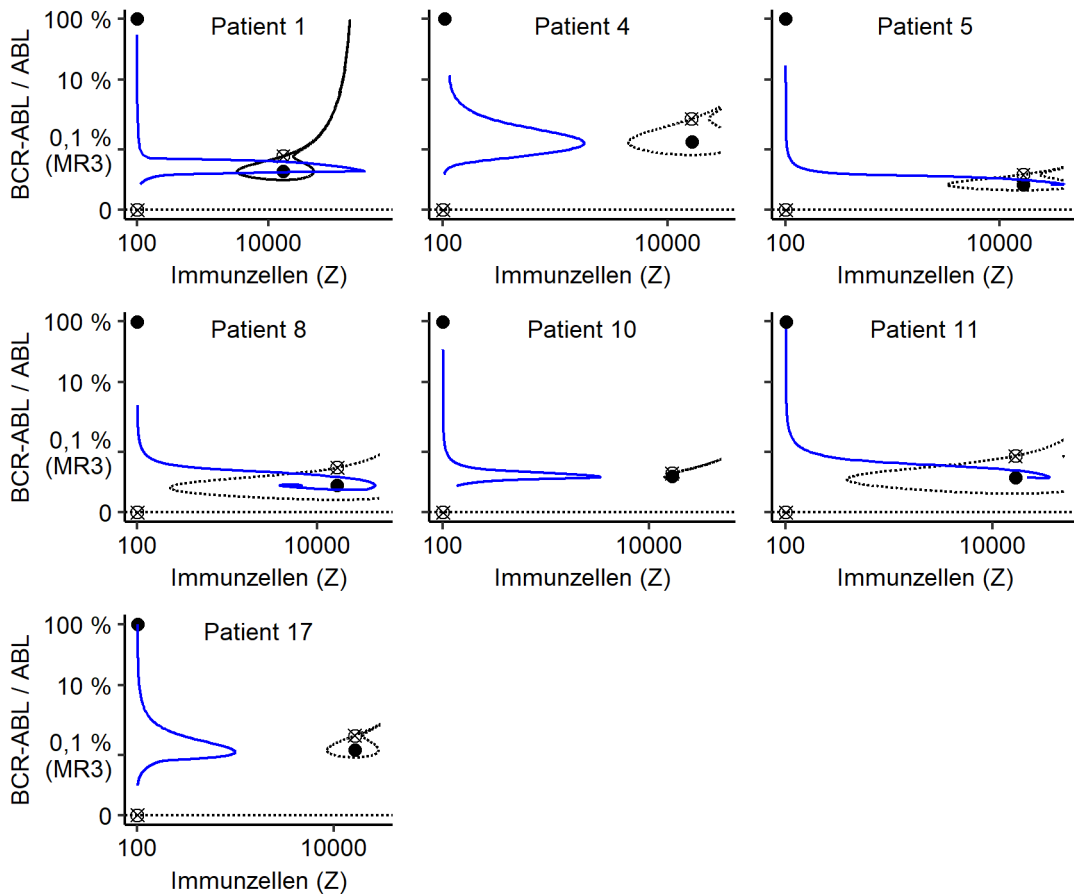


Abbildung A.9.: **Phasenportraits (Klasse C)**: Repräsentationen der Attraktorlandschaften aller Patienten der Klasse C (*suffiziente und schwache* Immunantwort), welche anhand des Immunmodells und Anpassungsstrategie E (siehe Kapitel 4.3.5) ermittelt wurden. Der Phasenraum (X, Y, Z) wurde auf die zweidimensionale Fläche $X = (p_{YX}/p_{XY}) * Y$ beschränkt. Stabile Gleichgewichtszustände sind durch gefüllte Kreise (●), instabile Gleichgewichtszustände durch Kreise mit einem Kreuz (⊗) repräsentiert. Die Ordinate wurde mittels $Y \rightarrow \sqrt[6]{Y}$ transformiert, die Abszisse ist mit einer logarithmischen Skala dargestellt. Die Separatrix zwischen den Anziehungsbe-
 reichen ist durch eine gestrichelte Linie dargestellt. Der korrespondierende, simulierte BCR-ABL/ABL Verlauf jedes Patienten bis zum Absetzzeitpunkt ist als blaue Linie dargestellt.

