

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik III – Großhadern der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. W. Hiddemann

Sinusoidal obstruction syndrome (veno-occlusive disease, VOD/SOS) der Leber
nach Hämatopoetischer Stammzelltransplantation:
„Prospektive Evaluation relevanter Laborparameter zur Differentialdiagnose der
VOD/SOS“

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Holger Wegner
aus
Sindelfingen

2009

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. E. Hiller

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Michael Spannagl

Betreuung durch die
promovierten Mitarbeiter: PD. Dr. med. R. Pihusch
Prof. Dr. med. C. Salat

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 19.03.2009

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	5
2.1. Patienten	5
2.2. Laborbestimmungen	5
2.2.1. Untersuchungen der plasmatischen Gerinnung	5
2.2.2. Sonstige Routineparameter	7
2.3. Klinische Ereignisse	7
2.3.1. Thrombotische Ereignisse	8
2.3.2. GvHD	8
2.4. Statistische Analysen	9
3. Ergebnisse	10
3.1. Risikofaktoren für VOD/SOS und MAHA	10
3.2. Mortalität transplantations-assoziiertes Komplikationen	10
3.3. Unkomplizierte HSCT	10
3.3.1. Verlauf der Laborparameter	10
3.3.2. Verlauf der VOD/SOS-Laborparameter	11
3.3.3. Einfluß des Konditionierungsschemas	13
3.4. HSCT mit Komplikationen	14
3.4.1. PAI-1	14
3.4.2. Protein C	15
3.4.3. Prokollagen-III-Peptid	16
3.4.4. Sonstige Gerinnungsparameter	18
4. Diskussion	19
4.1. Verlauf der VOD/SOS Laborparameter bei unkomplizierter HSCT	19
4.2. Verlauf der VOD/SOS Laborparameter bei Komplikationen bei der HSCT	21
5. Zusammenfassung	24
6. Literaturverzeichnis	25
7. Danksagung	30
8. Lebenslauf	31

Abbildungen und Tabellen

Tabelle 2.1.	Patienten und Transplantationsdaten des Kollektivs	6
Tabelle 3.1.	Laborparameter bei unkomplizierter HSCT	11
Abbildung 3.1.	Zeitverlauf der VODSOS-Parameter und des Bilirubins bei Patienten mit unkomplizierter HSCT	12
Abbildung 3.2.	PAI-1 und Protein C während der Konditionierungsphase	13
Abbildung 3.3.	PAI-1-Spiegel bei Transplantations-assoziierten Komplikationen	15
Tabelle 3.2.	Laborparameter bei Komplikationen der HSCT	16
Abbildung 3.4.	Prokollagen-III-Peptid-Spiegel bei Transplantations-assoziierten Komplikationen	17

Abkürzungen

aGvHD	akute graft-versus-host-disease
ALL	Akute lymphatische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
AP	Alkalische Phosphatase
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
AT	Antithrombin
ATG	Anti-Thymozyten-Globulin
cGvHD	chronische graft-versus-host-disease
CML	Chronisch myeloische Leukämie
CRP	C-reaktives Protein
CyA	Cyclosporin A
DIC	Disseminated intravascular coagulation
EDTA	Ethylendiamintetraazetat
EK	Erythrozytenkonzentrat
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay
FFP	Fresh-frozen-plasma
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
GvHD	Graft versus Host Disease
Hb	Hämoglobin
HLA	human leukocyte antigen
HSCT	Hämatopoeitic Stemcelltransplantation
IL	Interleukin
KG	Körpergewicht
KMT	Knochenmarktransplantation
LDH	Lactat-Dehydrogenase
MAHA	mikroangiopathische hämolytische Anämie
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MTX	Methotrexat
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
OMF	Osteomyelofibrose
PAI	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor
PBSCT	peripheral blood stem cell transplantation
PC	Protein C
PCT	Procalcitonin
PNP III	Prokollagen-III-Peptid
RD	Related donor
SAA	Schwere aplastische Anämie
SOS	sinusoidal obstruction syndrome
TBI	Total-body-irradiation
TK	Thrombozytenkonzentrat
TNF	Tumornekrose-Faktor
t-PA	Gewebeplasminogenaktivator
u-PA	Urokinaseplasminogenaktivator
URD	Unrelated donor
VOD	Veno-occlusive disease

1. Einleitung

Für viele hämatologische Systemerkrankungen stellt, die erst in den letzten Jahrzehnten etablierte allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSCT), eine viel versprechende Therapieoption dar. Hierbei wird zunächst durch eine Hochdosis-Chemotherapie und / oder einer Ganzkörperbestrahlung (Konditionierungsphase) das Knochenmark des Patienten zerstört. Durch die anschließende Gabe von Spender-Stammzellen etabliert sich ein neues Hämatopoese- und Immunsystem.

Allerdings beinhaltet dieses Therapieverfahren eine Reihe transplantationsassoziierter Komplikationen, die das Überleben der Patienten gefährden. Diese beinhalten schwere Infektionen, die akute Spender gegen Wirt-Reaktion (Graft-versus-Host Disease, GvHD) und hämostaseologische Probleme. Die schwerwiegendste thrombotische Komplikation nach einer HSCT ist die Lebervenenverschußkrankheit (veno-occlusive disease, VOD), die in der neueren Literatur (DeLeve *et al*, 2002) auch als sinusoidal obstruction syndrome (SOS) bezeichnet wird. Nach der Sepsis und der Graft-versus-host-Erkrankung stellt sie die dritthäufigste Todesursache dar. Die VOD/SOS führt zum subakuten Leberversagen und capillary-leakage Syndrom und ihre Inzidenz schwankt zwischen 1 bis 54% (Locasciulli *et al*, 1989; Mc Donald *et al*, 1993). In ihrer schweren Form verläuft die VOD/SOS bei 98% der Patienten letal (Mc Donald *et al*, 1993).

Erstmalig beschrieben wurde diese Erkrankung bei Patienten in Jamaika, die nach dem Genuß von pyrrolizidinnhaltigen Kräutertees eine Hepatopathie entwickelten.

Die VOD/SOS tritt meist innerhalb der ersten drei Wochen nach Transplantation auf und ist charakterisiert durch eine Hyperbilirubinämie über 2 mg/dl, Aszites, einer Hepatomegalie bzw. Schmerzen im rechten Oberbauch und plötzlicher Gewichtszunahme über 5% des Ausgangsgewichtes aufgrund einer Flüssigkeitsretention (Jones *et al*, 1987). Nach großen epidemiologischen Studien (Carreras *et al*, 1998; Mc Donald *et al*, 1993) gelten Transaminaseerhöhung durch eine vorbestehende Leberschädigung, Ganzkörperbestrahlung in der Anamnese und eine Busulfanhaltige Konditionierung als Risikofaktoren der VOD/SOS.

Vor allem klinische Kriterien werden zur schwierigen Diagnoseführung der VOD/SOS herangezogen (Mc Donald *et al*, 1984). Die „Baltimore“-Kriterien. (Jones *et al*, 1987) sind hierbei die meist verwendete Klassifikation. Sie verlangen neben der Hyperbilirubinämie

zwei der drei Symptome Aszites, Leberdruckschmerz und Gewichtszunahme über 5% ausgehend vom Ausgangsgewicht.

Diese Kriterien sind jedoch vieldeutig und können die Differentialdiagnose zu anderen Krankheitsbildern schwierig machen. Histologisch korreliert die VOD/SOS mit einer venösen Okklusion, einer Nekrose der Hepatozyten in Zone 3 des Leberazinus, einer sinusoidalen Fibrose und einer exzentrischen luminalen Einengung oder Phlebosklerose (Shulman *et al*, 1987). Die Toxizität der Konditionierung und der daraus resultierende Endothelzellschaden wird verantwortlich für die Pathogenese der Gefäßobstruktion gemacht.

Häufig wird zur Diagnosesicherung eine Leberbiopsie durchgeführt. Die Schwierigkeit hierbei ist die während der Aplasie bestehende Thrombozytopenie, wie eine Thrombozytopathie nach HSCT, so dass die Leberbiopsie meist transjugulär durchgeführt wird. Die Beurteilbarkeit der Biopsate steigt mit der Anzahl der beurteilbaren Portalfelder, da die auftretenden histologischen Veränderungen häufig nicht gleichförmig in der gesamten Leber auftreten. Die Biopsiestücke sind allerdings meist klein und daher ist die Sensitivität dieser Methode – abgesehen von den Risiken für den Patienten – unbefriedigend. Der Wunsch nach nichtinvasiven Diagnosemöglichkeiten mit hoher Spezifität ist groß. Sonographische (Nicolau *et al*, 1993) und dopplersonographische Techniken (Sonneveld *et al*, 1998) besitzen nur eine eingeschränkte Sensivität und liefern meist erst in fortgeschrittenen VOD/SOS-Stadien eindeutige Ergebnisse, so sind immer wieder laborchemische Marker der VOD/SOS in Diskussion.

Nachdem die endothelialen Veränderungen zu einer Aktivierung des Gerinnungssystems und zur post-sinusoidalen Obstruktion führt, scheint die Hämostase bei der VOD/SOS eine zentrale Rolle zu spielen, so dass hämostaseologische Laborparameter im Fokus der Untersuchungen stehen. Eine große Rolle spielt der Plasminogen-Aktivator-Inhibitor I (PAI-1), den unsere Gruppe in einer retrospektiven Analyse als VOD/SOS-Marker etablieren konnte (Salat *et al*, 1996). Der PAI-1 ist ein Inhibitor aus der Gruppe der Serinproteasen (Pannekoek *et al*, 1986), wird im Plasma durch Bindung an Vitronektin stabilisiert und gilt als wichtigster Inhibitor der Plasminogenaktivatoren Gewebeplasminogenaktivator (t-PA) und Urokinaseplasminogenaktivator (u-PA). Ursache für die Hemmung der Fibrinolyse durch den PAI-1 ist das Bilden stabiler Komplexe mit t-PA und u-PA (Chmielewska *et al*, 1983).

Synthetisiert und freigesetzt wird der PAI-1 vor allem von Endothelzellen (Loskutoff *et al*, 1983; van Mourik *et al*, 1984), Thrombozyten und Hepatozyten (Emeis *et al*, 1983). Der PAI-1 ist nicht nur ein physiologisch wichtiger Inhibitor der Fibrinolyse (Wiman *et al*, 1995),

sondern verhält sich in vivo wie ein Akut-Phase-Protein (Suffredini *et al*, 1989) und wird als Antwort auf Zytokine wie IL-1, IL-6 und TNF-alpha von Endothelzellen gebildet (Emeis *et al*, 1986; van Hinsbergh *et al*, 1988). PAI-1 wird gemeinsam mit vielen Akut-Phase-Proteinen hauptsächlich in der Leber durch Zytokinstimuli synthetisiert (Kushner *et al*, 1987; Downton *et al*, 1988).

