

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

***Evaluation der ICG-Clearance (LIMON®) zur Diagnostik von
Leberfunktionsstörungen bei Patienten nach
allogener Stammzelltransplantation***

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

vorgelegt von
Konstanze Kland, geb. Lorenz

aus
München

2011

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Jan Braess

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Natascha Nüssler
Prof. Dr. Monika Führer

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Bernhard Heilmeyer

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

Tag der mündlichen Prüfung: 05.05.2011

Abkürzungen/Begriffe

ALL	Akute lymphatische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
AP	Alkalische Phosphatase
AUC	Area under the curve / Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve
Bili	Bilirubin
CHE	Cholinesterase
CLL	Chronische lymphatische Leukämie
CML	Chronische myeloische Leukämie
CyA	Cyclosporin A
DNS	Desoxyribonukleinsäure
Engraftment	Anwachsen der transplantierten Zellen
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
γ -IF	γ -Interferon
G-CSF	Granulozyten colony-stimulating-factor
GM-CSF	Granulozyten-Makrophagen colony-stimulating-factor
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
GvHD	Graft-versus-Host Disease
GvL	Graft-versus-Leukemia
HLA	Humanes-Leukozyten-Antigen
ICG	Indocyanin Grün
IL2	Interleukin 2
IL3	Interleukin 3
KMT	Knochenmarktransplantation
KOF	Körperoberfläche
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MM	Multiples Myelom
PAI	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor
PDR	Plasma-Disappearance-Rate
Quick	Thromboplastinzeit
R15	Retentionsrate extrapoliert auf 15 Minuten
RNS	Ribonukleinsäure

SAA	Schwere aplastische Anämie
SOS	Sinusoidal-obstruction-syndrom
SYVA	Medikamentenspiegel : Muttersubstanz Cyclosporin A
SZT	Stammzelltransplantation
TDX	Medikamentenspiegel: Muttersubstanz und Metabolite Cyclosporin A
VOD	Veno-occlusive-disease

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	6
1.1 Entwicklung der allogenen Knochenmarktransplantation.....	6
1.2 Allogene SZT heute.....	6
1.2.1 Indikationen.....	7
1.2.2 Konditionierungstherapie und -regime.....	7
1.2.3 Transplantation.....	9
1.3 Lebererkrankungen im Rahmen der allogenen SZT.....	10
1.3.1 Medikamenteninduzierte Lebertoxizität.....	10
1.3.2 Venocclusive-disease.....	10
1.3.3 Graft-versus-Host Erkrankung.....	11
1.4 Lebertoxische Medikamente im Rahmen der Transplantation.....	13
1.4.1 Busulfan.....	13
1.4.2 Cyclophosphamid.....	14
1.4.3 Cyclosporin.....	17
1.4.4 Tacrolimus.....	19
1.4.5 Azole.....	20
1.5 Diagnostische Methoden zur Erfassung von Leberdysfunktionen.....	22
2. ZIEL UND FRAGESTELLUNG	24
3. MATERIAL UND METHODEN	25
3.1 KMT - Einheiten.....	25
3.2 Biometrische Daten der Patientengruppe.....	25
3.3 Limon-System.....	26
3.3.1 Indocyaningrün.....	26
3.3.2 Aufbau und Zubehör.....	28
3.4 Studiendesign.....	29
3.5 Prinzip der Pulsoxy- und der Pulsdensitometrie.....	29
3.6 Messung der PDR _{ICG} und R15 _{ICG}	31
3.7 Statistik.....	33
4. ERGEBNISSE	34
4.1 Anteil hepatotoxischer Medikamente im Verlauf.....	34
4.2 Laborparameter im Verlauf.....	40
4.3 Limon - Messwerte im Verlauf.....	46
4.4 Korrelation der Limon - Messwerte mit Laborparametern.....	48
4.5 Korrelation der Bilirubinwerte mit Cyclosporin A.....	63
4.6 Positiv prädiktiver Wert des R15 Parameters bezüglich standardisierter Laborparameter.....	68
5. DISKUSSION	70
5.1 LIMON als Methode zur Evaluierung von Leberfunktionsstörung.....	70
5.2 Ergebnisse und klinische Relevanz.....	72
5.2.1 Einsatz und Monitoring hepatotoxischer Medikamente.....	72
5.2.2 LIMON Messwerte als Verlaufsparemeter bei KMT Patienten.....	74
5.2.3 LIMON Messwerte gehen hepatischen Laborparametern voraus.....	75
5.2.4 Bilirubin korreliert mit Cyclosporin A.....	77
5.2.5 Klinische Relevanz beim Einsatz von LIMON in der KMT.....	78
6. ZUSAMMENFASSUNG	79
7. LITERATURVERZEICHNIS	80
8. WIDMUNG UND DANKSAGUNG	83

1. EINLEITUNG

1.1 Entwicklung der allogenen Knochenmarktransplantation

Unter der so genannten allogenen Knochenmarktransplantation (KMT), um die es im Folgenden gehen wird, versteht man eine Übertragung von hämatopoetischen Stammzellen und zum Teil auch anderen Blutzellen von einem Menschen zu einem anderen. Bereits seit dem 19. Jahrhundert wurden Patienten mit Knochenmarktherapie behandelt. Später begann man mit der Erforschung des Knochenmarks zum Schutz vor Strahlenschäden als Folge der Atombombenexplosionen von Hiroshima und Nagasaki.

Das Konzept der allogenen Stammzelltransplantation (SZT) wurde zunächst an Nagetieren und Hunden im Tiermodell erforscht. Ende der sechziger Jahre schließlich gelang es Epstein und Storb im Hundemodell zu zeigen, dass die passende Gewebetypisierung für den Erfolg einer allogenen SZT von wichtiger Bedeutung ist (Epstein RB et al. 1968). Die ersten klinischen Transplantationen auf der Basis der Humanen-Leukozyten-Antigen (HLA) Typisierung konnten durchgeführt werden.

Durch die Entdeckung der Tatsache, dass Zytokine wie Granulozyten-colony-stimulating-factor (G-CSF) und Granulozyten-Makrophagen-colony-stimulating-factor (GM-CSF) Blutstammzellen aus dem Knochenmark mobilisieren können und sie zu einem signifikanten Anstieg im Blutkreislauf führen (Socinski MA. E et al. 1988; Dührsen U. et al. 1988), wurde auch die Transplantation von aus peripherem Blut gewonnenen, hämatopoetischen Stammzellen möglich.

Eine weitere Quelle, um Stammzellen zu gewinnen, ist das Nabelschnurblut. Diese Erkenntnis führte im Jahre 1989 zur ersten erfolgreichen Transplantation mit Nabelschnurzellen (Gluckman E. et al. 1989).

Von der allogenen Transplantation grenzen sich zwei weitere Transplantationsverfahren ab: die autologe und die syngene KMT.

Bei der autologen Transplantation werden dem Patienten eigene hämatopoetische Stammzellen entnommen, die ihm nach entsprechender myeloablativer Behandlung wieder reinfundiert werden. Die syngene Transplantation macht sich das Vorhandensein eines eineiigen Zwillinges, der hier als Spender dient, zu Nutze.

1.2 Allogene SZT heute

Die allogene SZT setzt sich zusammen aus Zytoreduktion, Konditionierungstherapie und der eigentlichen Transplantation.

1.2.1 Indikationen

Die Therapie zahlreicher hämatologischer Erkrankungen hat in den letzten zwei Jahrzehnten aufgrund besserer supportiver Maßnahmen und der Therapieintensivierung mit der Möglichkeit der SZT große Fortschritte erzielt.

Die allogene Blut - SZT stellt heutzutage ein kuratives Therapiekonzept für eine ganze Reihe von hämatologischen, onkologischen Erkrankungen dar.

Grundsätzlich kann bei jeder Erkrankung einer hämatopoetischen Vorläuferzelle oder deren Schädigung durch Zytostatika oder Bestrahlung die Indikation zur SZT bestehen. Auch im Rahmen einer Immuntherapie anderer Erkrankungen kann eine SZT hilfreich sein. Es muss jedoch stets zwischen dem Risiko der Erkrankung und dem Risiko, welches die Transplantation mit sich bringt, individuell abgewogen werden. Prinzipiell ist eine Transplantation bei Kindern und Patienten bis zum 65. Lebensjahr, die einen geeigneten Spender haben, oder Transplantationen unter eineiigen Zwillingen bis zum 70. Lebensjahr vertretbar. Entscheidend ist dabei das biologische Alter.

Standardindikationen für eine allogene Transplantation stellen akute Leukämien, wie die akute myeloische Leukämie (AML) und die akute lymphatische Leukämie (ALL), der schwere angeborene Immundefekt, die schwere aplastische Anämie (SAA) und das multiple Myelom (MM) dar. Mögliche Indikationen sind die chronische myeloische Leukämie (CML), rezidivierende Lymphome, auch die chronische lymphatische Leukämie (CLL) und Lymphome mit Knochenmarkbefall. Indikationen für angeborene Erkrankungen sind die Fanconi-Anämie, schwere Formen der Thalassämie, das Wiskott-Aldrich-Syndrom, sowie die Osteopetrosis.

Die Erfolgsquote der allogenen SZT ist je nach Spender, Alter des Patienten, Zeitpunkt der Transplantation und der Art der Erkrankung sehr unterschiedlich (Berdel WE et al. 2004).

1.2.2 Konditionierungstherapie und -regime

Unter der Zytoreduktion versteht man eine der Transplantation bei den meisten malignen Erkrankungen vorausgehende hochdosierte Chemotherapie. Die daran anschließende Konditionierungstherapie, beinhaltet häufig Ganzkörperbestrahlung. Da diese Therapie in der Regel das Knochenmark des Patienten zerstört, ist eine folgende Transplantation von hämatologischen Stammzellen obligatorisch. Bei der

Konditionierungstherapie unterscheidet man zwischen den so genannten Standard-Konditionierungsregimen, den dosisreduzierten und den intensivierten Regimen.

Ziel und Zweck der Konditionierungstherapie sind:

- die weitgehende Elimination der hämatologischen Grunderkrankung
- die Induktion einer Immunsuppression beim Empfänger, um das sichere Anwachsen des Transplantates (Engraftment) gewährleisten zu können.
- die Induktion zur Myeloablation beim Patienten, um später eine ausschließlich von den Spenderzellen ausgehende Hämatopoese erzielen zu können.

Bei der Standard-Konditionierung gibt es sowohl ein ganzkörperbestrahlungsbasiertes Konditionierungsregime, sowie ein chemotherapie-basiertes Regime.

Im ganzkörperbestrahlungsbasierten Konditionierungsregime erhält der Patient eine so genannte fraktionierte Bestrahlung. Dies bedeutet eine mehrmalige Applikation kleinerer Dosen bei einer insgesamt höheren Maximaldosis von etwa 15Gy. Sinn der Fraktionierung ist die Schonung von gesundem Gewebe, das im Gegensatz zu neoplastischem Gewebe eine hohe Regenerationsfähigkeit aufweist. Um die jedoch beträchtlichen Nebenwirkungen zu minimieren, wird heute in ganzkörperbestrahlungsbasierten Konditionierungsregimen eine Dosis von nur maximal 12Gy, häufig in Kombination mit Cyclophosphamid bevorzugt.