Literaturverzeichnis

- Adolfsson J, Månsson R, Buza-Vidas N, Hultquist A, Liuba K, Jensen CT, Bryder D, Yang L, Borge OJ, Thoren LA, Anderson K, Sitnicka E, Sasaki Y, Sigvardsson M, Jacobsen SEW. 2005. Identification of Flt3+ Lympho-Myeloid Stem Cells Lacking Erythro-Megakaryocytic Potential. *Cell* 121:295–306.
- Akashi K, Traver D, Miyamoto T, Weissman IL. 2000. A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages. *Nature* 404:193–197.
- Baccarani M. 2006. Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: Recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 108:1809–1820.
- Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF, Cervantes F, Clark RE, Cortes JE, Guilhot F, Hjorth-Hansen H, Hughes TP, Kantarjian HM, Kim DW, Larson RA, Lipton JH, Mahon FX, Martinelli G, Mayer J, Muller MC, Niederwieser D, Pane F, Radich JP, Rousselot P, Saglio G, Saussele S, Schiffer C, Silver R, Simonsson B, Steegmann JL, Goldman JM, Hehlmann R. 2013. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood* 122:872–884.
- Besse A, Clapp GD, Bernard S, Nicolini FE, Levy D, Lepoutre T. 2018. Stability Analysis of a Model of Interaction Between the Immune System and Cancer Cells in Chronic Myelogenous Leukemia. *Bull. Math. Biol.* 80:1084–1110.
- Bower H, Björkholm M, Dickman PW, Höglund M, Lambert PC, Andersson TML. 2016. Life Expectancy of Patients With Chronic Myeloid Leukemia Approaches the Life Expectancy of the General Population. *J. Clin. Oncol.* 34:2851–2857.
- Busch K, Klapproth K, Barile M, Flossdorf M, Holland-Letz T, Schlenner SM, Reth M, Höfer T, Rodewald HR. 2015. Fundamental properties of unperturbed haematopoiesis from stem cells in vivo. *Nature* 518:542–546.

- Butt N, Rojas J, Wang L, Christmas S, Abu-Eisha H, Clark R. 2005. Circulating bcr-abl-specific CD8+ T cells in chronic myeloid leukemia patients and healthy subjects. *Haematologica* 90:1315.
- Caldemeyer L, Dugan M, Edwards J, Akard L. 2016. Long-Term Side Effects of Tyrosine Kinase Inhibitors in Chronic Myeloid Leukemia. *Curr. Hematol. Malig. Rep.* 11:71–79.
- Catlin SN. 2005. The kinetics of clonal dominance in myeloproliferative disorders. *Blood* 106:2688–2692.
- Chen CIU, Maecker HT, Lee PP. 2008. Development and dynamics of robust T-cell responses to CML under imatinib treatment. *Blood* 111:5342–5349.
- Chereda B, Melo JV. 2015. Natural course and biology of CML. *Ann. Hematol.* 94:107–121.
- Clapp GD, Lepoutre T, El Cheikh R, Bernard S, Ruby J, Labussiere-Wallet H, Nicolini FE, Levy D. 2015. Implication of the Autologous Immune System in BCR-ABL Transcript Variations in Chronic Myelogenous Leukemia Patients Treated with Imatinib. *Cancer Res.* 75:4053–4062.
- Clark RE, Polydoros F, Apperley JF, Milojkovic D, Pocock C, Smith G, Byrne JL, de Lavallade H, O'Brien SG, Coffey T, Foroni L, Copland M. 2017. De-escalation of tyrosine kinase inhibitor dose in patients with chronic myeloid leukaemia with stable major molecular response (DESTINY): An interim analysis of a non-randomised, phase 2 trial. *Lancet Haematol.* 4:e310–e316.
- Clark RE, Polydoros F, Apperley JF, Milojkovic D, Rothwell K, Pocock C, Byrne J, de Lavallade H, Osborne W, Robinson L, O'Brien SG, Read L, Foroni L, Copland M. 2019. De-escalation of tyrosine kinase inhibitor therapy before complete treatment discontinuation in patients with chronic myeloid leukaemia (DESTINY): a non-randomised, phase 2 trial. *The Lancet Haematology* 6:e375–e383.
- Cross NC. 2009. Standardisation of molecular monitoring for chronic myeloid leukaemia. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 22:355–365.
- Cross NCP, White HE, Colomer D, Ehrencrona H, Foroni L, Gottardi E, Lange T, Lion T, Machova Polakova K, Dulucq S, Martinelli G, Oppliger Leibundgut E, Pallisgaard N, Barbany G, Sacha T, Talmaci R, Izzo B, Saglio G, Pane F, Müller