Der Referenzbereich für die Plasmakonzentration des PAI-1 liegt zwischen 4 und 43 ng/ml. Bei gesunden Patienten beträgt die Plasmakonzentration bis zu 10 ng/ml (Urden *et al*, 1987), bei tiefen venösen Thrombosen, Operationen, Traumata oder bei Sepsis treten erhöhte Werte auf (Kluft *et al*, 1985; Kruithof *et al*, 1988).

Andere Arbeiten wiesen auf ein erniedrigtes Protein C (PC) als nützlichen Laborparameter für die Diagnose der VOD/SOS hin (Scrobohaci *et al*, 1991; Harper *et al*, 1990). Das bei Patienten, die im Transplantationsverlauf eine VOD/SOS entwickelten, die PC-Spiegel während der Konditionierung erniedrigt waren, konnten Faioni *et al* (1993) an einer kleinen Zahl von 50 Patienten nachweisen. Das PC ist ein wichtiger antikoagulatorischer Bestandteil des Gerinnungssystems, es wird auch zu den Serinproteasen gerechnet. Die Synthese des Protein C findet in der Leber als Vitamin K-abhängige Reaktion statt. Ein Protein C Mangel führt zu einer erhöhten Thromboseneigung, hierbei kann es sich um einen angeborenen oder erworbenen Mangel handeln.

Ein weiterer interessanter Marker für die VOD/SOS scheint das Prokollagen-III-Peptid (PNPIII) zu sein. PNPIII ist ein precursor-Molekül des Kollagen Typ III und fällt bei vermehrter Kollagenbildung an. Erhöhte PNPIII-Spiegel sind beschrieben bei einer Vielzahl von Erkrankungen, die mit einer Fibrosierung einhergehen (Teschler *et al*, 1990; Schulze *et al*, 1990). Auch bei Patienten mit VOD/SOS sind hohe Spiegel und als differentialdiagnostisch wegführend beschrieben (Heikinheimo *et al*, 1994; Schuler *et al*, 1996).

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Evaluation der differentialdiagnostischen Bedeutung der Laborparameter PAI-1, PC und PNPIII für die VOD/SOS. Es gibt Hinweise, dass diese Parameter bei der Diagnostik der VOD/SOS hilfreich sein können. Allerdings war die Anzahl der untersuchten Patienten meist klein, so dass die prospektive Evaluation an einer großen Patientenzahl bisher ausstand. Wir untersuchten in einem Zeitraum von 2 Jahren an unserem Zentrum 350 Patienten, die sich aufgrund verschiedener hämatologischer Systemerkrankungen einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation unterzogen haben, um

Veränderungen der plasmatischen Gerinnung bei Patienten mit VOD/SOS zu erfassen und die Bedeutung von PAI-1, PC und PNPIII für die Diagnose der VOD/SOS zu evaluieren.

2. Material und Methoden

2.1. Patienten

Zur prospektiven Untersuchung der Wertigkeit verschiedener Laborparameter in der Diagnostik der VOD/SOS wurden 350 Patienten eingeschlossen, die von 1.1.1998 bis 4.10.2001 in unserer Einheit transplantiert wurden oder wegen Komplikationen erneut aufgenommen wurden. Die Patienten- und Transplantationsdaten sind in Tabelle 2.1 zusammengefaßt. Die niedrige Anzahl von Patienten mit cGvHD erklärt sich durch die Tatsache, daß ausschließlich stationäre Patienten erfaßt wurden.

2.2. Laborbestimmungen

Bei allen Patienten wurde während des gesamten stationären Aufenthaltes prospektiv einmal pro Woche folgende Routineparameter bestimmt: Kreatinin, Harnstoff, Bilirubin, alkalische Phosphatase, GPT, Leukozyten, Hb, Thrombozyten, Retikulozyten, Fragmentozyten, LDH, CRP, IL-6 und PCT. An Gerinnungsparametern wurde gemessen Thromboplastinzeit (Quick), aPTT, Fibrinogen, Antithrombin, D-Dimer, PAI-1, Protein C sowie das Prokollagen III-Peptid. Im Median erfolgte die Bestimmung über 8 (1-151) Wochen. Dies entspricht einer Gesamtzahl von 3471 dokumentierten Behandlungswochen.

2.2.1. Untersuchungen der plasmatischen Gerinnung

Für Untersuchungen an Patienten wurde Zitratblut in 4.3 ml Primavette Gerinnungsröhrchen abgenommen (Kabe Labortechnik, Nuembrecht-Elseroth, Deutschland). Zur vollständigen Thrombozytenentfernung wurden die Proben bei 3000 g zentrifugiert und bis zur Analyse bei -20°C gelagert.

Die Messung des PAI-I-Antigenspiegels im Plasma erfolgte mit einem ELISA (Asserachrom-PAI-1, Diagnostica Stago, Asnières-sur-Seine, Frankreich). Die Messungen von Quickwert (Quick; STA Neoplastin Plus® Roche), aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT; STA aPTT® Roche), Fibrinogen (Clauss Method, STA FBG® Roche), Antithrombin (AT; chromogener Assay, STA Antithrombin III Roche), Protein C (PC, Chromogener Assay, Berichrom Protein C® Dade Behring), D-Dimer (Latex-Agglutinationstest, STA LIA D-Dimer® Roche) wurden an einem STA Coagulation Analyser (Roche, Deutschland)

		allogene HSCT
n=		350
Geschlecht [m/w]		206/144
Alter [Jahre, Median (Range)]		40 (13-65)
Grunderkrankung		
	<i>AML</i>	95
	<i>ALL</i>	36
	<i>CML</i>	117
	<i>Morbus Hodgkin</i>	5
	<i>NHL</i>	60
	<i>SAA</i>	10
	<i>MDS</i>	16
	<i>andere</i>	10
Spender		
	<i>allogen RD</i>	170
	<i>allogen URD</i>	156
Konditionierungsschema		
	<i>reduzierte Intensität</i>	31.1% (109)
	<i>Standardintensität</i>	64.3% (224)
	<i>konventionelle Chemotherapie⁺</i>	4.9% (17)
	<i>ATG als GvHD-Prophylaxe</i>	83.1% (291)
	<i>Busulfan-haltige Therapie</i>	18.0% (63)
Transplantations-assoziierte Komplikationen		
GvHD		
	<i>akut</i>	58.1% (190)
	<i>chronisch</i>	7.3% (24)
Infektion		
	<i>Fieber</i>	41.1.% (144)
	<i>Sepsis</i>	9.2% (30)
	<i>Septischer Schock</i>	6.7% (22)
Tod		
	<i>Infektion</i>	24.3% (85)
	<i>Rezidiv</i>	5.2% (17)
	<i>GvHD</i>	4.3% (14)
	<i>GvHD und Infektion</i>	5.2% (17)
	<i>Blutung</i>	1.5% (5)
	<i>VOD/SOS</i>	4.3% (14)
	<i>sonstiges</i>	3.1% (11)
Hämostatische Komplikationen		
	<i>MAHA</i>	17.5% (57)
	<i>VOD/SOS</i>	4.3% (15)

Tabelle 2.1: Patienten- und Transplantationsdaten des Kollektivs

Die Zahlen sind Prozentwerte (Fälle). *Reduzierte Intensität*=Konditionierung mit Fludarabin (30 mg/m² i.v. über 4 Tage) oder FlAmsA (Fludarabin 30 mg/m² i.v. über 4 Tage parallel zu Cytarabin 2000 mg/m² über 4 Tage und Amsacrin 100 mg/m² über 4 Tage) kombiniert mit 2-4 Gy TBI und ATG (10-30 mg/kg über 3-5 Tage)/Cyclophosphamid (40 mg/kg über 2-3 Tage); *Standardintensität*=entweder 12 Gy TBI (fraktioniert mit 4 Gy an 3 konsekutiven Tage mit einer Dosisrate von 4.5 cGy/min) oder Busulfan (4 mg/kg p.o. über 4 konsekutive Tage) und ATG (10-30 mg/kg über 3-5 Tage)/Cyclophosphamid (40 mg/kg über 2-3 Tage). *RD*: related donor; *URD*: unrelated donor. ⁺=diese Fälle waren Zweittransplantationen.

durchgeführt. Als VOD/SOS-Laborparameter wurde zudem Prokollagen III Peptid mitbestimmt (PNPIII; Prokollagen III-Peptid RIA, Schering, Berlin).

2.2.2. Sonstige Routineparameter

Für Untersuchungen von Serumparametern erfolgte die Probenentnahme in Serummonovetten (Kabe Labortechnik, Nuembrecht-Elsenroth, Deutschland), für hämatologische Bestimmungen wurde Blut in EDTA-Monovetten abgenommen (Kabe Labortechnik, Nuembrecht-Elsenroth, Deutschland). Die Proben wurden im Institut für Klinische Chemie im Klinikum Großhadern weiterverarbeitet. Im einzelnen wurden je nach Untersuchung die folgenden Parameter bestimmt: Leukozyten, Hämoglobin, Thrombozytenzahlen (H6000 Analyser, Coulter, USA), Kreatinin (Jaffe Method, Roche Diagnostics, Mannheim), Harnstoff (Roche Diagnostics), Gesamteiweiß (Biuret Method, Roche), C-reaktives Protein (CRP; turbidimetry, Roche Diagnostics), Interleukin 6 (IL-6; IL-6-EASIA-CB®, Biosource Europa S.A., Nivelles, Frankreich), Procalcitonin (PCT; Lumineszenzimmunoassay; Brahms, Berlin, Deutschland), Bilirubin (DPD Methode, Roche Diagnostics), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT; optimierte Standardmethode der DGKC, Roche Diagnostics, GPT), alkalische Phosphatase (AP, Standardmethode der DGKC, Roche Diagnostics).

2.3. Klinische Ereignisse

An allen Bestimmungstagen wurden GvHD-Grad und -Lokalisation (Definitionen siehe 2.3.2.), Auftreten von Aszites, Gewichtszunahme um mehr als 5%, Leberdruckschmerz sowie die Medikation (Steroide, Proclid, Zytokine), Plasmaaustauschverfahren sowie in den 3 Tagen vor Bestimmung transfundierte Blutprodukte (EK, TK, FFP) dokumentiert. Zusätzlich aufgezeichnet wurden Auftreten einer VOD/SOS (Definition siehe 2.3.1.), MAHA (Definition siehe 2.3.1.) sowie infektiöse Komplikationen sowie ihr Schweregrad. Eingeteilt wurde in Fieber ($>38.5^{\circ}\text{C}$), Sepsis (Fieber plus Organkomplikationen wie DIC, positives Laktat oder neue Niereninsuffizienz) und septischer Schock (Multiorganversagen, Katecholaminpflichtigkeit). Als unauffällig wurde der HSCT-Verlauf definiert, wenn klinisch und laborchemisch Organkomplikationen fehlten (Bilirubin < 2.0 mg/dl; Kreatinin < 1.5 mg/dl; LDH < 300 U/l, GPT < 100 U/l), keine VOD/SOS, MAHA akute GvHD oder Fieber über 38.5°C vorlagen, keine Austauschverfahren (Plasmapherese, Dialyse, Hämofiltration) oder Katecholamine nötig waren und keine Steroide oder FFPs gegeben wurden.