Die chemotherapiebasierten Regime haben sich vor allem in den letzten Jahren positiv etabliert, in denen bestimmte Chemotherapiesubstanzen, wie Busulfan, Melphalan, Thiotepa oder Treosulfan eine antileukämische, myeloablative und immunsuppressive Wirkung erwiesen haben. Die Standardtherapie der chemotherapiebasierten Regime heute ist mit Busulfan, meist in Kombination mit Cyclophosphamid.

Das so genannte intensivierte Regime hat sich bei Patienten mit besonders hohem Rezidivrisiko als positiv erwiesen. Hierbei werden zum Standardregime zusätzlich Substanzen mit antileukämischem Effekt, wie Etoposid oder Cytosin-Arabinosid verabreicht (Zander AR et al. 1997). Eine weitere Möglichkeit der Intensivierung ist die Applikation von radioaktiven Antikörpern, um die Bestrahlungsaktivität im Knochenmark zu steigern (Bunjes D et al. 2001).

Bei älteren oder schwerstkranken Patienten, bei denen ein Standardkonditionierungsregime nicht in Frage kommt, gibt es die Möglichkeit der dosisreduzierten Konditionierung, die sich den Graft-versus-Leukaemia (GvL) Effekt zu Nutze macht (Weiden PL et al. 1979). Hierbei wirkt das aus dem Transplantat entstandene Immunsystem im Empfänger antileukämisch. Auch die Alternative der Immuntherapie zu einem späteren Zeitpunkt mit Spenderlymphozyten unterstützt die Möglichkeit zur dosisreduzierten Konditionierung.

1.2.3 Transplantation

Nach Abschluss der Konditionierung erfolgt die eigentliche Transplantation von Stammzellen. Die hämatopoetische Stammzelle wird auch als CD34 positiv und CD38 negativ beschrieben, da sie mit einem Anteil von 1-2% den Knochenmarkzellen angehören, die das Antigen CD34 tragen, jedoch nicht das Antigen CD38, das die meisten CD 34 positiven Zellen tragen.

Als Stammzellquelle für die Transplantation dienen entweder Knochenmark, aus dem Knochenmark mobilisierte Blutstammzellen, oder aus Nabelschnüren gewonnene Blutstammzellen.

Die klassische Knochenmarkentnahme findet in Vollnarkose statt. Hierbei werden dem Spender etwa eintausend Milliliter Knochenmark aus dem Beckenkamm entnommen und aufbereitet, um sie dann unmittelbar danach dem Empfänger intravenös transfundieren zu können.

Bei der peripheren Blutstammzellspende hingegen ist keine Vollnarkose nötig. Sie ist die heute am häufigsten angewandte Methode in vielen Transplantationszentren geworden. Hierbei wird dem Patienten ein hämatopoetischer Wachstumsfaktor, wie G-CSF oder GM-CSF verabreicht. Diese bewirken eine Mobilisierung von Stammzellen aus dem Knochenmark in das periphere Blut und dadurch einen Anstieg von peripheren Blutstammzellen um das Hundertfache. Am Tag vier bis sechs nach Verabreichung des Wachstumsfaktors ist die maximale Konzentration an Stammzellen im peripheren Blut erreicht (Kröger N. et al. 2004), sodass die Zellen mittels Leukapherese gewonnen werden können. Die Entnahme der Zellen zwischen dem vierten und sechsten Tag nach Stimulation ist obligat, da die Blutstammzellen trotz fortgesetzter Stimulierung wieder rasch abfallen. Die CD34+ Blutleukozytenpräparate, die das eigentliche Transplantat darstellen, werden dann dem Empfänger transfundiert.

Die Tatsache, Stammzellen aus Nabelschnurblut gewinnen zu können, ermöglicht es die Spenderbanken um ein Vielfaches zu erweitern. Hier reicht bereits eine geringe Menge an Blut aus, um eine Transplantation zu ermöglichen.

1.3 Lebererkrankungen im Rahmen der allogenen SZT

Trotz der erheblichen Fortschritte auf dem Gebiet der allogenen SZT, die im Vergleich zu konventionellen, zytotoxischen Therapien erheblich gesteigerte antineoplastische Effekte aufweist, birgt sie auch einige Risiken, die den Erfolg und die Überlebensraten teils relativieren.

Ein Organ, welches in besonderer Weise zum einen durch die initiale Konditionierungstherapie, zum anderen auch durch die im weiteren Verlauf entstehenden immunologischen Probleme gefährdet ist, stellt die Leber dar. In der Akutphase der Transplantation, die sich definiert von Beginn der konditionierenden Radiochemotherapie, über die Phase der ausgeprägten Aplasie, bis hin zur Regeneration um den Tag +14 nach Transplantation, lässt sich in einer größeren Gruppe von Patienten eine relativ stereotype Abfolge hepatischer Dysfunktionen beobachten.

1.3.1 Medikamenteninduzierte Lebertoxizität

Während bzw. unmittelbar nach der konditionierenden Radiochemotherapie kann es toxizitätsbedingt zu Leberfunktionsstörungen kommen. Die Ursachen hierfür sind unter anderem das hochdosierte Cyclophosphamid, das ein Teil der Konditionierungstherapie darstellt, sowie Busulfan. Weitere Medikamente, welche die Leberfunktion beeinträchtigen können, stellen das in der Peritransplantationsphase verabreichte Cyclosporin A sowie Azole dar, die im Rahmen einer Infektionsprophylaxe oder Therapie von Pilzinfektionen eingesetzt werden. Immunsuppressiva weisen ebenfalls hepatotoxische Nebenwirkungen auf.

1.3.2 Venocclusive-disease

Sieben bis vierzehn Tage nach Beginn der Konditionierungstherapie kann es zur sogenannten VOD (Veno-occlusive-disease) kommen, welche mit der häufig beschriebenen SOS (Sinusoidal-obstruction-syndrom) gleichzusetzen ist. Hierbei handelt es sich um Hepatozytenschäden, welche auf thrombotischen Verschlüssen kleinster Lebervenen beruhen. Ihr Ausgang in ihrer schwersten Form (Inzidenz

ca.3%-5%) ist oft letal (Jones RJ et al.1987, Mc Donald GB et al. 1985). Klinisch zeigt sich ein Symptomenkomplex aus Hyperbilirubinämie, Thrombopenie, Hepatomegalie, Leberdruckschmerz, Gewichtszunahme und Aszites. Liegt eine schwere Form der VOD vor, spielen oftmals die portale Hypertension, sowie das hepatorenale Syndrom eine große Rolle. Die zu Grunde liegenden Mechanismen sind Endothelzell-, sowie Hepatozytenschäden durch Zytostatika, welche prokoagulatorische Prozesse in den kleinen hepatischen Venolen bewirken. Eine mögliche Ursache ist die Aktivierung von Kupferzellen mit folgender Zytokinfreisetzung durch Endotoxine. Die Diagnose einer VOD wird meist klinisch gestellt, da eine histologische Sicherung unter bestehender Thrombopenie mit hohem Risiko behaftet wäre. Ein jedoch klinisch relevanter Hinweis auf einen vermehrten Umsatz der Thrombozyten ist das Ausbleiben eines adäquaten Thrombozytenanstieges nach Thrombozytensubstitution. Laborchemisch hat sich die Bestimmung des Plasminogen-Aktivator-Inhibitor (PAI) Wertes als sensitiver Marker der VOD erwiesen. Er dient als Indikator einer Endothelzellschädigung und hat somit einen hohen Stellenwert in der frühen Diagnostik der VOD. Therapie und Prophylaxe der VOD sind Heparine in niedriger Dosierung, sowie Defibrotide, als antikoagulatorische Substanz.

1.3.3 Graft-versus-Host Erkrankung

Bei der Graft-versus-Host Disease (GvHD), welche wörtlich als „Transplantat gegen Wirt Erkrankung“ zu übersetzen ist, handelt es sich um die wohl schwerwiegendste und gefährlichste Komplikation, welche im Rahmen der Transplantation auftreten kann. Trotz deutlicher Fortschritte in Prophylaxe und Therapie der GvHD ist sie nach wie vor mit einer hohen Morbidität und Mortalität behaftet. Grundsätzlich wird zwischen einer akuten und einer chronischen GvHD unterschieden, welche neben der Leber auch Darm und Haut betreffen kann.

Die akute GvHD definiert sich als eine Erkrankung, die sich in der Regel binnen 100 Tagen nach Transplantation manifestiert. Die chronische GvHD, die meist später auftritt, wird im Rahmen dieser Arbeit nicht besprochen.

Pathophysiologisch handelt es sich bei der GvHD um eine Immunreaktion der im Transplantat enthaltenen T-Lymphozyten gegen inkompatible Histokompatibilitätsantigene des Empfängers. Bei diesen Antigenen handelt es sich in der Regel um epitheliale Oberflächenantigene. Klinisch äußert sich die Erkrankung in einem

Symptomenkomplex, bestehend aus Dermatitis, Enteritis und Hepatitis bei der akuten GvHD. Generalisierte Schwäche, welche auch als wasting syndrom bezeichnet wird, wird meist bei der chronischen GvHD beschrieben. Die GvHD beginnt häufig mit einem lokal begrenzten, oft an lichtexponierten Stellen bestehenden makulopapulösen Exanthem, das an Größe und Schweregrad zunimmt. Es folgen rasch progrediente und flüssigkeitsrelevante Diarrhoeen sowie Anzeichen einer Cholestase. Allen Symptomen gemeinsam ist das histologische Bild einer apoptotischen Epithelzellschädigung, welche an den Keratinozyten als auch den Darm- und Gallengangsepithelzellen nachzuweisen ist. Die Epithelzellschädigung ist auf die Einwanderung immunkompetenter T-Lymphozyten und inflammatorischer Zellen des Spendertransplantates zurückzuführen. Es werden jedoch noch weitere Ursachen für das Auftreten einer GvHD verantwortlich gemacht. So geht man heutzutage von dem Konzept des so genannten Zytokinsturms aus, welcher sowohl für die Gewebsschädigung, die Antigenexpression und die Zytokinproduktion als auch für die T-Zellaktivierung verantwortlich gemacht wird.

Da das klinische Bild der GvHD häufig unterschiedlich verläuft und der Schweregrad der Erkrankung sehr variabel ist, bedient man sich auch heute noch der bereits 1974 entstandenen Einteilung nach Glucksberg (Glucksberg et al. 1974). Diese richtet sich nach dem Befall und dem Schweregrad der drei hauptbetroffenen Organsysteme: Haut, Darm und Leber.

Nicht jede GvHD ist therapiebedürftig. Besteht jedoch eine Progredienz oder eine über mehrere Tage anhaltende Symptomatik, ist eine Therapie indiziert. Neben der Basisimmunsuppression mit Cyclosporin A, welche gegebenenfalls erhöht werden sollte, stellt die Primärtherapie der GvHD die Gabe von Methylprednisolon dar. Methylprednisolon zeigt eine antiinflammatorische sowie zytokinproduktionshemmende Wirkung. Seine in T-Lymphozyten Apoptose induzierende Wirkung macht es derzeit zum Mittel der Wahl in der Behandlung einer akuten GvHD.