- MC, Hochhaus A. 2015. Laboratory recommendations for scoring deep molecular responses following treatment for chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 29:999–1003.
- Deininger MW, O'Brien SG, Ford JM, Druker BJ. 2003. Practical Management of Patients With Chronic Myeloid Leukemia Receiving Imatinib. *JCO* 21:1637–1647.
- Dingli D, Michor F. 2006. Successful Therapy Must Eradicate Cancer Stem Cells. *Stem Cells* 24:2603–2610.
- Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, Ohno S, Segal GM, Fanning S, Zimmermann J, Lydon NB. 1996. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr–Abl positive cells. *Nat Med* 2:561–566.
- Faderl S, Kantarjian HM, Talpaz M. 1999. Chronic myelogenous leukemia: Update on biology and treatment. *Oncology (Williston Park, N.Y.)* 13:169–180; discussion 181, 184.
- Fassoni A, Roeder I, Glauche I. 2019. To Cure or Not to Cure: Consequences of Immunological Interactions in CML Treatment. *Bull Math Biol* .
- Fassoni AC, Baldow C, Roeder I, Glauche I. 2018. Reduced tyrosine kinase inhibitor dose is predicted to be as effective as standard dose in chronic myeloid leukemia: A simulation study based on phase III trial data. *Haematologica* 103:1825–1834.
- Foudi A, Hochedlinger K, Van Buren D, Schindler JW, Jaenisch R, Carey V, Hock H. 2009. Analysis of histone 2B-GFP retention reveals slowly cycling hematopoietic stem cells. *Nat. Biotechnol.* 27:84–90.
- Glauche I, Horn K, Horn M, Thielecke L, Essers MA, Trumpp A, Roeder I. 2012. Therapy of chronic myeloid leukaemia can benefit from the activation of stem cells: Simulation studies of different treatment combinations. *Br. J. Cancer* 106:1742–1752.
- Glauche I, Kuhn M, Baldow C, Schulze P, Rothe T, Liebscher H, Roy A, Wang X, Roeder I. 2018. Quantitative prediction of long-term molecular response in TKI-treated CML - Lessons from an imatinib versus dasatinib comparison. *Sci Rep* 8:12330.
- Gottschalk A, Glauche I, Cicconi S, Clark RE, Roeder I. 2020. Molecular dynamics during reduction of TKI dose reliably identify molecular recurrence after treatment cessation in CML. *Blood* :blood.2019003395.

- Hehlmann R, Hochhaus A, Baccarani M. 2007. Chronic myeloid leukaemia. *The Lancet* 370:342–350.
- Herold G (ed) . 2015. Innere Medizin 2015: eine vorlesungsorientierte Darstellung; unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung; mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis. Selbstverl., Köln. OCLC: 931649054.
- Häggsström M, Furfur, Rad A. 2014. File:Hematopoiesis simple de.svg — Wikimedia Commons, the free media repository [aktualisiert am 02.02.2014, Aufruf am 29.12.2018; Lizenz: CC BY-SA 3.0 <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/deed.en>]. URL: https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Hematopoiesis_simple_de.svg&oldid=235469261.
- Hochhaus A. 2019. TKI and Interferon Alpha Evaluation Initiated by the German Chronic Myeloid Leukemia Study Group - the TIGER Study (NCT01657604). *ClinicalTrials.gov* [aktualisiert am 04.04.2019, Aufruf am 05.05.2019].
- Hochhaus A, Saussele S, Rosti G, Mahon FX, Janssen JJWM, Hjorth-Hansen H, Richter J, Buske C, on behalf of the ESMO Guidelines Committee. 2017. Chronic myeloid leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Ann. Oncol.* 28:iv41–iv51.
- Hoffbrand AV, Moss P, Pettit JE. 2001. *Essential Haematology*. Blackwell Science, Oxford, UK. OCLC: 953286635.
- Hoffmann VS, Baccarani M, Hasford J, Lindoerfer D, Burgstaller S, Sertic D, Costeas P, Mayer J, Indrak K, Everaus H, Koskenvesa P, Guilhot J, Schubert-Fritschle G, Castagnetti F, Di Raimondo F, Lejniece S, Griskevicius L, Thielen N, Sacha T, Hellmann A, Turkina AG, Zaritskey A, Bogdanovic A, Sninska Z, Zupan I, Stegmann JL, Simonsson B, Clark RE, Covelli A, Guidi G, Hehlmann R. 2015. The EU-TOS population-based registry: Incidence and clinical characteristics of 2904 CML patients in 20 European Countries. *Leukemia* 29:1336–1343.
- Holtz MS. 2002. Imatinib mesylate (STI571) inhibits growth of primitive malignant progenitors in chronic myelogenous leukemia through reversal of abnormally increased proliferation. *Blood* 99:3792–3800.
- Horn M, Glauche I, Muller MC, Hehlmann R, Hochhaus A, Loeffler M, Roeder I. 2013. Model-based decision rules reduce the risk of molecular relapse after cessation of tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukemia. *Blood* 121:378–384.