2.3.1. Thrombotische Ereignisse

Die VOD/SOS wurde definiert nach den Baltimore-Kriterien (Jones *et al*, 1987) durch Hyperbilirubinämie (>2.0 mg/dl) plus 2 der Kriterien Gewichtszunahme (mehr als 5%), Aszites oder Leberdruckschmerz. Bei den meisten Patienten wurde die Diagnose zusätzlich histologisch mittels einer transjugulären Leberbiopsie gesichert. Die mikroangiopathische Hämolytische Anämie (MAHA) wurde definiert als gleichzeitiges Auftreten einer intravaskulären Hämolyse, Fragmentozyten in peripherem Blut ($>5\%$) und einer de-novo Thrombozytopenie. Dokumentiert wurden nur mittelgradige oder schwere MAHA-Fälle (Definition nach Holler *et al*, 1989) mit der Notwendigkeit einer therapeutischen Intervention (Gabe von FFP oder therapeutische Plasmapherese). Aufgezeichnet wurden ferner Fälle von tiefer Beinvenenthrombosen, Katheterthrombose und Lungenembolie. Alle Fälle von Thromboembolie wurden sonographisch, phlebographisch oder computertomographisch diagnostiziert. Ein thrombotisches Ereignis wurde als tödlich eingestuft, wenn der Patient innerhalb 1 Woche nach dem Ereignis starb.

2.3.2. GvHD

Die akute und chronische GvHD wurde nach klinischen und biochemischen Kriterien eingestuft (Thomas ED *et al*, 1975; Storb *et al*, 1986). Patienten mit aGvHD Grad II oder mehr wurden mit Prednisolon behandelt (2 bis 3 mg/kg/d). Bei Besserung der aGvHD wurde die Steroidbehandlung alle 3 Tage um 10% reduziert. Bei der allogenen Transplantation wurde bei 97.3% der Patienten eine GvHD-Prophylaxe durch Kombination von intravenösem MTX (15 mg/m² an Tag 1, 10 mg/m² an Tag 3 und 6 i.v.) und Cyclosporin A (CyA) durchgeführt. CyA wurde beginnend an Tag -1 bis Tag 28 als kontinuierliche i.v.-Infusion appliziert. Es wurde an Tag -1 eine Dosis von 10 mg/kg/d, von Tag 0 bis Tag 4 eine Dosis von 5 mg/kg/d und von Tag 5 bis Tag 28 eine Dosis von 3 mg/kg/d gegeben. Anschließend erhielten die Patienten das CyA peroral (12 mg/kg/d in zwei geteilten Dosen). Die CyA-Dosis wurde in den ersten 2 bis 3 Monaten auf Plasmaspiegel der Metaboliten von 150 bis 200 ng/ml eingestellt und dann allmählich reduziert. Zusätzlich erhielten 39.6% der allogenen transplantierten Patienten als GvHD-Prophylaxe während des Konditionierungsprotokolls Antithymozytenglobulin (ATG Fresenius, Fresenius HemoCare Immune Therapie GmbH, Gräfelfing, Deutschland) in einer Dosis zwischen 10 und 30 mg/kg über 3-5 Tage intravenös

2.4. Statistische Analysen

Alle Ergebnisse dieser Arbeit sind, falls nicht anders angegeben, als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt. Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mit dem Mann-

Whitney-U-Test bzw. dem Kruskal-Wallis-Tests für metrische oder ordinale Variablen und mit dem Fisher's exact test oder dem Chi-Quadrat-Test nach Pearson für kategoriale Variable analysiert. Korrelationen wurden mittels linearer Regression und Spearman 's Rank-Korrelation analysiert. Die statistische Analyse wurde mit SPSS für Windows 10.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) durchgeführt. Alle p-Werte sind zweiseitig angegeben, ein p-Wert unter 0.05 wurde als signifikant betrachtet.

3. Ergebnisse

Protein C, Prokollagen-III-Peptid und das PAI-1-Antigen sind als diagnostisch bedeutsame Laborparameter für die Diagnose der VOD/SOS beschrieben. Wir prüften die Wertigkeit dieser Parameter prospektiv über 2 Jahre anhand von 350 Patienten. Hierbei werteten wir 3471 dokumentierte Behandlungswochen aus.

3.1. Risikofaktoren für VOD/SOS und MAHA

Bei Patienten, die mit Busulfan-haltigen Konditionierungsschemata behandelt wurden, war das VOD/SOS-Risiko tendenziell erhöht (8.5% vs. 3.9%, $p=0.155$). Patienten mit einer akuten GvHD hatten eine erhöhte Inzidenz einer MAHA (25.3% vs. 6.6%, $p<0.001$) mit einer 4.8fachen (2.3-10.1) Erhöhung des Risikos. Patienten mit MAHA hatte eine erhöhte Rate von Infektionen (73.7% vs. 53.9%, $p=0.004$, relatives Risiko 2.4 [1.3-4.5]). Patienten mit einer Konditionierung mit Standardintensität haben eine tendenziell höhere VOD/SOS-Inzidenz (4.9% vs. 3.2%).

3.2. Mortalität transplantations-assoziiertes Komplikationen

Patienten mit Infektionen hatten eine erhöhte Mortalität (61.0% vs. 30.9%, $p<0.001$; relatives Risiko 2.4 [1.3-4.5]). Das Vorliegen einer MAHA erhöhte die Mortalität der HSCT-Patienten von 42.4% auf 75.4% ($p<0.001$, relatives Risiko 4.2 [2.2-8.0]), das Vorliegen einer VOD/SOS die Mortalität von 46.0% auf 93.3% ($p<0.001$, relatives Risiko 16.4 [2.1-126.6]).

3.3. Unkomplizierte HSCT

3.3.1. Verlauf der Laborparameter

Im Mittel 2 Wochen nach HSCT erreichen die Leukozyten wieder Werte oberhalb 1.0 G/l. Der Quickwert zeigt ab Woche -1 einen signifikanten Abfall innerhalb des Normbereiches, der sich erst ab Woche 3 wieder normalisiert (Tabelle 3.1.). Dieser Abfall dürfte Ausdruck der Lebersynthesestörung durch die Konditionierungstherapie sein. Eine ab Woche 2 signifikant erhöhte GPT deutet auf eine Leberzellschädigung, am ehesten wohl medikamentös-toxisch bedingt (Konditionierung, Cyclosporin) hin. Die ab Woche -1 erhöhten D-Dimere sind Folge

der ATG-F-Therapie während der Konditionierung und der nach der HSCT folgenden Mukositis. Die ab Woche 0 erhöhten CRP, IL-6 und Fibrinogenwerte dürften ebenfalls eine Akut-Phase-Reaktion auf die Mucositis der HSCT-Patienten sein.

	Woche						
	-2	-1	0	1	2	3	4
Kreatinin [mg/dl]	.97 .18	.92* .18	.87* .17	.95 .21	.98 .20	1.03* .22	1.05* .21
GPT [U/l]	18.23 15.06	17.57 13.35	24.62* 19.48	21.42 13.76	27.09* 19.04	30.38* 20.51	29.90* 19.77
CRP [mg/dl]	1.52 2.51	4.10* 4.78	3.78* 5.45	7.55* 7.26	3.89* 4.95	1.71 2.86	2.38 2.99
Interleukin 6 [ng/ml]	24.00 57.50	96.19* 402.84	108.52 *	184.81 *	55.67* 85.75	24.29 25.15	28.18 31.27
LDH [U/l]	168.08 44.83	171.23 47.81	171.31 41.61	150.96 *	177.92 46.27	186.76 *	185.51 *
Quick [%]	87 8	84* 11	90* 9	82* 9	83* 9	85 9	86 8
aPTT [sec]	36 6	39* 11	39* 9	43* 8	40* 7	40* 16	37 7
Fibrinogen [mg/dl]	359 121	382 129	474* 151	577* 150	496* 121	412* 116	393 118
Antithrombin [%]	95 11	93 13	96 13	91* 12	92 13	95 12	95 11
D-Dimer [µg/ml]	1.0 3.2	2.7* 4.3	1.6* 2.6	2.1* 2.2	1.6 1.9	1.2 1.4	1.3 1.5
Leukozyten [G/l]	4890 7755	2338* 3646	290* 744	763* 2509	2094* 3406	2712* 2206	3233 3445
Hämoglobin [g/dl]	10.9 2.0	9.7* 1.7	9.3* 1.3	8.9* .9	9.3* .9	9.3* .9	9.4* 1.0
Thrombozyten [G/l]	153 150	98* 122	32* 32	31* 24	87* 104	90* 79	90* 74

Tabelle 3.1: Laborparameter bei unkomplizierter HSCT

Alle Werte sind Mittelwerte (Standardabweichung). n.s.=nicht signifikant ($p>0.05$), *= signifikant zu Tag 1 ($p<0.05$). Alle Werte sind Tages -Maximalwerte (Kreatinin, CRP, PCT, IL-6, D-Dimer, Bilirubin) bzw. -Minimalwerte (alle anderen).

3.3.2. Verlauf der VOD/SOS-Laborparameter

Den Verlauf der VOD/SOS-Parameter Protein C, PAI-1-Antigen und Prokollagen-III-Peptid sowie des Bilirubins zeigt Abbildung 3.1.. Auffällig ist ein Anstieg des PAI-1-Wertes in der Woche -1, in der die Konditionierung erfolgt. Während der Aplasiezeit sind die PAI-1-Werte erniedrigt und erreichen nach dem Take (Beginn der Hämatopoese des neuen Knochenmark

als erstes meist der Anstieg der Leukozyten) wieder den Ausgangswert. Protein C zeigt einen kurzzeitigen Abfall während der Konditionierungsphase. Während der Aplasie erreicht Protein C einen Tiefstwert, der jedoch immer noch im Normbereich liegt. Nach dem Take erholt sich der Protein C-Wert wieder. Der Verlauf ist parallel mit dem Quickwert und dem Antithrombinwert und dürfte Ausdruck der beeinträchtigten Leberfunktion sein. Der Plasmaspiegel des Prokollagen-III-Peptids ist bereits vor Transplantation erhöht und steigt kontinuierlich an. Das Bilirubin zeigt durch die Toxizität der Konditionierung und der Cyclosporin-Therapie einen Anstieg innerhalb des Normbereiches in der Transplantationswoche mit einer kontinuierlichen Normalisierung im weiteren Verlauf.