Als Zweitlinientherapie kommen chemische Immunsuppressiva sowie verschiedene Antikörper zum Einsatz.

Neben diversen anderen, hier nicht aufgeführten, transplantationsbedingten Komplikationen, liegt die Inzidenz für eine VOD nach Angaben größerer Tumorzentren zwischen 10% und 45%, die der akuten GvHD der Leber bei bis zu 70% (Fever A et al.1987). Beide Erkrankungen tragen somit erheblich zur Mortalität

nach einer allogenen Blut - SZT bei. Leider sind sowohl die VOD als auch die GvHD im voll ausgeprägten klinischen Bild eine sehr schwer zu behandelnde Erkrankung.

1.4 Lebertoxische Medikamente im Rahmen der Transplantation

In den folgenden Kapiteln werden sieben hepatotoxische Substanzen beschrieben, die im Rahmen der Konditionierungstherapie oder bei bereits knochenmarktransplantierten Patienten eingesetzt werden.

1.4.1 Busulfan

Busulfan (1,4-Butanediol-diethansulfonat-1,4-bis methylsulfonyloxybutan), auch unter den Handelsnamen Busilvex® oder Myleran® bekannt, ist ein potentes Zytostatikum und zählt zur Gruppe der Alkylantien. 1953 erwie D.A. Dalton erstmalig die Wirksamkeit von Busulfan bei der CML. Knappe 40 Jahre wurde das Medikament als Primärtherapie der CML eingesetzt, bis sich das nebenwirkungsärmere Hydroxyurea als überlegen herausstellte. Gefolgt von Cyclophosphamid findet Busulfan heute seinen Haupteinsatz in der Konditionierungstherapie im Rahmen der allogenen SZT. Sein zytotoxischer Wirkungsmechanismus beruht auf der Übertragung zweier Alkylreste auf körpereigene Desoxyribonukleinsäure (DNS): in wässrigem Milieu hydrolysiert Busulfan unter der Freisetzung zweier Methanolsulfonatgruppen, was wiederum eine Produktion reaktiver Carbonium Ionen zur Folge hat. Diese sind für die Alkylierung der Nukleinsäure verantwortlich. Es resultieren abnorme Basenpaarung und Vernetzungen von DNS und Ribonukleinsäure (RNS). Alkylantien können in jeden Zellzyklus eingreifen, der zytotoxische Effekt jedoch macht sich nur in der Synthesphase der DNS, der Replikation, bemerkbar.

Bei Planung einer Cyclophosphamidbehandlung mit 60mg/kg Körpergewicht, sollte die Busulfantherapie mindestens 24 Stunden zuvor abgeschlossen sein. Hierbei wird eine Dosierung von 0,8mg/kg Körpergewicht Busulfan als zweistündige Infusion im Abstand von sechs Stunden über einen Zeitraum von 4 Tagen empfohlen. Insgesamt werden 16 Dosen vor der Cyclophosphamidtherapie mit anschließender Transplantation empfohlen.

Nach intravenöser Verabreichung von Busulfan steht die Dosis sofort und vollständig zur Verfügung. Im Blut wird es zu 7% reversibel an Plasmaproteine und zu 32% irreversibel vornehmlich an Albumin gebunden.

Der Metabolismus findet hauptsächlich über die Konjugation mit Glutathion statt, teils spontan, teils mittels der Glutathion-S-Transferase. In der Leber wird das Glutathion-Konjugat dann weiter oxidiert. Die dabei entstehenden Metabolite tragen dabei vermutlich in keinem signifikanten Maß zur Wirksamkeit oder Toxizität bei. Die Elimination erfolgt überwiegend renal, ein verschwindend geringer Anteil wird über die Faeces ausgeschieden. Innerhalb von 48 Stunden werden ca. 30% der verabreichten Dosis eliminiert, 1% davon in unveränderter Form.

Ein großer Nachteil der Busulfan Therapie sind seine vielfältigen und zum Teil gravierenden Nebenwirkungen. Die wohl wichtigste und signifikanteste Toxizität zeigt sich im Knochenmark und in der Hämatopoese, was dem angestrebten Wirkmechanismus entspricht. Demzufolge tritt bei allen Patienten eine schwere Anämie, Zytopenie und Thrombozytopenie auf, die sich lediglich in ihren Schweregraden unterscheiden.

Im Rahmen der Panzytopenie treten gehäuft Infektionen auf, die entweder bakterieller, mykotischer oder viraler Genese sein können und vor allem die Atemwege betreffen. Auch das Auftreten einer Lungenfibrose bis einige Jahre nach der Transplantation wird beschrieben.

Eine weitere unerwünschte Wirkung unter Busulfan ist das Auftreten der VOD.

Neben einer nicht immer reversiblen Alopezie wird auch eine erhöhte Krampfbereitschaft beschrieben, weshalb jeder Patient prophylaktisch eine antikonvulsive Behandlung mit Benzodiazepinen erhalten sollte. Weitere Nebenwirkungen sind Karzinogenität, Mutagenität und Embryotoxizität, sowie Amenorrhö und Zeugungsunfähigkeit.

Kontraindikationen für Busulfan sind: Schwangerschaft, Stillzeit und Impfungen mit Lebendimpfstoffen (Fachinfo - Service 2007).

1.4.2 Cyclophosphamid

Cyclophosphamid (N,N-bis(2-Chlorethyl)-1,3,2-oxazaphosphinan-2-amin-2-oxid) ist ein Zytostatikum, das zur Gruppe der Stickstoff-Lost Verbindungen, einer alkylierenden Substanz bzw. der Oxazaphosphorine angehört. Die zytotoxische Wirkung tritt jedoch erst nach seiner Aktivierung in der Leber ein. Der Handelsname lautet Endoxan®. Cyclophosphamid ist sowohl als Injektionslösung intravenös anwendbar als auch in Tablettenform. Die Indikation umfasst ein breites Spektrum sowohl an hämatologischen-, als auch an nichthämatologischen Erkrankungen:

Remissionsinduktion und Konsolidierungstherapie bei der ALL, Remissionsinduktion beim Morbus Hodgkin, Therapie von Non-Hodgkin-Lymphomen sowie der CLL nach Versagen der Standardtherapie, Remissionsinduktion beim Plasmozytom, adjuvante Therapie von Mammakarzinomen nach Tumorresektion bzw. Mastektomie, palliative Therapie des progredienten Mammakarzinoms und des Ovarialkarzinoms, kleinzelliges Bronchialkarzinom, Ewing Sarkom, Neuroblastom, Rhabdomyosarkom des Kindes und das Osteosarkom. Eine weitere wichtige Rolle spielt Cyclophosphamid im Rahmen der Konditionierungstherapie vor allogener KMT. Hier findet es seine Anwendung bei: SAA als Monotherapie oder in Verbindung mit Antithrombozyten-Globulin, der AML, ALL und der CML in Kombination mit Busulfan oder einer Ganzkörperbestrahlung. Die Entscheidung über eine Konditionierungstherapie mit Cyclophosphamid ist jedoch immer individuell zu treffen und von den unterschiedlichsten Faktoren wie Tumorstadium, Art der Erkrankung, Prognose, sowie Zustand und Alter des Patienten abhängig zu machen.

In bestimmten Fällen kommt Cyclophosphamid auch bei der Lupus Nephritis sowie der Wegener-Granulomatose zum Einsatz.

Der zytotoxische Wirkungsmechanismus von Cyclophosphamid beruht auf alkylierenden Metaboliten, die mit der DNS interagieren und dadurch Strangbrüche und Vernetzungen innerhalb der DNS verursachen. Außerdem findet eine Verlangsamung innerhalb der G2 Phase des Zellzyklus statt. Somit ist die zytotoxische Wirkung zellzyklus-, jedoch nicht zellzyklusphasenspezifisch. Außer der zytotoxischen Komponente wird bei Cyclophosphamid auch von einer immunsuppressiven Komponente ausgegangen.

Die Dosierung von Cyclophosphamid ist je nach Art der Grunderkrankung sehr unterschiedlich, liegt aber bei Verabreichung einer Injektionslösung in der Regel zwischen 600 und 1000mg/m² Körperoberfläche (KOF). Im Rahmen verschiedener Konditionierungstherapien vor allogener SZT wird bei der AML, der ALL, sowie der CML eine Dosierung von 60mg/kg KG Cyclophosphamid täglich über zwei Tage in Kombination mit Busulfan oder Ganzkörperbestrahlung empfohlen. Bei der SAA, bei der üblicherweise auf eine Ganzkörperbestrahlung verzichtet wird, sollte die Dosierung 50mg/kg KG intravenös täglich an vier aufeinanderfolgenden Tagen als Monotherapie oder in Kombination mit Anti-Thymozyten-Globulin erfolgen. Cyclophosphamid in Form von Tabletten findet im Rahmen der Konditionierungstherapie keine Anwendung.

Die Blutspiegel sind nach oraler und intravenöser Applikation bioäquivalent.

Nach intravenöser Verabreichung unterliegt Cyclophosphamid kaum einer Proteinbindung. Die Leber ist für die Aktivierung des in vitro inaktiven Cyclophosphamids verantwortlich. Durch Enzyme des Cytochroms P450 Systems wird es zu 4-Hydroxycyclophosphamid aktiviert. Es steht mit seinem tautomeren Aldophosphamid im Gleichgewicht. Dieses wiederum wird teils enzymatisch, teils spontan in aktive und inaktive Metabolite umgewandelt. Diese werden im Plasma bis zu 50% an Plasmaproteine gebunden. Aktive Metabolite sind insbesondere Phosphoramidlost und Acrolein. Das Letztere ist für die urotoxische Nebenwirkung verantwortlich. Die Elimination von Cyclophosphamid und seinen Metaboliten erfolgt überwiegend renal.

Im Rahmen einer hoch dosierten intravenösen Therapie, wie es die Konditionierungstherapie darstellt, werden nur etwa 15% der applizierten Dosis unverändert renal eliminiert. Auch eine Zunahme inaktiver Metabolite wird beobachtet. Diese ist auch für die Sättigung der für die Aktivierung verantwortlichen hepatischen Enzyme verantwortlich. Im Laufe der Hochdosistherapie nimmt die Area under the curve (AUC), die Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve, der Muttersubstanz ab. Dies liegt vermutlich an der Autoinduktion der mikrosomalen Metabolisierungsaktivität.