- Hughes A, Clarson J, Tang C, Vidovic L, White DL, Hughes TP, Yong ASM. 2017. CML patients with deep molecular responses to TKI have restored immune effectors and decreased PD-1 and immune suppressors. *Blood* 129:1166–1176.
- Hughes A, Yong ASM. 2017. Immune Effector Recovery in Chronic Myeloid Leukemia and Treatment-Free Remission. *Front. Immunol.* 8.
- Ilander M, Mustjoki S. 2017. Immune control in chronic myeloid leukemia. *Oncotarget* 8.
- Ilander M, Olsson-Strömberg U, Schlums H, Guilhot J, Brück O, Lähteenmäki H, Kasanen T, Koskenvesa P, Söderlund S, Höglund M, Markevärn B, Själander A, Lotfi K, Dreimane A, Lübking A, Holm E, Björemann M, Lehmann S, Stenke L, Ohm L, Gedde-Dahl T, Majeed W, Ehrencrona H, Koskela S, Saussele S, Mahon FX, Porkka K, Hjorth-Hansen H, Bryceson YT, Richter J, Mustjoki S. 2017. Increased proportion of mature NK cells is associated with successful imatinib discontinuation in chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 31:1108–1116.
- Jabbour E, Kantarjian H. 2016. Chronic myeloid leukemia: 2016 update on diagnosis, therapy, and monitoring: Chronic myeloid leukemia. *Am. J. Hematol.* 91:252–265.
- Jones DL, Wagers AJ. 2008. No place like home: Anatomy and function of the stem cell niche. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 9:11–21.
- Kiel MJ, Yilmaz OH, Iwashita T, Yilmaz OH, Terhorst C, Morrison SJ. 2005. SLAM Family Receptors Distinguish Hematopoietic Stem and Progenitor Cells and Reveal Endothelial Niches for Stem Cells. *Cell* 121:1109–1121.
- Kim PS, Lee PP, Levy D. 2008. Dynamics and Potential Impact of the Immune Response to Chronic Myelogenous Leukemia. *PLoS Comput. Biol.* 4:e1000095.
- Komarova NL, Wodarz D. 2005. Drug resistance in cancer: Principles of emergence and prevention. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102:9714–9719.
- Komarova NL, Wodarz D. 2007. Effect of Cellular Quiescence on the Success of Targeted CML Therapy. *PLoS ONE* 2:e990.
- Komarova NL, Wodarz D. 2009. Combination Therapies against Chronic Myeloid Leukemia: Short-term versus Long-term Strategies. *Cancer Res.* 69:4904–4910.
- Kondo M, Weissman IL, Akashi K. 1997. Identification of clonogenic common lymphoid progenitors in mouse bone marrow. *Cell* 91:661–672.