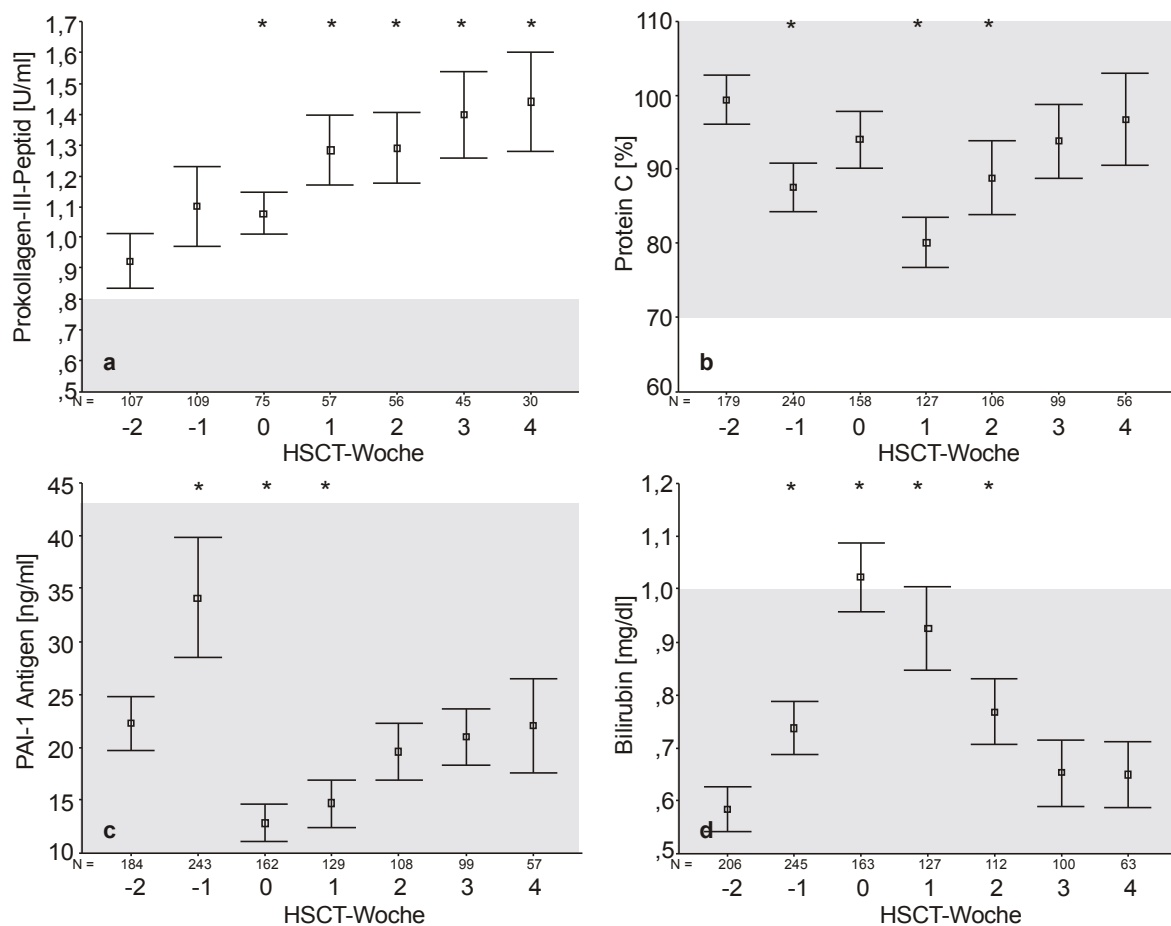


Abbildung 3.1.: Zeitverlauf der VOD/SOS-Laborparameter (a-c) und des Bilirubins (d) bei Patienten mit unkomplizierter HSCT

Gezeigt sind Mittelwerte und das 95%-Konfidenzintervall. Grau hinterlegt ist der Normbereich. * $p < 0,05$ zu Woche -2. Woche 0 ist die Woche unmittelbar nach HSCT.

3.3.3. Einfluß des Konditionierungsschemas

Zwischen Konditionierung mit Standardintensität und mit reduzierter Intensität sind keine Unterschiede bezüglich der Routinelaborparameter und der VOD/SOS-Parameter feststellbar. Bei Konditionierung mit Busulfan sind die PAI-1-Spiegel höher als der Ausgangswert vor HSCT (Abbildung 3.2.). Konventionelle Chemotherapie oder eine nicht Busulfan-haltige Konditionierung verändern den PAI-1-Spiegel nicht. Auf den Protein C-Spiegel hat eine Konditionierung mit Busulfan keinen Einfluß (98.5% vs. 97.8%), jedoch erniedrigt eine Konditionierung mit ATG-F den Protein C-Wert (Abbildung 3.2.). Auf den Prokollagen-III-Spiegel hat die Art der Konditionierung keinen Einfluß. Bei Patienten, die später eine transplantations-assoziierte Komplikationen wie VOD/SOS, MAHA, Infektion, aGvHD entwickelten oder verstarben, waren die Werte von PAI-1, Prokollagen-III-Peptid oder Protein C während der Konditionierung nicht anders als bei Patienten mit unkompliziertem Transplantationsverlauf.

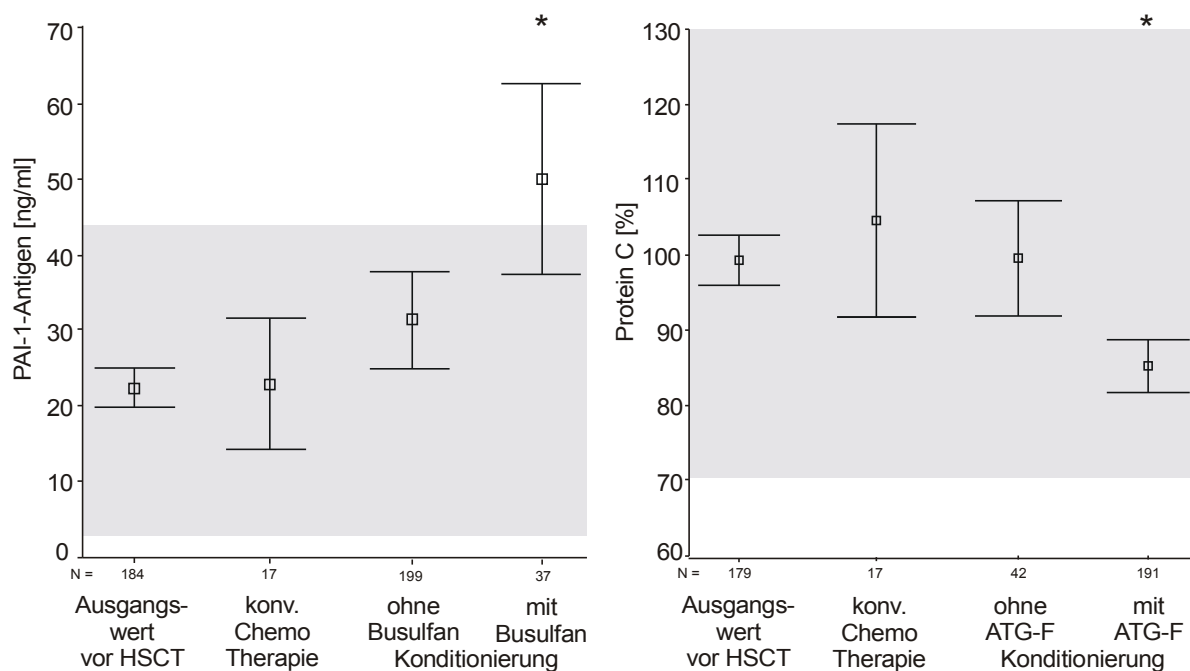


Abbildung 3.2.: PAI-1 und Protein C während der Konditionierungstherapie

Gezeigt sind Mittelwerte und das 95%-Konfidenzintervall. Grau hinterlegt ist der Normbereich. *= $p < 0.05$ zum Ausgangswert vor Konditionierung (Woche -2). *konv. Chemotherapie*=konventionelle Chemotherapie ohne ATG, hochdosiert Cyclophosphamid, TBI oder Busulfan.

3.4. HSCT mit Komplikationen

3.4.1. PAI-1

Abbildung 3.3. zeigt die PAI-1-Antigenspiegel bei Patienten mit Komplikationen. Mit zunehmender Schwere der Infektion kommt es zu einem starken Anstieg des PAI-1-Spiegels. Patienten mit oder ohne Neutropenie unterschieden sich im PAI-1-Spiegel nicht. Bei mehreren Patienten mit schwerem septischem Schock und Multiorganversagen kam es dabei zu exorbitant hohen PAI-1-Werten über 1000 ng/ml. Die akute GvHD führt ab Grad 2 zu einem Anstieg des PAI-1-Spiegels. Dabei zeigten sich keine Unterschiede im PAI-1-Spiegel zwischen Patienten mit ausschließlicher GvHD der Haut, der Leber und des Darmes. Bei Patienten mit MAHA und chronischer GvHD sind die PAI-1-Spiegel leicht erhöht (Abbildung 3.3.c. Abbildung 3.3.d zeigt die maximalen PAI-1-Werte bei Patienten mit Bilirubinwerten über 2.0 mg/dl. Alle Patienten mit VOD/SOS haben dabei PAI-1-Werte über 125 ng/dl, der Mittelwert bei VOD/SOS-Patienten ist höher als bei allen anderen mit einem Ikterus einhergehenden Krankheitsbildern ($p < 0.05$). Im Rahmen der Konditionierungstherapie wurden Maximalwerte von 150 ng/dl beobachtet, bei der akuten GvHD Werte bis 250 ng/ml. Ein Patient mit einer massiven Hämolyse hatte einen PAI-1-Wert von 555 ng/ml, während die übrigen Patienten mit MAHA Werte bis maximal 140 mg/ml hatten. Alle Patienten mit toxischer Bilirubinerhöhung hatten Werte unter 100 ng/ml. Zwei Patienten mit einer ausgeprägten Leberzellnekrose (1x ischämisch, 1x Hepatitis) hatten erhöhte PAI-1-Werte (2220 ng/ml, 431ng/ml).

Für Patienten mit einem maximalen PAI-1-Wert von über 120 ng/ml ergibt sich für die VOD/SOS eine Sensitivität von 100%, eine Spezifität von 89% und ein positiver Prädiktionswert von 32.6%. Bei Patienten ab Tag 0 und gleichzeitigem klinischem Ausschluss einer infektiösen Komplikation erhöht sich die Spezifität auf 96.1% und der positive Prädiktionswert auf 65.2%.