Im Rahmen der hochdosierten Therapie mit Cyclophosphamid kann es neben Übelkeit, Erbrechen und Haarausfall zu weiteren, teils schwerwiegenden Nebenwirkungen kommen. Die wohl charakteristischste Nebenwirkung ist das Auftreten einer hämorrhagischen Zystitis, bedingt durch die renale Elimination des Metaboliten Acrolein. Ab einer Cyclophosphamiddosis von 400mg/m^2 KOF/Tag ist die prophylaktische Gabe von Mesna (Mercapto-ethansulfonat-Natrium), einer Acrolein-bindenden und damit uroprotektiven Substanz obligat. Eine weitere schwerwiegende Nebenwirkung ist die VOD der Leber. Diese wurde bei 15%-50% der Patienten mit hochdosiertem Cyclophosphamid in Kombination mit Busulfan oder Ganzkörperbestrahlung beobachtet (Fachinfo - Service 2005). Weitere Nebenwirkungen im Rahmen einer Cyclophosphamidtherapie sind Myelosuppression und die daraus resultierenden Gefahren, wie Blutungen und Infektionen, Stomatitiden und weitere Nebenwirkungen im Bereich des Magen-Darm-Traktes, Infertilität, Zweitumoren, Kardiomyopathien, EKG-Veränderungen, metabolische Störungen, Haarausfall und vieles mehr. Die Reduktion Cyclophosphamid induzierter toxischer

Schäden mittels O⁶-Methylguanine-DNS-methyltransferase (MGMT), welches in der Lage ist, Alkylantien verursachte DNS Schäden zu erkennen und zu reparieren, gelang bislang jedoch erst auf zellulärer Ebene. Eine klinische Relevanz konnte bislang nicht nachgewiesen werden (Ryan J. et al. 2007).

1.4.3. Cyclosporin

Cyclosporin (cyclo-L-Alanyl- D-alanyl - N-methyl L-leucyl-N-methyl-L-leucyl-N-methyl-L-valyl-3-hydroxy-N,4-dimethyl-L-2-amino-6-octenoy-1-L-a-amino-butyryl-N-methylglycyl-N-methyl-L-leucyl-L-valyl-N-methyl-L-leucyl), auch als Cyclosporin A oder Sandimmun® bekannt, ist ein aus norwegischen Pilzen namens *Tolypocladium inflatum* gams und *Cylindrocarpon* isoliertes, zyklisches Protein, welches aus elf Aminosäuren besteht. Bereits 1976 wurde seine immunsuppressive Wirkung entdeckt (Borel J.F. et al. 1977) und zählt heute zu den wichtigsten Immunsuppressiva der Transplantationsmedizin.

Cyclosporin A kann sowohl intravenös als auch in Tablettenform verabreicht werden. Seine Anwendungsgebiete findet es im Bereich der Prophylaxe der Transplantatabstoßung nach allogener KMT, allogenen Transplantationen von Niere, Leber, Herz, Lunge und Pankreas, sowie zur Prophylaxe und Therapie der GvHD. Auch zur Erzielung von Remissionen und zur Aufrechterhaltung dieser findet es seine Anwendung. Weitere Indikationen sind die schwere endogene Uveitis, die Psoriasis, sowie das steroidabhängige, oder -resistente nephrotische Syndrom infolge glomerulärer Erkrankungen.

Im Gegensatz zu Kortikosteroiden oder zytotoxischen Substanzen besitzt Cyclosporin A eine rein immunsuppressive Wirkung: durch Blockierung der Zytokinsynthese werden die T-Helferzellen (CD4+) selektiv gehemmt. Als Calcineurin-Inhibitor hemmt Cyclosporin A die Interleukin-2 Produktion und Freisetzung aus T-Helferzellen, was wiederum die Hemmung der Aktivierung der T-Lymphozyten und damit der zellulären Immunantwort zur Folge hat.

Die therapeutische Breite von Cyclosporin A ist sehr gering, sodass therapiebegleitend regelmäßig Spiegelkontrollen im Vollblut erforderlich sind. Die in den meisten Kliniken üblichen Cyclosporin A Spiegel liegen im Bereich von 200-300µg/l.

Im Rahmen der KMT wird die erste Dosis von 12,5mg bis 15mg Cyclosporin A pro kg Körpergewicht am Tag vor der Transplantation verabreicht. Die gleiche Tagesdosis

wird bis fünf Tage nach Transplantation beibehalten, um sie dann für weitere drei bis sechs Monate auf 12,5mg pro Kg Körpergewicht zu reduzieren. Erst dann erfolgen die schrittweise Reduktion und schließlich das Absetzen des Medikaments, welches in der Regel bis zu einem Jahr dauern kann. Erleidet der Patient nach Absetzen des Medikaments eine GvHD, kann erneut mit Cyclosporin A behandelt werden. Eine bereits bestehende GvHD sollte mit einer Tagesdosis von 12,5-15mg Cyclosporin A pro Kg Körpergewicht behandelt werden, die über 50 Tage beibehalten werden sollte, um sie dann wöchentlich um 5% zu reduzieren. Ist schließlich eine Tagesdosis von 2mg pro Kg Körpergewicht erreicht, kann das Medikament abgesetzt werden.

Nach Einnahme von Cyclosporin A wird es größtenteils außerhalb des Blutvolumens verteilt. Je nach Wirkstoffkonzentration ist die Aufnahme innerhalb des Blutes unterschiedlich. So befinden sich etwa 33-47% des Wirkstoffes im Plasma, welcher zu 90% an Lipoproteine gebunden ist, 4-9% in den Lymphozyten, 5-12% in den Granulozyten und der Hauptteil mit 41-58% in den Erythrozyten (Fachinfo - Service 2006). Bei sehr hohen Cyclosporin A Spiegeln findet eine Sättigung durch Leukozyten und Erythrozyten statt.

Die Metabolisierung des Medikaments erfolgt hepatisch über das Cytochrom-P-450 abhängige Monooxygenase - System. Bisher wurden etwa 30 Metabolite nachgewiesen, welche alle die noch intakte Peptidstruktur der Muttersubstanz sowie deren immunsuppressive Wirkung, jedoch in einer sehr abgeschwächten Form enthalten. Die Elimination erfolgt größtenteils biliär. 6% der Ausscheidung geschieht renal. Nur etwa 0,1% werden unverändert über den Urin ausgeschieden.

Die wohl wichtigste Nebenwirkung des Cyclosporins A ist seine Nephrotoxizität. Weitere häufige Nebenwirkungen sind: Hypertonus, Parästhesien in Händen und Füßen, sowie andere neurologische Störungen, gastrointestinale Beschwerden, Stoffwechselstörungen, Hypertrichose, sowie das Auftreten von Infektionen und malignen Tumoren. Ein Organ, welches auf Grund des Metabolisierungsweges in Mitleidenschaft gezogen wird, ist die Leber. Wegen der Gefahr einer Leberinsuffizienz ist auf einen Anstieg von Bilirubin und Leberenzymen mit einer Dosisreduktion von Cyclosporin A zu reagieren. Auch die bereits oben erwähnten Nebenwirkungen sprechen in der Regel auf eine Dosisreduktion gut an.

1.4.4 Tacrolimus

Tacrolimus, auch unter dem Handelsnamen Prograf® oder FK506 bekannt, zählt zur Klasse der Macrolid-Immunsuppressiva. Ähnlich wie Cyclosporin A ist auch dieses Medikament von Pilzen abgeleitet. Im Rahmen dieser Studie kam es nicht zum Einsatz.

Neben dermatologischen Indikationen kommt es vor allem sowohl in der Prophylaxe der Transplantatabstoßung nach Nieren-, Leber- oder Herztransplantationen als auch bei Abstoßungsreaktionen, welche sich gegenüber anderen Immunsuppressiva als therapieresistent erweisen, verbreitet zum Einsatz. Auch im Rahmen der allogenen Stammzelltherapie findet es immer häufiger seine Anwendung. Hier wird es als Immunmodulator zur GvHD Prophylaxe eingesetzt. Obwohl kein wesentlicher Vorteil im Bezug auf die Gesamtüberlebenszeit im Vergleich zur Cyclosporintherapie gefunden werden konnte, konnte in zwei klinischen Phase 3 Studien eine Abnahme der Inzidenz akuter GvHD Grad II-IV unter Tacrolimus plus Methotrexat im Vergleich zu Cyclosporin A plus Methotrexat gezeigt werden. Ein wesentlicher Vorteil von Tacrolimus in Bezug auf eine chronische GVHD konnte jedoch nicht festgestellt werden (Ratanatharathorn V. et al. 1998; Nash R.A. et. al. 2000).

Die Wirkungsweise von Tacrolimus ist ähnlich der des Cyclosporins A: die Bildung zytotoxischer Lymphozyten, die in erster Linie für die Abstoßungsreaktion nach Transplantation verantwortlich sind, wird gehemmt. Durch Tacrolimus werden die Aktivierung der T-Zellen und die durch die T-Helferzellen abhängige Proliferation der B-Zellen unterdrückt. Auch die Expression des Interleukin-2-Rezeptors sowie zahlreicher Lymphokine, wie Interleukin-2 (IL2), Interleukin-3 (IL3) und γ -Interferon (γ IF) werden gehemmt.

Ein Komplex aus FKBP12, einem zytosolischen Protein, und Tacrolimus bindet spezifisch und kompetitiv an Calcineurin und inhibiert dieses. Dies hat eine Hemmung von Signaltransduktionswegen in der T-Zelle zur Folge. Die Transkription bestimmter Lymphokingene kann somit erfolgreich verhindert werden.

Tacrolimus kann sowohl topisch, oral, als auch intravenös verabreicht werden. Bei systemischer Gabe ist die Gabe von Tacrolimus, wie auch die des Cyclosporins A, spiegelabhängig. Der Talspiegel liegt bei etwa 20-30ng/ml.

Die Dosierung von Tacrolimus ist je nach Transplantationsorgan, klinischen Gegebenheiten, Verträglichkeit und Vollblutspiegelbestimmungen von Tacrolimus individuell anzupassen. Generell werden Dosierung im Bereich von 0.075mg/kg

Körpergewicht pro Tag für Herztransplantationen und 0,3mg/kg Körpergewicht pro Tag für Nierentransplantationen empfohlen.

Nach intravenöser Verabreichung bindet Tacrolimus zum größten Teil an Erythrozyten. Im Plasma wird es zu 98% an Plasmaproteine gebunden, welche vor allem Albumin und α -1-saures Glycoprotein sind.

Die Metabolisierung findet zum Großteil über das Cytochrom P450-3A4 in der Leber statt, ein geringerer Teil der Substanz wird in der Darmwand metabolisiert. Die dabei entstehenden Metabolite zeigen keine pharmakologische Wirkung. Lediglich ein Metabolit zeigte in vitro eine dem Tacrolimus vergleichbare, immunsuppressive Wirkung.

Nach fast vollständiger Metabolisierung wird Tacrolimus über die Faeces eliminiert. Nur ein verschwindend geringer Anteil von 2% wird renal ausgeschieden.