- Kumagai T, Nakaseko C, Nishiwaki K, Yoshida C, Ohashi K, Takezako N, Takano H, Kouzai Y, Murase T, Matsue K, Morita S, Sakamoto J, Wakita H, Sakamaki H, Inokuchi K, the Kanto CML and Shimousa Hematology Study Groups. 2018. Dasatinib cessation after deep molecular response exceeding 2 years and natural killer cell transition during dasatinib consolidation. *Cancer Sci.* 109:182–192.
- La Rosee P. 2004. In vitro efficacy of combined treatment depends on the underlying mechanism of resistance in imatinib-resistant Bcr-Abl-positive cell lines. *Blood* 103:208–215.
- Leder K, Foo J, Skaggs B, Gorre M, Sawyers CL, Michor F. 2011. Fitness Conferred by BCR-ABL Kinase Domain Mutations Determines the Risk of Pre-Existing Resistance in Chronic Myeloid Leukemia. *PLoS ONE* 6:e27682.
- Lenormand M, Jabot F, Deffuant G. 2013. Adaptive approximate Bayesian computation for complex models. *Comput. Stat.* 28:2777–2796.
- Loeffler M, Roeder I. 2002. Tissue Stem Cells: Definition, Plasticity, Heterogeneity, Self-Organization and Models – A Conceptual Approach. *Cells Tissues Organs* 171:8–26.
- Månsson R, Hultquist A, Luc S, Yang L, Anderson K, Kharazi S, Al-Hashmi S, Liuba K, Thorén L, Adolfsson J, Buza-Vidas N, Qian H, Soneji S, Enver T, Sigvardsson M, Jacobsen SEW. 2007. Molecular Evidence for Hierarchical Transcriptional Lineage Priming in Fetal and Adult Stem Cells and Multipotent Progenitors. *Immunity* 26:407–419.
- Mahon FX. 2017. Treatment-free remission in CML: Who, how, and why? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2017:102–109.
- Mahon FX, Réa D, Guilhot J, Guilhot F, Huguet F, Nicolini F, Legros L, Charbonnier A, Guerci A, Varet B, Etienne G, Reiffers J, Rousset P. 2010. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: The prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol.* 11:1029–1035.
- Michor F, Hughes TP, Iwasa Y, Branford S, Shah NP, Sawyers CL, Nowak MA. 2005. Dynamics of chronic myeloid leukaemia. *Nature* 435:1267–1270.
- Moore KA. 2006. Stem Cells and Their Niches. *Science* 311:1880–1885.

- Morrison SJ, Weissman IL. 1994. The long-term repopulating subset of hematopoietic stem cells is deterministic and isolatable by phenotype. *Immunity* 1:661–673.
- Notta F, Zandi S, Takayama N, Dobson S, Gan OI, Wilson G, Kaufmann KB, McLeod J, Laurenti E, Dunant CF, McPherson JD, Stein LD, Dror Y, Dick JE. 2016. Distinct routes of lineage development reshape the human blood hierarchy across ontogeny. *Science* 351:aab2116–aab2116.
- O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, Gathmann I, Baccarani M, Cervantes F, Cornelissen JJ, Fischer T, Hochhaus A, Hughes T, Lechner K, Nielsen JL, Rousselot P, Reiffers J, Saglio G, Shepherd J, Simonsson B, Gratwohl A, Goldman JM, Kantarjian H, Taylor K, Verhoef G, Bolton AE, Capdeville R, Druker BJ. 2003. Imatinib Compared with Interferon and Low-Dose Cytarabine for Newly Diagnosed Chronic-Phase Chronic Myeloid Leukemia. *N. Engl. J. Med.* 348:994–1004.
- Okada M, Imagawa J, Tanaka H, Nakamae H, Hino M, Murai K, Ishida Y, Kumagai T, Sato S, Ohashi K, Sakamaki H, Wakita H, Uoshima N, Nakagawa Y, Minami Y, Ogasawara M, Takeoka T, Akasaka H, Utsumi T, Uike N, Sato T, Ando S, Usuki K, Mizuta S, Hashino S, Nomura T, Shikami M, Fukutani H, Ohe Y, Kosugi H, Shibayama H, Maeda Y, Fukushima T, Yamazaki H, Tsubaki K, Kukita T, Adachi Y, Nataduka T, Sakoda H, Yokoyama H, Okamoto T, Shirasugi Y, Onishi Y, Nohgawa M, Yoshihara S, Morita S, Sakamoto J, Kimura S. 2018. Final 3-year Results of the Dasatinib Discontinuation Trial in Patients With Chronic Myeloid Leukemia Who Received Dasatinib as a Second-line Treatment. *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* 18:353–360.e1.
- Potten CS, Loeffler M. 1990. Stem cells: Attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from the crypt. *Development* 110:1001–1020.
- Preudhomme C, Guilhot J, Nicolini FE, Guerci-Bresler A, Rigal-Huguet F, Maloisel F, Coiteux V, Gardembas M, Berthou C, Vekhoff A, Rea D, Jourdan E, Allard C, Delmer A, Rousselot P, Legros L, Berger M, Corm S, Etienne G, Roche-Lestienne C, Eclache V, Mahon FX, Guilhot F. 2010. Imatinib plus Peginterferon Alfa-2a in Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* 363:2511–2521.
- Proschmann R, Baldow C, Rothe T, Suttorp M, Thiede C, Tauer JT, Müller MC, Hochhaus A, Roeder I, Glauche I. 2017. Response dynamics of pediatric patients with chronic myeloid leukemia on imatinib therapy. *Haematologica* 102:e39–e42.