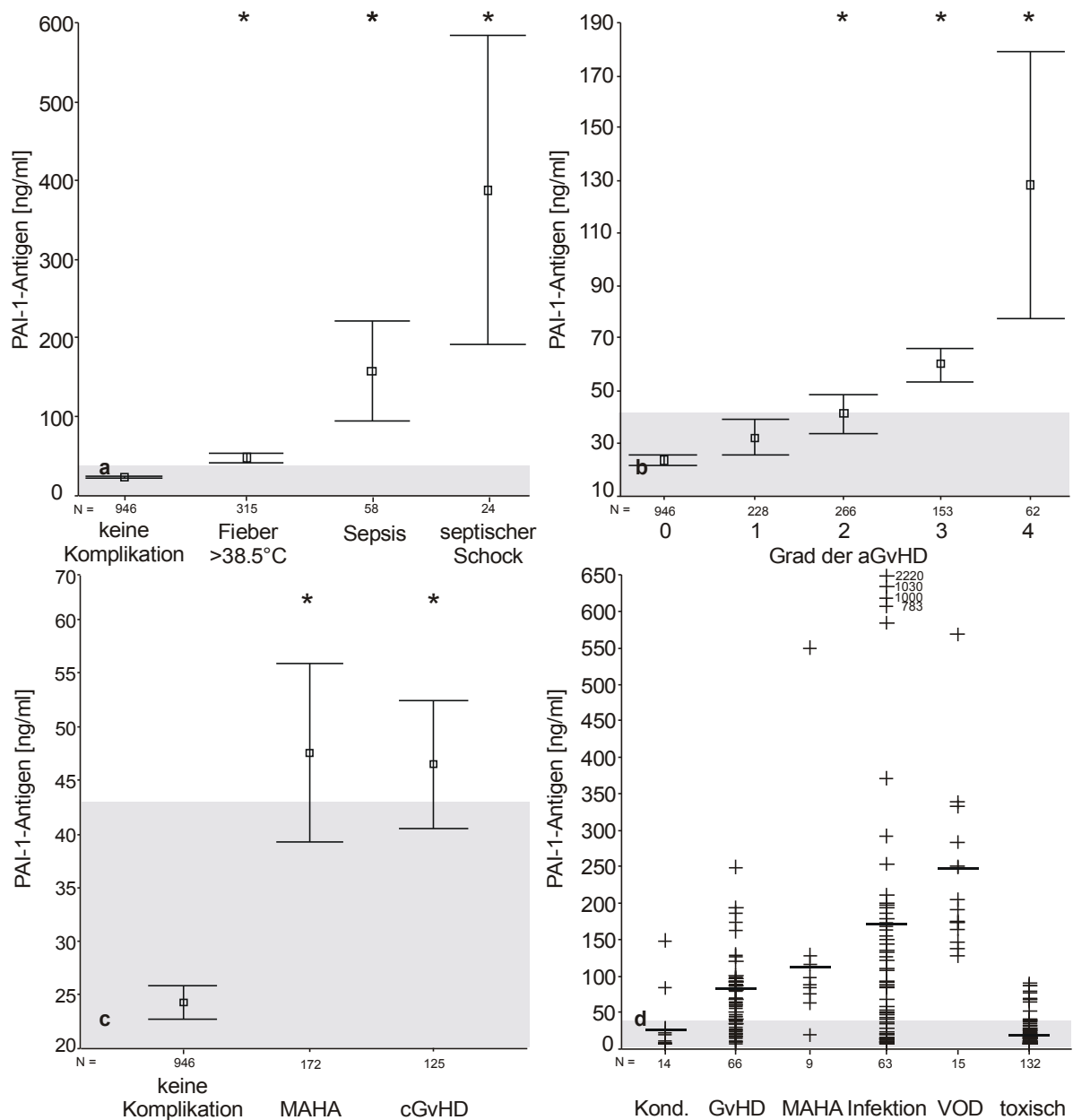


Abbildung 3.3.: PAI-1-Spiegel bei Transplantations-assoziierten Komplikationen

Gezeigt sind Mittelwerte und das 95%-Konfidenzintervall (a-c) von Behandlungswochen mit und ohne Komplikation. Abbildung d stellt die Maximalwerte aller Patienten mit Bilirubinwerten über 2.0 mg/dl dar (Strich = Mittelwert). Grau hinterlegt ist der Normbereich. $\ast = p < 0.05$ zu Behandlungswochen ohne Komplikation. Alle Analysen erfolgten nur an Fällen, bei denen nicht zeitgleich mehrere Komplikationen vorlagen.

3.4.2. Protein C

Die Protein C-Werte sind in Tabelle 3.2. dargestellt. Mit zunehmendem Schweregrad der Infektion kommt es parallel zum Abfall von Antithrombin, Quick und Fibrinogen und antiparallel zum D-Dimer zu einem Abfall des Protein C-Spiegels im Rahmen der DIC. Patienten ohne Steroidtherapie zeigen einen Abfall des Protein C-Spiegels bei zunehmender

Schwere der GvHD sowie bei der VOD/SOS, während Patienten mit MAHA und chronischer GvHD normale Protein C-Spiegel haben. Durch Einleitung einer Steroidtherapie kam es bei Patienten zu einem ausgeprägten Anstieg des Protein C-Wertes (88% vs. 122%, $p < 0.001$) unabhängig von der zugrundeliegenden Erkrankung.

	<i>Protein C</i>	<i>PAI-1</i>	<i>P-III-P</i>	<i>Quick</i>	<i>Fibrinogen</i>	<i>AT</i>	<i>D-Dimer</i>
Keine Komplikation (n = 946)	96 33.1	19 15	1.1 0.5	86 9	420 157	95 15	1.4 2.5
Infektionen							
<i>Fieber</i> (n = 315)	67* 24	48* 53	1.8* 1.1	78* 12	537* 173	87* 15	3.6* 4.4
<i>Sepsis</i> (n = 58)	52* 19	218* 237	2.8* 2.5	68* 17	443 163	77* 19	4.0* 3.5
<i>Sepischer Schock</i> (n = 24)	57* 25	388* 463	3.1* 1.9	62* 15	356* 164	73* 23	5.3* 7.1
akute GvHD							
<i>Grad 1</i> (n = 228)	71* 23	32* 53	1.2 0.7	82* 10	369* 174	98 20	1.8* 3.2
<i>Grad 2</i> (n = 266)	70* 21	41* 61	1.0* 0.5	80* 11	346* 162	94 18	1.9* 1.9
<i>Grad 3</i> (n = 153)	66* 17	50* 39	1.4* 0.8	79* 12	332* 136	93 21	2.2* 2.6
<i>Grad 4</i> (n = 62)	40* 10	128* 200	1.8* 1.4	76* 13	337* 105	91 22	2.4* 2.5
Chronische GvHD (n = 125)	101 32	46* 34	1.3* 0.6	86* 13	418 167	101* 25	1.8* 2.2
VOD/SOS (n = 58)	80* 46	87* 77	3.6* 2.2	80* 16	442 150	90 18	5.6* 6.6
MAHA (n = 172)	93 23	48* 55	1.4* 0.8	82* 10	322* 122	96 15	2.4* 2.4

Tabelle 3.2: Laborparameter bei Komplikationen der HSCT

Alle Werte sind Mittelwerte (Standardabweichung) der Behandlungswochen. *= signifikant zu keine Komplikationen ($p < 0.05$). AT=Antithrombin; für Protein C sind nur Behandlungswochen ohne Steroidtherapie ausgewertet.

3.4.3. Prokollagen-III-Peptid

Mit zunehmenden Schweregrad einer Infektion kommt es zu einem Anstieg der PNP-III-Werte (Abbildung 3.4.a). Auch bei der aGvHD kommt es zu einem Anstieg des PNP-III (Tabelle 3.2.), wobei der Anstieg besonders bei Fällen mit Leber-GvHD zu beobachten ist

(Abbildung 3.4.b). Bei Patienten ohne Infektion oder GvHD ist ein diskret erhöhter PNP-III-Spiegel bei MAHA und cGvHD auffällig. Zwar sind die PNP-III-Spiegel bei Patienten mit VOD/SOS von allen Erkrankungen am höchsten (Abbildung 3.4.d), jedoch eignet sich PNP-III zur Differentialdiagnose der VOD bei Patienten mit Hyperbilirubinämie wegen des breiten Überlappungsbereiches nur bedingt.

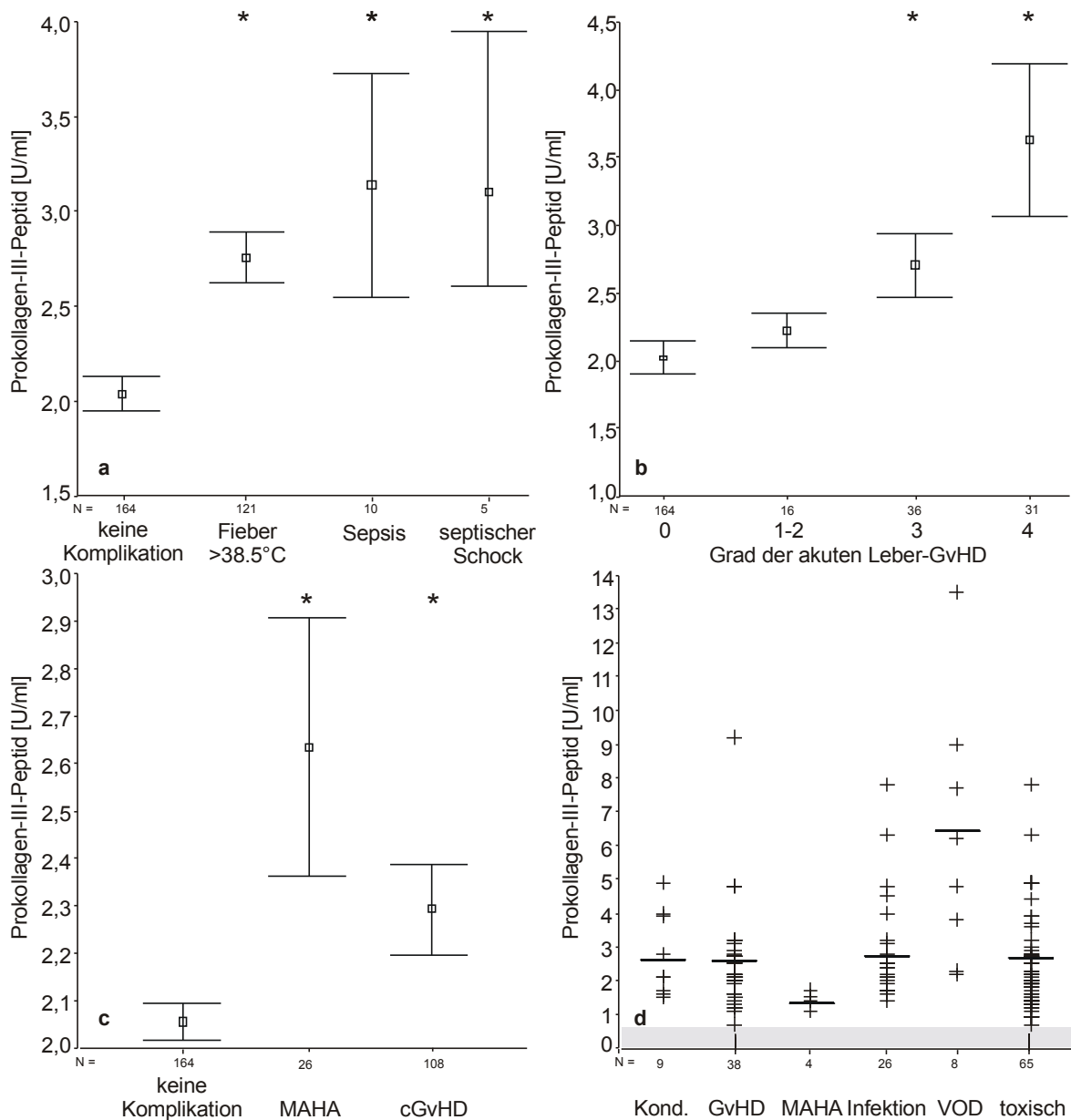


Abbildung 3.4.: Prokollagen-III-Spiegel bei Transplantations-assoziierten Komplikationen

Gezeigt sind Mittelwerte und das 95%-Konfidenzintervall (a-c) von Behandlungswochen mit und ohne Komplikation. Abbildung d stellt die Maximalwerte aller Patienten mit Bilirubinwerten über 2.0 mg/dl dar (Strich = Mittelwert). Grau hinterlegt ist der Normbereich. $*=p<0.05$ zu Behandlungswochen ohne Komplikation. Alle Analysen erfolgten nur an Fällen, bei denen nicht zeitgleich mehrere Komplikationen vorlagen.