Die wohl wichtigste und schwerwiegendste Nebenwirkung bei systemischer Anwendung des Tacrolimus ist seine Nephro- und Neurotoxizität. Veränderungen der hepatischen Laborparameter, Einschränkungen der Leberfunktion, Cholestase, Ikterus, Leberzellschäden sowie ein gehäuftes Auftreten von Lymphomen und anderen malignen Neoplasien zählen zu den Nebenwirkungen von Tacrolimus. Unter der Therapie sind des Weiteren Schwindel, Sehstörungen, Depressionen, Schlaflosigkeit, Verwirrtheit, Bluthochdruck, Krämpfe, Hypomagnesiämie, Diabetes, Appetitlosigkeit und Hyperglykämie beschrieben (Fachinfo - Service 2007)

1.4.5 Azole

Bei den im Rahmen der Studie verwendeten Azolen handelt es sich um Itraconazol (Sempera®), Voriconazol (VFend®), sowie Fluconazol (Diflucan®). Alle drei Antimykotika eignen sich zur systemischen Therapie und gehören zur Gruppe der Triazol - Derivate. Sie dienen zur Behandlung schwerer systemischer Mykosen und haben ein breites antimykotisches Spektrum. Der Wirkmechanismus aller drei Präparate ist fungistatisch. In höheren Dosierungen wird eine fungizide Wirkung beobachtet. Die fungistatische Wirkung beruht auf der Blockade Cytochrom-P450 abhängiger Enzyme, welche die Ergosterolsynthese in der Pilzmembran unterbinden, so die Zellmembran schädigen und das Wachstum des Pilzes unterbinden. Itraconazol wird oral oder intravenös verabreicht. Seine Indikation sind schwere Pilzinfektionen wie Histoplasmose, sowie sämtlicher Systemmykosen, wie Aspergillose, Candidose, Kryptokokkose, als auch die Kryptokokkosen - Meningitis.

Itraconazol wird zu 99,8% an Plasmaproteine gebunden, als Hauptbindungsprotein dient Albumin. Itraconazol wird extensiv hepatisch metabolisiert, wobei mehrere Metaboliten entstehen. Der Hauptmetabolit ist Hydroxy-Itraconazol. Bei wiederholten Dosierungen zeigt sich eine hepatisch bedingte Clearanceabnahme. Itraconazol wird in Form inaktiver Metabolite teils renal, jedoch überwiegend über die Faeces eliminiert. Unter den Triazolen weist Itraconazol insgesamt die geringste Nebenwirkungsrate auf. Beschrieben werden vor allem gastrointestinale Störungen, Ernährungs- und Stoffwechselstörungen wie Hypokaliämien und Hyperglykämien, sowie Störungen des hepato-biliären Systems. Auch die hepatotoxische Komponente fällt bei Itraconazol unter den Triazolen am mildesten aus (Fachinfo – Service 2007). Voriconazol ist ein Breitspektrum Antimykotikum und wird zur Behandlung schwerer Mykosen, wie Fluconazolresistenten Candida-Infektionen, invasiven Aspergillosen, sowie schweren Scedosporium- oder Fusarium - Mykosen eingesetzt. Von den hier verwendeten Azolen ist es das jüngste Azol.

Nach oraler Aufnahme von Voriconazol wird dieses fast vollständig resorbiert und nach etwa zwei Stunden eine maximale Plasmakonzentration erreicht. Die Plasmaproteinbindung beträgt etwa 58%, seine Verteilung im Gewebe ist sehr ausgeprägt. Metabolisiert wird Voriconazol hauptsächlich durch das in der Leber befindliche Cytochrom-P450 Isoenzym CYP2C19. Der Hauptmetabolit ist N-Oxid. Auch die Elimination findet fast ausschließlich über die Leber statt. Nur etwa 2% wird unverändert über den Harn ausgeschieden. Häufige Nebenwirkungen unter der Therapie mit Voriconazol sind: Sehstörungen, gastrointestinale Störungen, Fieber, Hautausschlag, Kopfschmerzen, periphere Ödeme sowie teils erhebliche hepatische Funktionsstörungen (Fachinfo – Service 2007).

Fluconazol zählt ebenfalls zu den so genannten Breitspektrumantimykotika. Die Applikation kann sowohl oral als auch intravenös stattfinden. Wegen seiner guten Penetration ins Gewebe, ins Sputum und in den Liquor findet es vor allem bei der Kryptokokkenmeningitis seinen Einsatz. Weitere Indikationen sind Systemcandidosen und oberflächliche Schleimhautcandidosen. Fluconazol wirkt wie die oben genannten Azole fungistatisch. Es besitzt eine außerordentliche Wirkung auf die Cytochrom-P450 abhängigen Enzyme von Pilzen. Nach oraler Verabreichung wird Fluconazol gut resorbiert. Sein Verteilungsvolumen entspricht dem Gesamtkörperwasser. Seine Plasmaproteinbindung ist sehr gering und beträgt etwa

12%. Die Elimination findet fast ausschließlich über die Niere statt. Im Urin wird die Substanz zu fast 80% unverändert eliminiert.

Fluconazol weist insgesamt eine geringe Nebenwirkungsrate auf. Die am häufigsten auftretenden Nebenwirkungen sind im Bereich des Gastrointestinaltraktes. Hierbei handelt es sich meist um Übelkeit, Erbrechen, Bauchschmerzen, Dyspepsie, Diarrhoe sowie Flatulenz. Weitere Nebenwirkungen sind allergische Reaktionen, Erkrankungen des Haut und Unterhautgewebes, Erkrankungen der Nieren und Harnwege, Herzerkrankungen, Erkrankungen von Blut und Lymphsystem und einige andere. Veränderungen der hepatischen Laborparameter als auch einige schwere Leberfunktionsstörungen unter Fluconazoltherapie lassen eine engmaschige Kontrolle der Leberlaborparameter als sinnvoll erscheinen. Insgesamt handelt es sich bei Fluconazol aber um das am besten verträgliche Azol (Fachinfo – Service 2008).

1.5 Diagnostische Methoden zur Erfassung von Leberdysfunktionen

Um die Funktion der Leber während der Akutphase der Transplantation zu erfassen, werden derzeit neben der täglichen klinischen Untersuchung regelmäßige Laboruntersuchungen als Screeningmethode durchgeführt. Diese umfassen in erster Linie Bilirubin (Bili), Cholestaseparameter, wie alkalische Phosphatase (AP) oder Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT), Cholinesterase (CHE) sowie Transaminasen, wie Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), sowie den Plasminogen-Aktivator-Inhibitors (PAI) und den Quick Wert(Q).

Seit wenigen Jahren steht in der Medizinischen Klinik III ein diagnostisches Verfahren zur Diagnose von Leberdysfunktionen zur Verfügung. Es handelt sich hierbei um ein bettseitiges Erfassen der Indocyanine Green (ICG) - Clearance, welche die hepatische Funktion widerspiegelt. Die intravenöse Applikation mit nachfolgender Bestimmung der Abnahme dieses durch die Leber eliminierten Farbstoffes musste in der Vergangenheit über Blutentnahmen und Messungen des ICG Plasmaspiegels erfolgen und war damit für die Routinediagnostik unpraktikabel. Mit dem LIMON System (Firma Pulsion) steht nun seit 2001 eine Methodik zur Verfügung, mit welcher bettseitig die hepatische Exkretionsleistung des ICG s, gemessen in der Plasmaverschwinderate (PDR), bestimmt werden kann. Dies geschieht mittels eines modifizierten Pulsoxymeters.

Seinen Einsatz findet Limon beispielsweise im Bereich der Intensivmedizin. Hier untersuchten Kimura et al. prospektiv Patienten, welche sich im septischen Schock

befanden. Hierbei stellten sie fest, dass nicht-überlebende Patienten initial und nach 24 Stunden geringere ICG - PDR Werte aufwiesen als überlebende Patienten. Ein fehlender Anstieg der ICG - PDR binnen 120 Stunden bzw. ein weiterer Abfall der ICG - PDR ging mit einer erhöhten Mortalität einher (Kimura S. et al. 2001). Auch in der Leberchirurgie wird LIMON großzügig eingesetzt. So wird es beispielsweise bei Patienten vor Leberresektion zur Evaluation der Leberfunktion, zur Diagnose und Überwachung von Dysfunktionen und Therapien nach Lebertransplantation eingesetzt. Ebenso findet es Anwendung zur Beurteilung der Leberfunktion von Organspendern. Wesslau et al. stellten fest, dass ein ICG - PDR Wert von zumindest 15%/min der Spenderleber für eine erfolgreiche Lebertransplantation erforderlich ist. Spenderleber, welche Werte kleiner 15%/min aufwiesen, gingen mit einem höheren Transplantatversagen einher (Wesslau C. et al. 1994).

2. ZIEL UND FRAGESTELLUNG

Ziel dieser Arbeit war es, zu ermitteln, ob hepatische Dysfunktionen, wie sie im Rahmen einer allogenen SZT auftreten können, mittels des LIMON Systems und der damit berechneten ICG-Clearance detektiert werden können, vielleicht sogar früher, als es mit den derzeit klinischen Standarduntersuchungen möglich ist. Diese umfassen die klinische Untersuchung, Laborwertverläufe oder auch die Biopsie der Leber. Ebenfalls sollte untersucht werden, ob etwaige Veränderungen der ICG-Clearance zeitgleich mit Veränderungen hepatischer Laborparameter, wie Bili, AP, GGT, GOT, GPT, CHE, Q auftreten oder diesen vorausgehen.

Folgendes wurde im Rahmen dieser Dissertationsarbeit untersucht:

1. Quantifizierung hepatotoxischer Medikamente
2. Bestimmung der ICG-Clearance im Rahmen einer allogenen SZT und seine praktische Bedeutung
3. Qualitative Relation der ICG-Clearance Werte, im Sinne einer Verminderung, zu nach Standarddiagnostik detektierten hepatischen Dysfunktionen
4. Zeitliche Relation von Veränderungen der ICG-Clearance zu Änderungen von Laborparametern, wie Bili, AP, GGT, GOT, GPT und Q. Sind die Veränderungen zeitgleich, oder gehen sie ihnen voraus?

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 KMT - Einheiten

Seit 1979 werden in der Medizinischen Abteilung III des Klinikums Großhadern Knochenmarktransplantationen durchgeführt. Das Klinikum gehört mit seinen jährlich zwischen 80 und 100 durchgeführten Knochenmarktransplantationen zu den größten Transplantationszentren Deutschlands.

Die Knochenmarktransplantationen werden auf zwei aneinandergrenzenden Stationen, M21 und L21, durchgeführt. Insgesamt verfügen die Stationen über 24 Einzelzimmer.

Beide Stationen sind mit einer so genannten Umkehrisolation ausgestattet, wodurch das Einschleppen von externen Krankheitserregern, insbesondere von Viren und Pilzsporen vermieden werden soll. Zum Schutz der Patienten ist es Kindern unter 14 Jahren und Personen mit potentiell ansteckenden Erkrankungen untersagt, die Stationen aufzusuchen. Die Stationen werden über eine Schleuse betreten, in der die Straßenkleidung abgelegt und eine von der Klinik zur Verfügung gestellte, saubere Kleidung, angelegt wird. Vor den jeweiligen Patientenzimmern befinden sich ebenfalls Schleusen, in denen sowohl das Personal als auch Besucher zunächst eine hygienische Händedesinfektion vornehmen, um dann eine komplette Schutzkleidung, bestehend aus Mundschutz, Haube, Kittel und Einmal-Handschuhen, anzulegen.