- Rea D, Henry G, Khaznadar Z, Etienne G, Guilhot F, Nicolini F, Guilhot J, Rouselot P, Huguet F, Legros L, Gardembas M, Dubruille V, Guerci-Bresler A, Charbonnier A, Maloïsel F, Ianotto JC, Villemagne B, Mahon FX, Moins-Teisserenc H, Dulphey N, Toubert A. 2017. Natural killer-cell counts are associated with molecular relapse-free survival after imatinib discontinuation in chronic myeloid leukemia: The IMMUNOSTIM study. *Haematologica* 102:1368–1377.
- Roeder I, Horn M, Glauche I, Hochhaus A, Mueller MC, Loeffler M. 2006. Dynamic modeling of imatinib-treated chronic myeloid leukemia: Functional insights and clinical implications. *Nat. Med.* 12:1181–1184.
- Rohrbacher M, Hasford J. 2009. Epidemiology of chronic myeloid leukaemia (CML). *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 22:295–302.
- Ross DM, Branford S, Seymour JF, Schwarzer AP, Arthur C, Bartley PA, Slader C, Field C, Dang P, Filshie RJ, Mills AK, Grigg AP, Melo JV, Hughes TP. 2010. Patients with chronic myeloid leukemia who maintain a complete molecular response after stopping imatinib treatment have evidence of persistent leukemia by DNA PCR. *Leukemia* 24:1719–1724.
- Ross DM, Branford S, Seymour JF, Schwarzer AP, Arthur C, Yeung DT, Dang P, Goyne JM, Slader C, Filshie RJ, Mills AK, Melo JV, White DL, Grigg AP, Hughes TP. 2013. Safety and efficacy of imatinib cessation for CML patients with stable undetectable minimal residual disease: Results from the TWISTER study. *Blood* 122:515–522.
- Rouselot P, Charbonnier A, Cony-Makhoul P, Agape P, Nicolini FE, Varet B, Gardembas M, Etienne G, Réa D, Roy L, Escoffre-Barbe M, Guerci-Bresler A, Tulliez M, Prost S, Spentchian M, Cayuela JM, Reiffers J, Chomel JC, Turhan A, Guilhot J, Guilhot F, Mahon FX. 2014. Loss of Major Molecular Response As a Trigger for Restarting Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy in Patients With Chronic-Phase Chronic Myelogenous Leukemia Who Have Stopped Imatinib After Durable Undetectable Disease. *J. Clin. Oncol.* 32:424–430.
- Saussele S, Richter J, Guilhot J, Gruber FX, Hjorth-Hansen H, Almeida A, Janssen JJWM, Mayer J, Koskenvesa P, Panayiotidis P, Olsson-Strömberg U, Martinez-Lopez J, Rouselot P, Vestergaard H, Ehrencrona H, Kairisto V, Machová Poláková K, Müller MC, Mustjoki S, Berger MG, Fabarius A, Hofmann WK, Hochhaus A, Pffirmann M, Mahon FX, Ossenkoppele G, Pagoni MN, Söderlund S, Escoffre-Barbe