3.4.4. Sonstige Gerinnungsparameter

Patienten mit VOD/SOS haben eine Thrombozytopenie mit einem mittleren Thrombozytenwert von 31 G/l (± 27), Patienten mit MAHA haben einen mittleren Thrombozytenwert von 41 G/l (± 67). Der Wochenverbrauch von Thrombozytenkonzentraten war erhöht bei Patienten mit VOD/SOS (7.5 vs. 2.6 Einheiten, $p < 0.001$) und bei Infektionen (5.8 vs. 2.6 Einheiten, $p < 0.001$). Die D-Dimerspiegel waren erhöht bei VOD/SOS und bei Infektionen.

4. Diskussion

Die hepatische VOD/SOS ist eine schwerwiegende thrombotische Komplikation, die mit einer Inzidenz von etwa 5% nach HSCT auftritt (Carreras *et al*, 1998) und unbehandelt in einem hohen Prozentsatz der Fälle zum Tode führt (Mc Donald *et al*, 1993). Die Diagnose der VOD/SOS ist schwierig und erfolgt hauptsächlich nach klinischen Kriterien (Mc Donald *et al*, 1984), wobei die Klassifikation nach den "Baltimore"-Kriterien (Jones *et al*, 1987) eine höhere Spezifität besitzt und meist verwendet wird. Die Kriterien Ikterus, Gewichtszunahme, Aszites und Hepatomegalie sind jedoch vieldeutig und können die Differentialdiagnose zu anderen klinischen Krankheitsbildern schwierig machen. Zur Diagnosesicherung wird häufig eine Leberbiopsie durchgeführt, die wegen der meist bestehenden Thrombozytopenie und der nach HSCT bestehenden Thrombozytopathie in der Regel transjugulär durchgeführt wird. Da jedoch die gewonnenen Biopsiestücke meist klein sind und wegen der meist ungleichmäßig in der Leber verteilten histologischen Veränderungen die Beurteilbarkeit mit der Anzahl der beurteilbaren Portalfelder steigt, ist die Sensitivität dieser Methode unbefriedigend. Wünschenswert wären nichtinvasive Diagnosemöglichkeiten mit hoher Spezifität. Neben sonographischen (Nicolau *et al*, 1993) und dopplersonographischen Techniken (Sonneveld *et al*, 1998), die jedoch nur eine eingeschränkte Sensitivität besitzen und meist erst in fortgeschrittenen VOD/SOS-Stadien eindeutige Ergebnisse liefern, sind immer wieder laborchemische Marker der VOD/SOS in Diskussion, deren prospektive Evaluation jedoch größtenteils aussteht. Beschrieben sind das PAI-1-Antigen und das Prokollagen-III-Peptid als sensitive und spezifische Parameter einer VOD/SOS. Zudem wurde postuliert, daß niedrige Protein C-Werte während der Konditionierungsphase einer VOD/SOS vorausgehen.

Um die differentialdiagnostische Bedeutung der Labormarker PAI-1, PC und PNPIII zu evaluieren, untersuchten wir daher an unserem Zentrum über einen Zeitraum von 2 Jahren 350 Patienten prospektiv.

4.1. Verlauf der VOD/SOS-Laborparameter bei unkomplizierter HSCT

Bei unkomplizierter HSCT zeigen die VOD/SOS-Laborparameter folgende Charakteristika: 1) Bei einer Busulfan-haltigen Konditionierung kommt es zu einer Erhöhung des PAI-1-Spiegels. 2) In den ersten 2 Wochen nach HSCT sind die PAI-1-Spiegel erniedrigt. 3) Bei

einer ATG-haltigen Konditionierungstherapie sind die Protein C-Spiegel erniedrigt. 4) Im Verlauf der HSCT kommt es zu einem kontinuierlichen Anstieg des Prokollagen-III-Peptids.

PAI-1 ist ein starker Inhibitor der Fibrinolyse und gilt als Marker einer endothelialen Schädigung. Unsere Daten zeigen, daß es unter einer Konditionierung mit Busulfan zu einer Erhöhung des PAI-1-Antigens im Blut kommt. Dies ist von Relevanz, gilt doch Busulfan als ein möglicher Auslöser der VOD/SOS (Grochow *et al*, 1989; Grochow *et al*, 1993), wobei der Pathomechanismus gegenwärtig unklar ist. Eine direkte Schädigung des Endothels durch Busulfan ist nicht beschrieben. Die Beobachtung zeigt jedoch, daß eine Fibrinolysehemmung durch Bildung von Mikrothrombosen bedeutsam in der Pathogenese der VOD/SOS sein könnte.

Im Anschluß an die HSCT kommt es zu einem Abfall des PAI-1. Hepatozyten sind neben Endothelzellen der wichtigste Produktionsort für den im Plasma zirkulierenden PAI-1 (Kruithof *et al*, 1988). Eine durch die Konditionierung vorübergehend eingeschränkte Leberfunktion ist daher als Ursache des beobachteten Abfall denkbar. Dementsprechend findet sich auch in den ersten Wochen nach Transplantation ein Abfall des Quickwertes, der ebenfalls auf eine eingeschränkte Leberfunktion hinweist. Da Thrombozyten PAI-1 gespeichert haben, ist auch ein Einfluß der Thrombozytopenie auf den PAI-1-Spiegel denkbar. Da jedoch andere Ursachen der HSCT-assoziierten Thrombozytopenie wie die cGvHD oder MAHA nicht zu einem Abfall, sondern zu einem Anstieg des PAI-1 führen, erscheint diese Möglichkeit wenig wahrscheinlich.

Aktiviertes Protein C ist von zentraler Bedeutung in der Inhibition der plasmatischen Gerinnung und wirkt darüberhinaus auch hemmend auf Makrophagen (Grey *et al*, 1996). An einer kleinen Zahl von 50 Patienten konnten Faioni *et al* (1993) nachweisen, daß bei Patienten, die im Transplantationsverlauf eine VOD/SOS entwickelten, die Protein C (PC)-Spiegel während der Konditionierung erniedrigt waren. Unsere Daten zeigen niedrige PC-Werte bei Konditionierung mit ATG-F. Dies ist vermutlich Folge einer DIC, die sich auch im Anstieg der D-Dimere während der Konditionierung widerspiegelt. Ein weiterer Abfall ist während der ersten Wochen nach HSCT festzustellen. Ähnlich dem beobachteten PAI-1-Abfall ist dies möglicherweise ebenfalls Folge einer passageren Lebersynthesestörung, da auch Protein C hepatisch synthetisiert wird. Im Gegensatz zu den Daten der oben erwähnten Studie (Faioni *et al*, 1993) hatten Patienten mit einer späteren VOD/SOS in unserem Kollektiv während der ersten Transplantationswochen keine niedrigeren Protein C-Werte.

Prokollagen-III-Peptid (PNPIII) ist ein precursor-Molekül des Kollagen Typ III, das bei vermehrter Kollagenbildung anfällt. Erhöhte PNPIII-Spiegel sind dementsprechend bei einer Vielzahl von Erkrankungen beschrieben, die mit einer Fibrosierung einhergehen (Teschler *et al*, 1990; Schulze *et al*, 1990). Die vorliegenden Daten zeigen, daß die PNPIII-Werte während der HSCT kontinuierlich ansteigen. PNPIII wird sowohl über die Leber abgebaut als auch über die Niere ausgeschieden (Jensen, 1997). Jedoch hatten die Patienten mit unkomplizierten HSCT-Verlauf konstant normale Kreatininwerte. Denkbar ist jedoch eine Störung der renalen Ausscheidung durch Interferenzen mit Immunsuppressiva wie Cyclosporin A, das vaskuläre und tubuläre Nierenschäden verursacht (Remuzzi *et al*, 1995). Auch die selbst bei unkomplizierter HSCT temporär ansteigenden Bilirubinwerte deuten auf eine vorübergehende toxische Schädigung der hepatischen Clearance durch die Konditionierungstherapie hin und könnten Ursache des Anstiegs von PNPIII sein.

4.2. Verlauf der VOD/SOS-Laborparameter bei Komplikationen der HSCT

Bei Komplikationen nach HSCT zeigen die VOD/SOS-Laborparameter PAI-1, PNPIII und PC deutliche Veränderungen, die sich wie folgt zusammenfassen lassen: 1) PAI-1 vermag zwischen einer VOD/SOS und anderen Ursachen der Hyperbilirubinämie zu diskriminieren. 2) Bei VOD/SOS-Patienten sind die höchsten PNP-III-Werte zu beobachten.

Eine Endothelzellschädigung spielt vermutlich eine zentrale Rolle bei der Pathogenese schwerer Transplantations-assoziierten Komplikationen wie der GvHD, der VOD/SOS oder der MAHA. Endothelzellen synthetisieren PAI-1 und haben daher wesentlichen Einfluß auf die intravasale fibrinolytische Kapazität. TNF α gilt dabei als wichtiger Mediator in der Pathogenese schwerer Transplantations-assoziierten Komplikationen (Holler *et al*, 1990) und führt sowohl im Tierversuch (van Hinsbergh *et al*, 1988) als auch beim Menschen (van der Poll *et al*, 1990) zu einer gesteigerten PAI-1-Freisetzung. Dies legt eine Modulation des fibrinolytischen Systems durch Zytokin-vermittelte Endothelzellveränderungen nahe. PAI-1 hemmt die Fibrinolyse und vermag daher nach Gerinnungsaktivierung zu einer Mikrothrombosierung und damit einer Leberschädigung beizutragen (Reilly *et al*, 1994; Aderka, 1991). Tatsächlich konnte unsere Arbeitsgruppe in einer kleinen retrospektiven Analyse den Plasminogen-Aktivator-Inhibitor I (PAI-1) als laborchemischen VOD/SOS-Marker etablieren (Salat *et al*, 1996) und eine zentrale Rolle von PAI-1 in der Pathogenese der VOD/SOS postulieren (Salat *et al*, 1999).