Die Patientenzimmer sind mit keimfreier, gefilterter Luft im Überdruck belüftet und verfügen über ein Bad mit Toilette. Um auch dort möglichst Keimfreiheit gewährleisten zu können, sind alle Wasserhähne mit einem speziellen Filter versehen. Fenster in den Patientenzimmern und auf Station müssen stets verschlossen bleiben.

Jede Station besteht aus je 30 speziell ausgebildeten Pflegekräften sowie einem internistischen Ärzteteam.

3.2 Biometrische Daten der Patientengruppe

Die vorliegenden Untersuchungen wurden prospektiv an 21 Patienten durchgeführt. In die Studie eingeschlossen wurden ausschließlich Patienten, welche sich vor einer allogenen KM-, bzw. SZT - Therapie befanden. Weitere Einschlusskriterien waren eine negative Anamnese an hepatischen Erkrankungen und Schwangerschaft, sowie

unauffällige Laborwerte sämtlicher Leberlaborparameter. Eine schriftliche Einwilligung der Patienten wurde vorausgesetzt.

Das mediane Alter der Patienten betrug 42 Jahre, mit einem Mindestalter von 20 Jahren und einem Höchstalter von 65 Jahren. 67% der Patienten waren männlich, 33% der Patienten waren weiblich. Die zu transplantierenden Erkrankungen verteilten sich wie folgt: 10 Patienten wiesen eine AML, 4 Patienten eine ALL, 3 Patienten eine CML, 2 Patienten ein Myelodysplastisches Syndrom (MDS), 1 Patient ein Myelom und 1 Patient eine SAA auf. 16 der Patienten hatten einen HLA - identischen Spender, 4 Patienten einen HLA - haploidentischen Spender, 1 Patient einen HLA - differenten Spender.

3.3 Limon-System

Limon ist ein nicht-invasives Gerät, welches über einen am Patienten angebrachten Fingerclip die Elimination des intravenös injizierten Indocyaningrüns (ICG) aus dem Blutkreislauf misst. Da ICG rein hepatisch eliminiert wird, handelt es sich hierbei um ein Monitoring der Leberfunktion, welche in Form der Plasmaverschwinderate (PDR) angegeben wird.

3.3.1 Indocyaningrün

ICG, ein Tricarboyanin, ist ein fluoreszierender Farbstoff, welcher in der Medizin als Diagnostikum dient. Sein Absorptions- und Fluoreszenzspektrum weist es im nah-infraroten Bereich auf, welches im Blut bei einer Wellenlänge von etwa 805 nm liegt. In Wasser und Methanol liegt das Absorptionsmaximum bei 780nm, an Albumin gebunden etwa bei 800nm.

Seit mehr als 40 Jahren macht man sich die fluoreszierenden Eigenschaften in der Medizin zu Nutze. So findet es seine Anwendung in Diagnostik von Leber-, Herz-, Kreislauf- und Augenerkrankungen.

Nach zentralintravenöser Injektion bindet ICG rasch und vollständig an Proteine. Diese sind überwiegend α 1Lipoproteine (Baker KG 1966) und Albumin (Cherrick GR et al.1960). Eliminiert wird der Farbstoff praktisch ausschließlich über die Leber. Die Aufnahme in die Leber ist ein aktiver Prozess, welcher von der sinusoidalen Perfusion, dem Membrantransport und der sekretorischen Kapazität der Leber abhängt. In die Leberparenchymzelle aufgenommen, wird ICG an Y und Z Proteine gebunden, um dann unkonjugiert in die Galle eliminiert zu werden. Eine

Metabolisierung findet dabei nicht statt (Leevy CM et al.1979). Bereits 15 Minuten nach zentralintravenöser Injektion ist ICG in der Galle nachweisbar. Das Konzentrationsmaximum in der Gallenflüssigkeit wird - je nach Dosierung - ein halbe bis zwei Stunden nach Verabreichung erreicht. Im Darm wird ICG nicht rückresorbiert und unterliegt somit auch keinem entero-hepatischen Kreislauf.

Nebenwirkungen von ICG sind insgesamt als gering einzuschätzen. Anaphylaktische Reaktionen, Übelkeit, Erbrechen, Unruhe, Juckreiz und Urtikaria sind selten beschrieben. Eine Jodallergie sollte aufgrund des Natriumjodids, welches die Zubereitung enthält, vor Verabreichung ausgeschlossen werden. Des Weiteren darf ICG nicht mit salzhaltigen Lösungen, wie Kochsalz, Ringerlösung und Ähnlichem verdünnt werden, da es sonst zu Ausfällungen des Farbstoffes kommen kann.

3.3.2 Aufbau und Zubehör

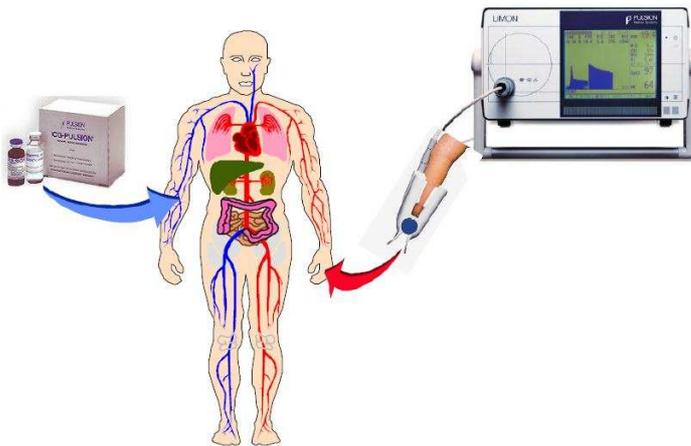


Abb. 3.3.2.1: Schematische Darstellung des LIMON- Messsystems: Limon Monitor, Sensor und ICG-Pulsion der Firma Pulsion Medical Systems AG, München

- Limon Monitor (ICG-Pulsion, Medical Systems AG, München, PC5000)
- Adapterkabel (ICG-Pulsion, Medical Systems AG, München, PC50201)
- Wiederverwendbarer Sensor (ICG-Pulsion Medical Systems, München, PC50150)
- Netzkabel für 230V/50Hz (ICG-Pulsion Medical Systems, München, 401090F)
- Potentialausgleichskabel (ICG- Pulsion Medical Systems, München, 408010)
- Thermodrucker Papier Rolle (ICG-Pulsion Medical Systems, München, PV6005)
- Gebrauchsanweisung und Produktinformation (ICG-Pulsion Medical Systems, München, PC50600)
- Kurzgebrauchsanweisung (ICG-Pulsion Medical Systems, München, PC50601)
- LIMON Therapeutische Checkliste und Normalwerttabelle (ICG-Pulsion Medical Systems, München, PC50602)

3.4 Studiendesign

Während der Studie erfolgte die regelmäßige Beurteilung der Leberfunktion von 21 Patienten nach den aktuellen Standards der beiden KMT Stationen. Diese umfassten eine tägliche klinische Untersuchung, die tägliche Erhebung der Laborparameter von Bili (Referenzbereich: <1 mg/dl), der AP (Referenzbereich <135 U/l), der GGT (Referenzbereich: <55 U/l), der GOT (Referenzbereich: <40U/l), der GPT (Referenzbereich: <45U/l) sowie des Quickwertes (Referenzbereich: 70-130%).

Die Bestimmung des PAI (Referenzbereich: 4-43 ng/ml), als auch der Cholinesterase (CHE, Referenzbereich: 2,8-8,5 kU/l) fanden einmal pro Woche statt. Weitere Laborparameter stellten die Bestimmung der Cyclosporin A Spiegel dar, die jeweils in eine TDX-, sowie in die sogenannte SYVA- Messung unterteilt wurden. Cyclosporin A TDX ist die polyspezifische Bestimmung sowohl der Muttersubstanz, als auch der hepatotoxischen Metabolite des Cyclosporins A. SYVA steht für die monospezifische Bestimmung der vor allem immunsuppressiven Muttersubstanz des Cyclosporins A ohne deren Metabolite. Die immunsuppressive Wirkung der Metabolite ist gering.

Um das typische Zeitfenster für hepatische Dysfunktionen zu erfassen, wurde ab dem ersten Tag der Konditionierung, um den Tag -12 vor der Transplantation, bis Tag +23 nach KMT täglich die ICG PDR (Referenzbereich: 18-25%/min), sowie der ICG Anteil bei 15 Minuten, der sogenannten R15 (Referenzbereich: 0-10%), durch das LIMON System (Pulsion, Medical Systems, München) bestimmt.

3.5 Prinzip der Pulsoxy- und der Pulsdensitometrie

Die Pulsdensitometrie basiert auf der 1972 von Takuo Aoyagi entwickelten Technologie der Pulsoxymetrie.

Die Pulsoxymetrie ist ein über einen Fingerclip funktionierendes spektrophotometrisches Verfahren zur Ermittlung der prozentualen Sauerstoffsättigung des Hämoglobins und des Pulses. Die Sauerstoffsättigung ergibt sich aus der Streuung und Absorption bzw. der daraus resultierenden Transmission von Strahlung in optischem- und nah-infrarotem Bereich durch das Hämoglobin. Das spektrophotometrische Verfahren basiert auf dem Lambert-Beer-Gesetz:

$$E_{\lambda} = -\lg\left(\frac{I_1}{I_0}\right) = \epsilon_{\lambda} \cdot c \cdot d$$

Das Lambert-Beer-Gesetz setzt sich zusammen aus dem Bouguer-Lambertschen Gesetz, welches die Schwächung der Strahlungsintensität mit der Weglänge beim Durchgang durch eine absorbierende Substanz beschreibt, und dem Beerschen

Gesetz, welches den Zusammenhang der Intensitätsschwächung mit der Konzentration der absorbierenden Substanz beschreibt. Das Gesetz bildet die Grundlage der heutigen diagnostischen Photometrie.

Bei der Pulsoxymetrie nimmt man fälschlicherweise an, dass das Hämoglobin ausschließlich aus oxygeniertem und desoxygeniertem Hämoglobin besteht. Seine restlichen Anteile, wie Met-, Oxy-, und Carboxyhämoglobin werden dabei nicht berücksichtigt.

An dem patientenseits angebrachten Fingerclip befinden sich auf der einen Seite zwei Lichtquellen, welche Wellenlängen von 660nm im roten Bereich und 940nm im infrarotem Spektralbereich emittieren. Auf der anderen Seite befindet sich ein Photosensor, welcher die emittierten Lichtquellen nach Durchdringen des Gewebes erfasst. Da oxygeniertes und desoxygeniertes Hämoglobin bei den oben genannten Wellenlängen unterschiedliche Extinktionskoeffizienten aufweisen, kann hieraus der prozentuale Anteil der Sauerstoffsättigung errechnet werden.