- M, Etienne G, Dengler J, Huguet F, von Bubnoff N, Klamova H, Faber E, Guilhot F, Lotfi K, Rea D, Brümmendorf TH, de Greef GE, Stenke L, Nicolini FE, Legros L, Burchert A, Voglova J, Charbonnier A, Gyan E, Kunzmann V, Westerweel PE. 2018. Discontinuation of tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukaemia (EURO-SKI): A prespecified interim analysis of a prospective, multicentre, non-randomised, trial. *Lancet Oncol.* 19:747–757.
- Schmidt RF, Lang F (eds) . 2007. *Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie.* Springer-Lehrbuch, 30., neu bearb. und aktualisierte Aufl. Springer Medizin, Heidelberg. OCLC: 184694148.
- Schütz C, Inselmann S, Sausslele S, Dietz CT, Müller MC, Eigendorff E, Brendel CA, Metzelder SK, Brümmendorf TH, Waller C, Dengler J, Goebeler ME, Herbst R, Freunek G, Hanzel S, Illmer T, Wang Y, Lange T, Finkernagel F, Hehlmann R, Huber M, Neubauer A, Hochhaus A, Guilhot J, Xavier Mahon F, Pffirmann M, Burchert A. 2017. Expression of the CTLA-4 ligand CD86 on plasmacytoid dendritic cells (pDC) predicts risk of disease recurrence after treatment discontinuation in CML. *Leukemia* 31:829–836.
- Simonsson B, Gedde-Dahl T, Markevarn B, Remes K, Stentoft J, Almqvist A, Björman M, Flogegard M, Koskenvesa P, Lindblom A, Malm C, Mustjoki S, Myhr-Eriksson K, Ohm L, Rasanen A, Sinisalo M, Sjalander A, Stromberg U, Bjerrum OW, Ehrencrona H, Gruber F, Kairisto V, Olsson K, Sandin F, Nagler A, Nielsen JL, Hjorth-Hansen H, Porkka K, for the Nordic CML Study Group. 2011. Combination of pegylated IFN- 2b with imatinib increases molecular response rates in patients with low- or intermediate-risk chronic myeloid leukemia. *Blood* 118:3228–3235.
- Stein AM, Bottino D, Modur V, Branford S, Kaeda J, Goldman JM, Hughes TP, Radich JP, Hochhaus A. 2011. BCR-ABL Transcript Dynamics Support the Hypothesis That Leukemic Stem Cells Are Reduced during Imatinib Treatment. *Clin. Cancer Res.* 17:6812–6821.
- Stein AM, Martinelli G, Hughes TP, Müller MC, Beppu L, Gottardi E, Branford S, Soverini S, Woodman RC, Hochhaus A, Kim DW, Saglio G, Radich JP. 2013. Rapid initial decline in BCR-ABL1 is associated with superior responses to second-line nilotinib in patients with chronic-phase chronic myeloid leukemia. *BMC Cancer* 13.

- Stiehl T, Baran N, Ho AD, Marciniak-Czochra A. 2014. Clonal selection and therapy resistance in acute leukaemias: Mathematical modelling explains different proliferation patterns at diagnosis and relapse. *J. R. Soc. Interface* 11:20140079–20140079.
- Takahashi N, Kyo T, Maeda Y, Sugihara T, Usuki K, Kawaguchi T, Usui N, Okamoto S, Ohe Y, Ohtake S, Kitamura K, Yamamoto M, Teshima H, Motoji T, Tamaki T, Sawada K, Ohyashiki K. 2012. Discontinuation of imatinib in Japanese patients with chronic myeloid leukemia. *Haematologica* 97:903–906.
- Talpaz M, Hehlmann R, Quintás-Cardama A, Mercer J, Cortes J. 2013. Re-emergence of interferon- in the treatment of chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 27:803–812.
- Tarafdar A, Hopcroft LEM, Gallipoli P, Pellicano F, Cassels J, Hair A, Korfi K, Jørgensen HG, Vetrie D, Holyoake TL, Michie AM. 2017. CML cells actively evade host immune surveillance through cytokine-mediated downregulation of MHC-II expression. *Blood* 129:199–208.
- Verma D, Kantarjian H, Strom SS, Rios MB, Jabbour E, Quintas-Cardama A, Verstovsek S, Ravandi F, O’Brien S, Cortes J. 2011. Malignancies occurring during therapy with tyrosine kinase inhibitors (TKIs) for chronic myeloid leukemia (CML) and other hematologic malignancies. *Blood* 118:4353–4358.
- Wilson A, Laurenti E, Oser G, van der Wath RC, Blanco-Bose W, Jaworski M, Offner S, Dunant CF, Eshkind L, Bockamp E, Lió P, Macdonald HR, Trumpp A. 2008. Hematopoietic stem cells reversibly switch from dormancy to self-renewal during homeostasis and repair. *Cell* 135:1118–1129.
- Wodarz D. 2010. Heterogeneity in chronic myeloid leukaemia dynamics during imatinib treatment: Role of immune responses. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 277:1875–1880.
- Woywod C, Gruber FX, Engh RA, Flåt. 2017. Dynamical models of mutated chronic myelogenous leukemia cells for a post-imatinib treatment scenario: Response to dasatinib or nilotinib therapy. *PLOS ONE* 12:e0179700.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich den Personen meinen Dank aussprechen, die mich in meinem Promotionsverfahren unterstützt haben und ohne deren Hilfe diese Arbeit nicht entstanden wäre.