Die vorliegenden prospektiven Ergebnisse bestätigen dies: Alle Patienten mit VOD/SOS haben maximale PAI-1-Antigenspiegel weit oberhalb des Normbereichs, so daß ein cut off-Wert von 120 ng/ml zu einer Sensitivität von 100% führt. Ein PAI-1-Anstieg ist dabei ein frühes Zeichen einer VOD/SOS (Salat *et al*, 1996) und scheint daher eine zentrale Bedeutung in der Pathogenese der VOD/SOS zu haben. Allerdings werden nach unseren Daten PAI-1-Spiegel oberhalb dieser Schwelle auch bei Patienten mit Sepsis und septischem Schock erreicht. Ein PAI-1-Anstieg bei Sepsis ist beschrieben im Tiermodell (de Boer *et al*, 1993) und am Menschen (Massignon *et al*, 1994, Nürnberger *et al*, 1998). Das Vorliegen einer Zytopenie hat dabei keinerlei Einfluß auf die Höhe des PAI-1-Spiegels.

Neben Patienten mit Sepsis sind hohe PAI-1-Spiegel auch bei GvHD nachzuweisen. Auch dies dürfte einen Endothelzellschaden als Folge der immunologischen Aktivierung widerspiegeln, ist das Endothel doch primäre Kontaktstelle zwischen dem transplantierten Spenderimmunsystem und dem Empfängerorganismus. Eine Freisetzung aus geschädigten Hepatozyten, die als Syntheseort von PAI-1 ebenfalls beschrieben sind (Kruithof *et al*, 1988), ist ebenfalls denkbar. In der Tat zeigen Beobachtungen bei 2 Patienten mit schwerem Leberzerfall, daß dies exzessive PAI-1-Werten im Plasma verursachen kann. Da unsere Daten jedoch bei der GvHD keine sonstigen Zeichen des hepatozellulären Schadens zeigen, scheint dies eher unwahrscheinlich.

Da auch in der Pathogenese der MAHA Veränderungen am Endothel als pathogenetisch bedeutsam gelten (Holler *et al*, 1990), sind die erhöhten PAI-1-Werten bei MAHA-Patienten ebenfalls nicht überraschend. Ein PAI-1-Anstieg scheint damit ein generelles Phänomen Transplantations-assoziierten Komplikationen zu sein. Dementsprechend ließ sich ein linearer Zusammenhang zwischen der Anzahl der Komplikationen im HSCT-Verlauf zeigen und für Patienten mit PAI-1-Werten über 120 ng/ml ein 6.3fach erhöhtes Mortalitätsrisiko nachweisen. Für die Differentialdiagnose der Hyperbilirubinämie kann PAI-1 dennoch ein nützlicher Laborparameter sein. Bei klinischem Ausschluß einer schweren Infektion besitzt ein PAI-1-Wert über 120 ng/ml eine Spezifität von 96% und vermag daher neben den klinischen Kriterien den Verdacht einer VOD/SOS zu bestätigen.

Erhöhte Prokollagen-III-Peptidwerte sind bei Patienten mit VOD/SOS als differentialdiagnostisch wegführend beschrieben (Heikinheimo *et al*, 1994, Schuler *et al*, 1996). Patienten mit VOD/SOS haben in unserer Studie tatsächlich die höchsten PNPIII-Werte. Allerdings zeigen die PNPIII-Werte eine breite Überlappung mit anderen Transplantations-assoziierten Komplikationen wie Infektionen, GvHD und MAHA und sind

daher für die laborchemische Differentialdiagnose der VOD/SOS nur bedingt zu verwenden. Die erhöhten PNPIII-Werte spiegeln vermutlich zum einen fibrosierende Prozesse im Organismus wieder, wie sie durch bestimmte Transplantations-assoziierte Prozesse ausgelöst werden können. In der Tat haben Patienten mit VOD/SOS und schwerer Leber-GvHD die höchsten Werte. Bei beiden Krankheitsbildern sind hepatische Umbauprozesse vorstellbar und beschrieben. Zum andern dürfte beim Auftreten von Komplikationen wie Sepsis und MAHA die renale und biliäre Clearance von PNPIII beeinträchtigt sein und so zu hohen Plasmawerten führen.

Patienten mit VOD/SOS haben hohe D-Dimerwerte. Dies belegt, daß bei Patienten mit VOD/SOS eine plasmatische Hyperkoagulabilität vorliegt. Als auslösend betrachten wir eine Hypofibrinolyse, die Folge der erhöhten PAI-1-Werte ist und eine endotheliale Schädigung widerspiegelt. In der Differentialdiagnose der VOD/SOS ist die Bestimmung von PAI-1 daher von klinischer Relevanz.

5. Zusammenfassung

Die VOD/SOS ist die schwerwiegendste thrombotische Komplikation die im Rahmen einer HSCT auftreten kann. Sie stellt nach der Sepsis und der GvHD die dritthäufigste Todesursache dar. Ihre Inzidenz schwankt zwischen 1 bis 54% und sie verläuft in ihrer schweren Form in 98% letal.

Die Diagnoseführung der VOD/SOS ist schwierig und es werden vor allem klinische Kriterien wie Hyperbilirubinämie, Aszites, Leberdruckschmerz und Gewichtszunahme herangezogen. Aufgrund der Vieldeutigkeit dieser Kriterien ist die differentialdiagnostische Abgrenzung oft schwierig.

Die zur Diagnosesicherung durchzuführende Leberbiopsie ist aufgrund einer Thrombopenie meist nur transjugulär durchführbar und die hierbei gewonnen Biopsiestücke sind meist sehr klein und daher ist die Sensitivität dieser Methode nur unbefriedigend.

In unserer prospektiven Studie wurden PAI-1, PNPIII und Protein C als Laborparameter in ihrer diagnostischen Wertigkeit bei der VOD/SOS geprüft.

Die höchsten PNPIII-Werte zeigten sich zwar bei Patienten mit VOD/SOS, bei allerdings breiter Überlappung mit anderen transplantationsassoziierten Komplikationen, so daß dies nur bedingt differentialdiagnostisch zu verwerten ist.

Auch für das Protein C zeigte sich keine diagnostische Wertigkeit.

Vor allem hohe Plasmaspiegel des PAI-1 erwiesen sich als diagnostisch wertvoll, die PAI-1-Spiegel waren bei Patienten mit VOD/SOS stark erhöht. Allerdings gilt dies nur in Zusammenschau mit den klinischen Kriterien für die VOD/SOS, da differentialdiagnostisch der PAI-1-Anstieg bei Infektionen und GvHD berücksichtigt werden muß. Bei klinischem Ausschluß einer Infektion besitzt allerdings ein PAI-1-Wert über 120 ng/ml eine Spezifität von 96%.

Die durch die hohen PAI-1-Spiegel bei VOD/SOS resultierende ausgeprägte Hypofibrinolyse scheint eine zentrale Größe in der Pathogenese der VOD/SOS zu sein und war auch während einer Konditionierungstherapie mit Busulfan nachweisbar.

6. Literaturverzeichnis

Aderka D (1991) Role of tumor necrosis factor in the pathogenesis of intravascular coagulopathy of sepsis: potential new therapeutic implications. *Israelish Journal of Medical Sciences* 27:52-60

Carreras E, Bertz H, Arcese W, Vernant JP, Thomas JF, Hagglund H, Bandini G, Esperou H, Russel J, De la Rubia J, Di Girolamo G, Demunyk H, Hartmann O, Clausen J, Ruutu T, Leblond V, Iriondo A, Bosi A, Ben Bassat I, Koza V, Gratwohl A, Apperley JF (1998) Incidence and outcome of hepatic veno-occlusive disease after blood or marrow transplantation: a prospective cohort study of the European Group for Blood and Marrow Transplantation Chronic Leukemia Working Party. *Blood* 15:3599-3604

Chmielewska J, Ranby M, Wiman B (1983) Evidence for a rapid inhibitor to tissue plasminogen activator in plasma. *Thromb Res.* 31:427-436

De Boer JP, Creasy AA, Chang A, Roem D, Brouwer MC, Eerenberg AJ, Hack CE, Taylor FB (1993) Activation patterns of coagulation and fibrinolysis in baboons following infusion with lethal or sublethal dose of *Escherichia coli*. *Circulation an Shock* 39:59-67

DeLeve LD, Shulman HM, McDonald GB (2002) Toxic injury to hepatic sinusoids: sinusoidal obstruction syndrome (veno-occlusive disease). *Semin Liver Dis.* Feb;22(1):27-42

Dowton SB, Colten HR (1988) Acute phase reactants in inflammation and infection. *Semin Hematol.* Apr. 25(2):84-90 Review

Emeis JJ, van Hinsbergh VW, Verheijen JH, Wijngaards G (1983) Inhibition of tissue-type plasminogen activator by conditioned medium from cultured human and porcine vascular endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 110:392-398

Emeis JJ, Kooistra T (1986) Interleukin 1 a lipopolysaccharide induce an inhibitor of tissue-type plasminogen activator in vivo and in cultured endothelial cells. *Journal of Experimental Medicine* 163:1260-12

Faioni EM, Kraachmalnicoff A, Bearmann SI, Federici AB, Decarli A, Gianni AM, McDonald GB, Mannucci PM (1993) Naturally occurring anticoagulants and bone marrow transplantation: Plasma Protein C predicts the development of veno-occlusive disease of the liver. *Blood* 81:3458-3462

Grey ST, Hancock WW (1996) A physiologic antiinflammatory pathway based on thrombomodulin expression and generation of activated protein C by human mononuclear phagocytes. *Journal of Immunology* 156:2256-2263

Grochow LB, Jones RJ, Brundrett RB, Braine HG, Chen TL, Saral R, Santos GW, Colvin OM (1989) Pharmacokinetics of busulfan correlation with veno-occlusive disease in patients undergoing bone marrow transplantation. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 25:55-61

Grochow LB (1993) Busulfan disposition the role of therapeutic monitoring in bone marrow transplantation induction regimens. *Seminars in Oncology* 20:18-35

Harper PL, Jarvis J, Jennings I, Luddington R, Marcus RE (1990) Changes in the natural anticoagulants following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 5:39-42

Heikinheimo M, Halila R, Fasth A (1994) Serum procollagen Type III is an early and sensitive marker for veno-occlusive disease of the liver in children undergoing bone marrow transplantation. *Blood* 83:3036-3040

Holler E, Kolb HJ, Hiller E, Mraz W, Lehmacher W, Gleixner B, Seeber C, Jehn U, Gerhartz HH, Brehm G, Wilmanns W (1989) Microangiopathy in patients on cyclosporine prophylaxis who developed acute graft-versus-host disease after HLA-identical bone marrow transplantation. *Blood* 73:2018-2024

Holler E, Kolb HJ, Moller A, Kempeni J, Liesenfeld S, Pechumer H, Lehmacher W, Ruckdeschel G, Gleixner B, Riedner C (1990) Increased serum levels of tumor necrosis factor alpha precede major complications of bone marrow transplantation. *Blood* 75:1011-1016

Jensen LT (1997) The aminoterminal propeptide of type III procollagen. Studies on physiology and pathophysiology. *Danish Medical Bulletin* 44:70-78

Jones R, Lee KSK, Beschorner WE, Vogel VG, Grochow LB, Braine HG, Vogelsang GB, Sensenbrenner LL, Santos GW, Saral R (1987) Venoocclusive disease of the liver following bone marrow transplantation. *Transplantation* 44:778-783