Aufgrund des Pulses, welcher aus der diastolischen und der systolischen Phase besteht, ergeben sich unterschiedliche Absorptionen der Wellenlängen. In der diastolischen Phase absorbieren die nichtpulsatilen Anteile des Gefäßbettes, welche aus nichtvaskulärem Gewebe, kapillärem und venösem Blut bestehen, wohingegen in der systolischen Phase zusätzlich arterielles Blut absorbiert. In der diastolischen bzw. nichtpulsatilen Phase wird die Lichtabsorption bei beiden Wellenlängen gemessen und durch die Lichtabsorption in der systolischen bzw. pulsatilen Phase dividiert. Es ergibt sich schließlich ein Absorptionsverhältnis, welches gegen den am Patienten gemessenen Sauerstoffsättigungswert im Gerät kalibriert und gespeichert wird.

Das Prinzip der Pulsdensitometrie ist analog dem der Pulsoxymetrie. Auch hier werden nicht-pulsatile und pulsatile Komponenten berücksichtigt und die Absorptionsverhältnisse bei den entsprechenden Wellenlängen berechnet. Im Unterschied zur Pulsoxymetrie arbeitet die Technologie der Pulsdensitometrie mit Wellenlängen von 805nm für ICG und von 905nm im nahen Infrarotbereich, als Referenzbereich (Landsman ML et al. 1972). Die abnehmende Konzentration von ICG, welche am Monitor zu verfolgen ist (s. Abb. 3.6.1), errechnet sich nach folgender Formel:

$$C_{ICG} = \frac{\text{pulsatil}_{905nm}}{\text{nicht pulsatil}_{905nm}} \times \frac{\text{nichtpulsatil}_{805nm}}{\text{pulsatil}_{805nm}}$$

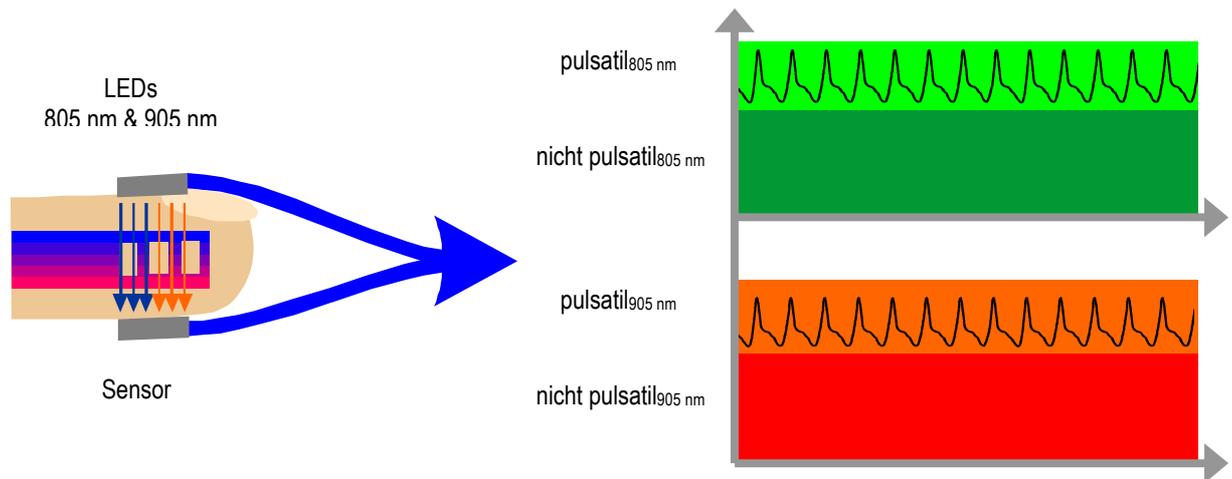


Abb. 3.5.1: Schematische Darstellung der Pulsdensitometrie

3.6 Messung der PDR_{ICG} und $R15_{ICG}$

Verwendet wurde der diagnostische Farbstoff ICG-Pulsion in einer Ampullengröße von 25mg und von 50mg (Pulsion Medical Systems AG, München, PICG0025DE/PICG0050DE), sowie das Limon Gerät der Firma Pulsion Medical Systems, München.

Das Limon Gerät wurde bettseitig platziert und das täglich erfasste Körpergewicht in das Gerät eingegeben. Anschließend wurde an dem Patienten ein pulsdensitometrisch messender Sensor angebracht. Der Sensor wurde lichtgeschützt entweder an einen Finger oder am Ohrläppchen platziert. Über ein Kabel stand der Sensor mit dem Limon Monitor in Kontakt. Bei stabilem Signal wurde der Messvorgang gestartet und dem Patienten nach Ablauf eines Countdowns 0,5 mg/kg KG ICG nach vorheriger Verdünnung mit 5ml (25mg/Ampulle) bzw. 10ml (50mg/Ampulle) Aqua ad injectabile als Bolus mittels einer 10ml Einmalspritze (Firma Becton Dickinson S.A.) zentralvenös injiziert. Die Konzentration belief sich bei jedem Patienten auf 5mg/ml. Am Limon Monitor konnte nun der Kurvenverlauf der ICG Pulsion Konzentration verfolgt werden.

Der Kurvenverlauf der ICG-Pulsion Konzentration (C_{ICG}) wurde gegen die Zeit durch einen exponentiellen Abfall, gemäß $C_{ICG}(t) = C_0 \cdot e^{-PDR \cdot t}$ dargestellt. Nach maximal 10 Minuten, am Ende der Messung, wurde die ICG Rückextrapolation als PDR auf dem Limon Monitor angegeben. Diese berechnet sich wie folgt: $PDR (\%/min) = \ln 2 / t_{1/2} \times 100$. Normwerte werden hier vom Hersteller (Pulsion, Medical Systems, München) zwischen 18% und 25%/min angegeben. Ein weiterer Wert, welcher sich aus der gleichen Messung ergibt, stellt die ICG Retentionsrate nach 15 Minuten dar ($R15$),

welche sich aus $R15 = C_{ICG15min} / C_{ICG t=0} \times 100$ zusammensetzt. Hier liegen die Normwerte laut Hersteller zwischen 0% und 10 %.

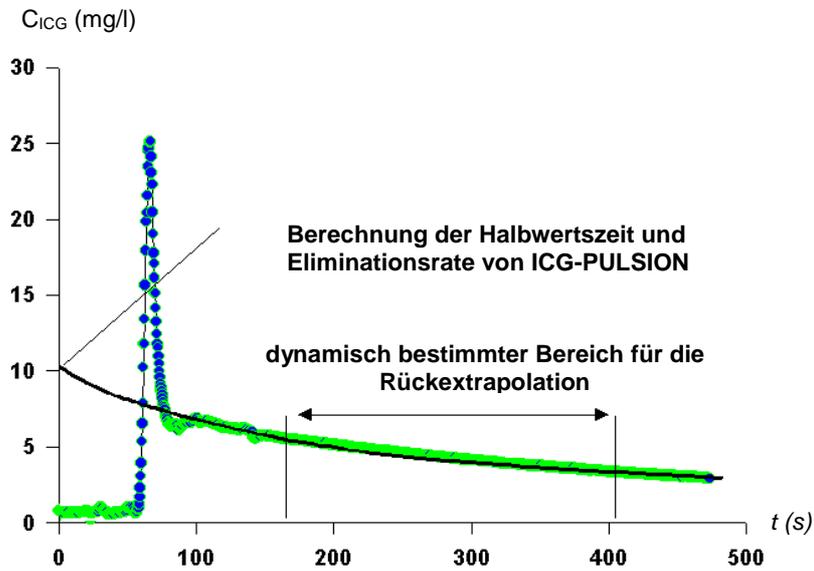


Abb. 3.6.1: Graphische Darstellung des C_{ICG} Verlaufes gegen die Zeit. Wobei die y- Achse die Konzentration von ICG in mg/l angibt. Die x Achse stellt den zeitlichen Verlauf in Sekunden dar.

3.7 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Computerprogrammes SAS Release 8 (DEC/Linux). SAS ist ein Softwarepaket zur statistischen Datenverwaltung und -analyse der Firma SAS.

In der Statistik wurden die R15 ICG Werte mit herkömmlichen Leberwerten korreliert. Ferner wurde überprüft, wie hoch die den aktuellen Leberwerten 1 oder 2 Tage vorausgehenden ICG Werte (Variablen R15_1 usw.) mit den Leberwerten korrelieren.

Bei der Berechnung wurde wie folgt vorgegangen:

1. Für jeden Patienten wurden Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten ρ berechnet.
2. Nach z-Transformation derselben konnte für jedes individuelle ρ approximativ ein Standardfehler angegeben werden.
3. Die z-transformierten Werte wurden mit Hilfe eines Random-Effects-Modells gepoolt, wobei die Werte mit den Kehrwerten ihrer quadrierten Standardfehler gewichtet wurden (DerSimonian-Laird-Schätzer).
4. Für den gepoolten Schätzer wurden die Grenzen des 95%-Konfidenzintervalls berechnet.
5. Die gepoolten Werte wurden rücktransformiert, so dass das Ergebnis wieder als Korrelationskoeffizient zu interpretieren ist. Das 95%-KI ist ein Vertrauensbereich, in dem der wahre Korrelationskoeffizient mit 95% Sicherheit erwartet werden darf.

Zur Interpretation:

1. ρ ist eine Zahl zwischen -1 und +1. Bei -1 läge eine streng monoton fallende funktionale Beziehung zwischen den Variablen vor, bei +1 eine streng monoton steigende. Ein Wert von 0 hieße, dass keine (monotone) Beziehung vorliegt.
2. Enthält das 95%-KI den Wert 0 nicht, so ist der wahre Wert von ρ mit 95% Sicherheit von 0 verschieden.

4. ERGEBNISSE

4.1 Anteil hepatotoxischer Medikamente im Verlauf

Um die Relevanz toxisch-bedingter Leberschäden im Rahmen der KMT quantifizieren zu können, erfolgte eine Dokumentation über 6 ausgewählte lebertoxische Medikamente, die im Zuge der Therapie verabreicht wurden. Dabei handelte es sich um Endoxan, Busulfan, Cyclosporin A, Voriconazol, Fluconazol und Itraconazol.

Nun wurde der Prozentsatz aller dieser Patienten dokumentiert, welche die entsprechenden Medikamente an dem entsprechenden Tag, gemessen von Tag -12 bis Tag +23 erhalten haben.

Endoxan zeigte sein Maximum an Tag -4 vor Transplantation, an dem 85% der Patienten dieses Medikament erhielten. Bis Tag -6 und ab Tag -1 wurde kein weiterer Einsatz von Endoxan verzeichnet.