Ich möchte mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. rer. med. Ingo Röder bedanken, dass er mich während meiner gesamten Promotion unterstützte und mir diese am IMB ermöglichte, auch wenn das von mir ursprünglich anvisierte Thema bereits vergeben war.

Ein großer Dank gilt meinem Betreuer Dr. rer. med. Ingmar Glauche, der sich sehr viel Zeit für eine exzellente Betreuung dieser Arbeit genommen hat und immer kurzfristig für mich zu erreichen war. Ich danke ihm für die vielen Anregungen, die den Verlauf dieser Arbeit maßgeblich beeinflusst haben sowie die vielen gelesenen Manuskripte und konstruktive Kritik an diesen.

Weiterhin möchte ich Christoph Baldow für seine herausragende Unterstützung bei der programmiertechnischen Umsetzung dieser Arbeit danken. Er unterstützte mich bei der Bewältigung vieler Hürden und Probleme, welche sich während der Programmierung, Datenverarbeitung und den Simulationen auf den Servern des IMB ergaben. Auch möchte ich ihm für die schnelle Beantwortung vieler Fragen, die vielen gelesenen Manuskripte und vielen Anregungen danken, die zur Entstehung dieser Arbeit entscheidend beigetragen haben.

Außerdem danke ich Artur Fassoni für die mathematische Unterstützung bei dieser Arbeit. Er half mir bei der Formulierung der Differentialgleichungen sowie der Berechnung der Attraktoren und der Separatrices.

Bedanken möchte ich mich besonders bei meinen Eltern, die mir sowohl das Studium als auch die vorliegende Arbeit in dieser Form überhaupt erst ermöglichten und mir immer zur Seite standen.

Erklärung zur Eröffnung des Promotionsverfahrens

1. Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.
2. Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:
 - Ingo Röder
 - Ingmar Glauche
 - Christoph Baldow
 - Artur Fassoni
3. Weitere Personen waren an der geistigen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe eines kommerziellen Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.
4. Die Arbeit wurde bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.
5. Die Inhalte der Dissertation flossen in folgende Veröffentlichungen ein:
 - Glauche, I., Liebscher, H., Baldow, C., Kuhn, M., Schulze, P., **Hähnel, T.**, Voskanyan, A., Guilhot, J., Dulucq, S., von Bubnoff, N., Saussele, S., Mustjoki, S., Jost, P. J., Guilhot, F., Mahon, F., Roeder, I. 2016. **A New Computational Method to Predict Long-Term Minimal Residual Disease and Molecular Relapse after TKI-Cessation in CML.** Blood, 128(22), 3099.

- **Hähnel T.**, Baldow C., Guilhot J., Guilhot F., Saussele S., Mustjoki S., Jilg S., Jost PJ, Dulucq S., Mahon FX., Roeder I., Fassoni AC. Glauche I. 2020. **Model-based inference and classification of immunological control mechanisms from TKI cessation and dose reduction in CML patients.** Cancer Res. cancr.2175.2019

6. Ich bestätige, dass es keine zurückliegenden erfolglosen Promotionsverfahren gab.
7. Ich bestätige, dass ich die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Technischen Universität Dresden anerkenne.
8. Ich habe die Zitierrichtlinien für Dissertationen an der Medizinischen Fakultät der Technischen Universität Dresden zur Kenntnis genommen und befolgt.
9. Ich bestätige die Einhaltung der Datenschutzbestimmungen der Medizinischen Fakultät und des Universitätsklinikums Carl Gustav Carus im Rahmen meiner Dissertation. Ein Votum der Ethikkommission sowie die Einhaltung von Bestimmungen des Tierschutzgesetzes und des Gentechnikgesetzes waren im Rahmen meiner Dissertation nicht notwendig.

Tom Hähnel

Dresden, den 15. März 2021