Kluft C, Verheijen JH, Jie AF, Rijken DC, Preston FE, Sue-Ling HM, Jespersen J, Aasen AO (1985) The postoperative fibrinolytic shutdown: a rapidly reverting acute phase pattern for the fast-acting inhibitor of tissue-type plasminogen activator after trauma. *Scand J Clin Lab Invest.* 45(7):605-10

Kruithof EKO (1988) Plasminogen activator inhibitors – a review. *Enzyme* 40:113-121

Kushner I, Mackiewitz A (1987) Acute phase proteins as disease markers. *Disease Markers* 5:1-11

Locasciulli A, Bacigalupo A, Alberti A, Van Lint MT, Uderzo C, Marmont AM, Shulman HM, Portman B (1989) Predictability before transplant of hepatic complications following allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation Jul; 48(1):68-72*

Loskutoff DJ, van Mourik JA, Erickson LA, Lawrence D (1983) Detection of an unusually stable fibrinolytic inhibitor produced by bovine endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 80:2956-2960

Massignon D, Lepape A, Bienvenu J, Barbier Y, Boileau C, Coeur P (1994) Coagulation/fibrinolysis balance in septic shock related to cytokines and clinical state. *Haemostasis* 24:36-48

Mc Donald GB, Sharma P, Matthews DE, Shulman HM, Thomas ED (1984) Venooclusive disease of the liver after bone marrow transplantation: Diagnosis, incidence and predisposing factors. *Hepatology* 4:116-122

Mc Donald GB, Hinds MS, Fisher LD, Schoch GB, Wolford JL, Banaji M, Hardin BL, Shulman HM, Clift RA (1993) Venooclusive disease of the liver and multiorgan failure after bone marrow transplantation. A cohort study of 355 patients. *Annals of Internal Medicine* 118:255-267

Nicolau C, Bru C, Carreras E, Bosch J, Bianchi L, Gilabert R, Vilana R (1993) Sonographic diagnosis and hemodynamic correlation in venooclusive disease of the liver. *Journal of Ultrasound Medicine* 12:437-440

Nürnberg W, Michelmann I, Burdach S, Göbel U (1998) Endothelial dysfunction after bone marrow transplantation: Increase of soluble thrombomodulin and PAI-1 in patients with multiple transplant-related complications. *Annals of Haematology* 76:61-65

Pannekoek H, Veerman H, Lambers H, Diergarde P, Verweij CL, van Zonneveld AJ, van Mourik JA (1986) Endothelial plasminogen activator inhibitor (PAI): a new member of the Serpin gene family. *EMBO* 5(10):2539-44

Reilly TM, Mousa SA, Seetharam R, Racanelli AL (1994) Recombinant plasminogen activator inhibitor type 1. a review of structural, functional, and biological aspects. *Blood Coagulation Fibrinolysis* Feb;5(1):73-81

Remuzzi G, Perico N (1995) Cyclosporine-induced renal dysfunction in experimental animals and humans. *Kidney International* Dec;52:S70-4

Salat C, Holler E, Kolb HJ, Reinhardt B, Pihusch R, Wilmanns W, Hiller E (1996) Plasminogen Activator Inhibitor-1 confirms the diagnosis of hepatic veno-occlusive disease in patients with hyperbilirubinemia after bone marrow transplantation. *Blood* 89:2184-2188

Salat C, Holler E, Kolb HJ, Pihusch R, Reinhardt B, Penovici M, Ledderose G, Hiller E (1999) The relevance of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) as a marker for the diagnosis of hepatic veno-occlusive disease in patients after bone marrow transplantation. *Leukemia and Lymphoma* 33:25-32

Schuler U, Subat S, Schmidt H, Schneider A, Ehninger G (1996) Evaluation of procollagen-III peptide as a marker for veno-occlusive disease after bone marrow transplantation. *Annals of Hematology* 73:25-28

Schulze E, Herrmann K, Haustein UF, Mehlhorn J, Bohme HJ (1990) N-Prokollagen(III)peptid und lysosomale beta-Galactosidase bei progressiver Sklerodermie und Silikose. *Dermatologische Monatsschrift* 176:687-693

Scrobohaci ML, Drouet L, Monem-Mansi A, Devergie A, Baudin B, D'Agay MF, Gluckman E (1991) Liver veno-occlusive disease after bone marrow transplantation. Changes in coagulation and endothelial markers. *Thrombosis Research* 63:509-519

Shulman HM, Gown AM, Nugent DJ (1987) Hepatic veno-occlusive disease after bone marrow transplantation. Immunohistochemical identification of the material within occluded central venules. *American Journal of Pathology* 127:549-558

Sonneveld P, Lameris JS, Cornelissen J, Ogilvie A, Lowenberg B (1998) Colour flow imaging sonography of portal and hepatic vein flow to monitor fibrinolytic therapy with r-TPA for veno-occlusive disease following myeloablative treatment. *Bone Marrow Transplantation* 21:731-734

Storb R, Thomas ED (1986) Graft-versus-host disease in dog and man. The Seattle experience. *Immunology Reviews* 88:215

Suffredini AF, Harpel PC, Parrillo JE (1989) Promotion and subsequent inhibition of plasminogen activation after administration of intravenous endotoxin to normal subjects. *New Engl J Med. Vol 320, No 18:1165-1172*

Teschler H, Costabel U, Ziesche R, Freitag L, Matthys H, Konietzko N (1990) Prokollagen-III-Peptid in der BAL-Flüssigkeit als Fibroseindex bei Sarkoidose und idiopathischer Lungenfibrose? *Pneumologie* 44 Suppl 1:217-218

Thomas ED, Storb R, Clift RA, Fefer A, Johnson FL, Neiman PE, Lerner KC, Glucksberg H, Bruckner D (1975) Bone marrow transplantation. *The New England Journal of Medicine* 292:832

Urdén G, Hamsten A, Wiman B (1987) Comparison of plasminogen activator inhibitor activity and antigen in plasma samples. *Clin Chem Acta. Nov 16; 169(2-3):189-96.*

Van der Poll T, Levi M, Buller HR, van Deventer SJ, de Boer JP, Hack CE, ten Cate JW (1990) Fibrinolytic response to tumor necrosis factor in healthy subjects. *Journal of Experimental Medicine* 174:729-732

Van Hinsbergh VW, Kooistra T, van den Berg EA, Princen HMG, Fiers W, Emeis JJ (1988) Tumor necrosis factor increases the production of plasminogen activator inhibitor in human endothelial cells in vitro and in rats in vivo. *Blood Vol 52, No 5:1467-1473*

Van Mourik JA, Lawrence DA, Loskutoff DJ (1984) Purification of an inhibitor of plasminogen activator (antiactivator) synthesized by endothelial cells. *J Biol Chem* 259:14914-14921

Wiman B (1995) Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) in plasma: its role in thrombotic disease. *Thromb Haemost. Jul;74(1):71-6*

7. Danksagung

Die vorliegende Doktorarbeit wäre ohne die Unterstützung zahlreicher Personen nicht möglich gewesen. Ihnen allen bin ich zu großem Dank verpflichtet.

Zuerst danke ich Prof. Dr. med. W. Hiddemann in seiner Eigenschaft als Direktor der Medizinischen Klinik III – Großhadern der Ludwig-Maximilians Universität München, für die Förderung meiner klinischen und wissenschaftlichen Ausbildung.

Großer Dank gilt Prof. Dr. med. E. Hiller und PD Dr. med. R. Pihusch die als Leiter des Hämostaseologischen Labors und als meine direkten Ansprechpartner mich immer unterstützten und ein offenes Ohr hatten.

Ebenso möchte ich Prof. Dr. med. C. Salat danken, der als erster mein Interesse für die hämostaseologische Probleme der Knochenmarktransplantation geweckt hat.

Ganz besonders möchte ich mich für die Unterstützung durch meine Frau und durch meine Eltern bedanken.

8. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Holger Wegner
Anschrift Eulenspiegelstr. 77
81739 München
Tel.: 089/71047946
e-mail: holgerwegner@gmx.de
Geburtsdatum 26. Januar 1972
Geburtsort Sindelfingen
Familienstand verheiratet, 1 Kind

Schulbildung

1978 - 1982 Grundschule in Herrenberg
1982 - 1991 Schickhardt-Gymnasium Herrenberg
1991 Abitur

Zivildienst

1991 - 1993 Berufsgenossenschaftliche Unfallklinik Tübingen

Studium

November 1993 Beginn des Medizinstudiums an der LMU München
September 1995 Ärztliche Vorprüfung
August 1996 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Januar 1999 Beginn der Doktorarbeit in der Forschungsgruppe Hämostaseologie von Prof. Dr. med. E. Hiller
März 1999 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
April 1999 Beginn Praktisches Jahr

Famulaturen

Chirurgie Krankenhaus Dritter Orden Nymphenburg
Anästhesie Kreiskrankenhaus Herrenberg
Innere Medizin Krankenhaus Dritter Orden Nymphenburg
Allgemeinmedizin Praxis Dr. med. B. Buschner, München

Praktisches Jahr

1. Tertial Chirurgische Klinik im Klinikum Großhadern (Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. W.-F. Schildberg), davon jeweils zwei Monate Station H6 (Thorax-, Gefäß-, und Visceralchirurgie) und Station G5 (chirurgische Intensivstation)
2. Tertial Medizinische Klinik III im Klinikum Großhadern (Direktor: Prof. Dr. med. W. Hiddemann)
3. Tertial Klinik für Anästhesiologie im Klinikum Großhadern (Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. K. Peter)

Arzt im Praktikum

01. August 2000
bis 31. Januar 2002 4. Medizinische Abteilung im Städtischen Krankenhaus München-

Neuperlach, Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie (Chefarzt: Prof. Dr. med. M. Garbrecht)

Assistenzarzt

01. April 2002
bis 31. März 2004

Medizinische Klinik III im Klinikum Großhadern München, Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie (Chefarzt Prof. Dr. med. W. Hiddemann)
12 Monate in der Einheit für allogene Stammzelltransplantation, 6 Monate internistische Intensivstation, 6 Monate allgemeine Hämatologie und Onkologie inklusive autologe Stammzelltransplantation

16. April 2004
bis 31.01.2008

4. Medizinische Abteilung im Klinikum Neuperlach, Städtisches Klinikum München GmbH, Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie (Chefarzt: Prof. Dr. med. M. Garbrecht bis 02/05, Komm. CA Dr. K. Nibler, ab10/07 Prof. Dr. M. Karthaus)
Allgemeine Hämatologie, Onkologie und Palliativmedizin, 3 Monate internistische Notaufnahme

seit 01. Februar
2008

Hämatologisch-onkologische Schwerpunktpraxis Prof. Dr. C. Salat und Dr. med. O. Stötzer, München

Februar 2006

Basiskurs Palliativmedizin für Ärzte

Ärztliche Anerkennungen

Juli 2007

Anerkennung als „Facharzt für Innere Medizin“