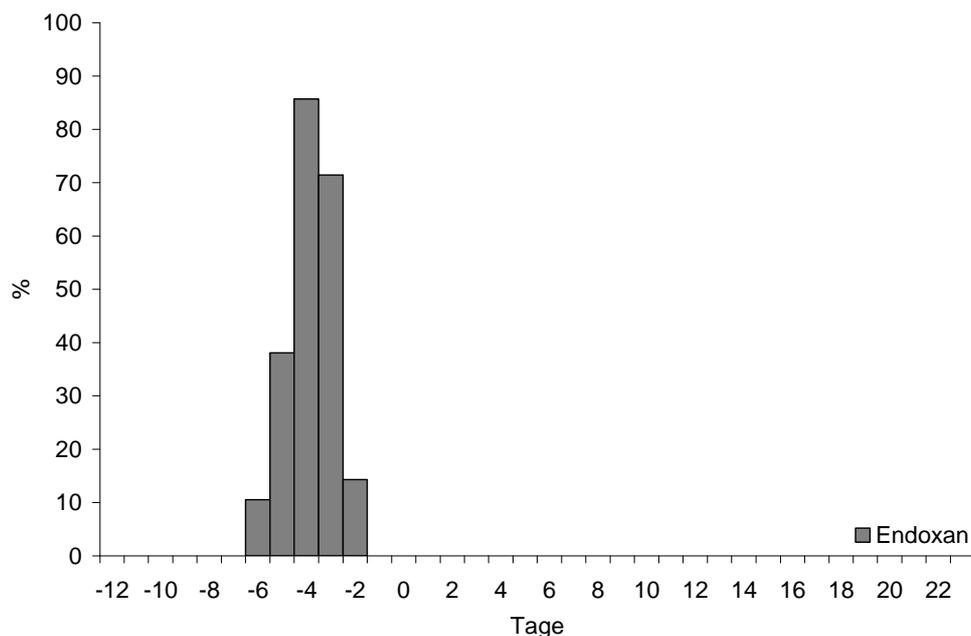


Abb. 4.1.1: Prozentuale Darstellung des im Rahmen der Therapie verabreichten, lebertoxischen Medikamentes Endoxan, gemessen an 21 Patienten zwischen Tag -12 und Tag +23.

Busulfan fand seinen Haupteinsatz an Tag -5, weitere Verabreichungen fanden nur an Tag -6 und -4 statt. Busulfan wurde insgesamt etwas seltener eingesetzt als Endoxan. So erhielten an Tag -5 maximal 19% Patienten Busulfan.

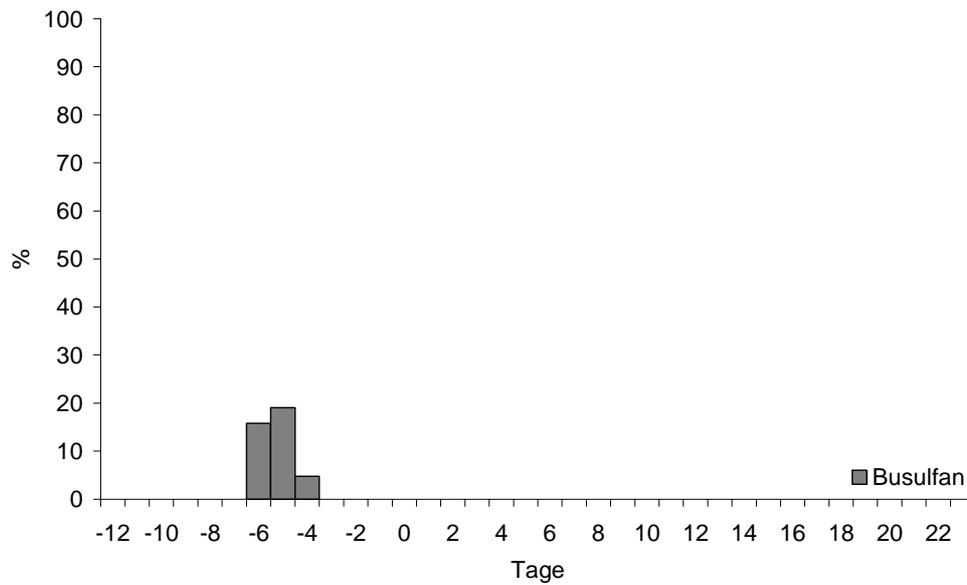


Abb. 4.1.2: Prozentuale Darstellung des im Rahmen der Therapie verabreichten, lebertoxischen Medikamentes Busulfan, gemessen an 21 Patienten zwischen Tag -12 und Tag +23.

Bis zu 95% der Patienten erhielten Cyclosporin A. An Tag -1 konnte ein Maximum von 95% beobachtet werden. Insgesamt wurde Cyclosporin A bei über 90% der Patienten von Tag -1 bis Tag +16 eingesetzt. Erst dann wurde ein Abfall auf 80% bis Tag +23 verzeichnet.

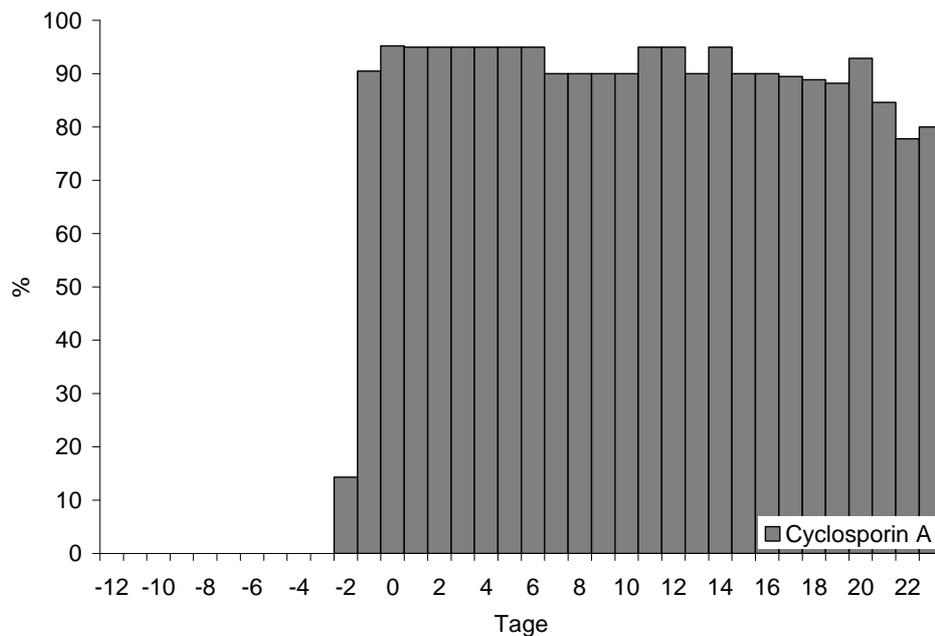


Abb. 4.1.3: Prozentuale Darstellung des im Rahmen der Therapie verabreichten, lebertoxischen Medikamentes Cyclosporin A, gemessen an 21 Patienten zwischen Tag -12 und Tag +23.

Von den 3 in der Studie dokumentierten Azolen wurde Voriconazol am häufigsten verwendet. 18% der Patienten erhielten am Tag -12 vor Transplantation Voriconazol. Es zeigte sich ein Rückgang des Einsatzes von Voriconazol bis Tag -3, der ab Tag -2 wieder stetig ansteigt. Die häufigsten Applikationen von Voriconazol fanden am Tag +23 statt. Hier wurden insgesamt 60% der Patienten mit diesem Medikament therapiert.

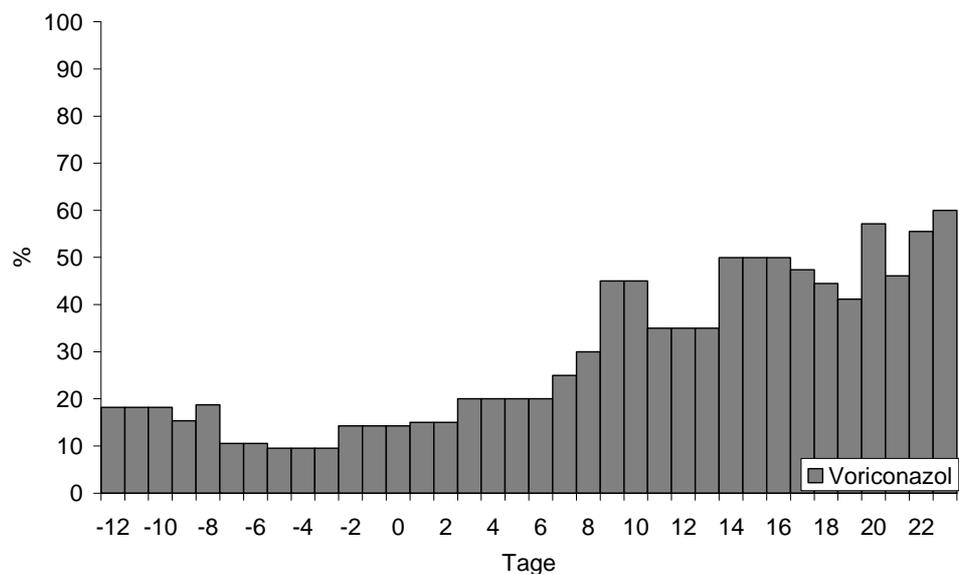


Abb. 4.1.4: Prozentuale Darstellung des im Rahmen der Therapie verabreichten, lebertoxischen Medikamentes Voriconazol, gemessen an 21 Patienten zwischen Tag -12 und Tag +23.

4-15% aller Patienten erhielten zwischen Tag -12 und +8, sowie an Tag +17 und +18 das Medikament Fluconazol. Von Tag +9 bis Tag +16, sowie +19 bis Tag +23 erhielt keiner der 21 Patienten Fluconazol.

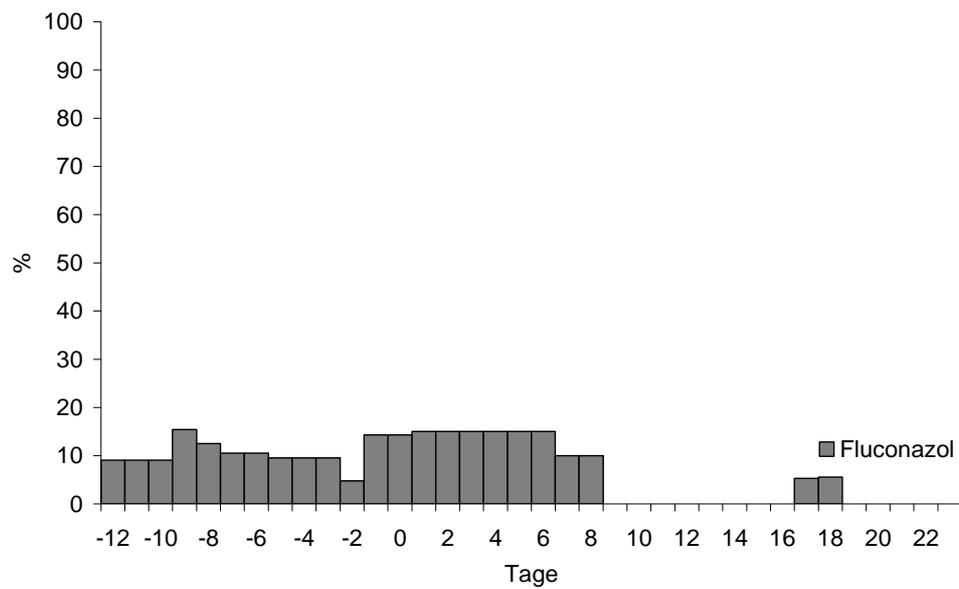


Abb. 4.1.5: Prozentuale Darstellung des im Rahmen der Therapie verabreichten, lebertoxischen Medikamentes Fluconazol, gemessen an 21 Patienten zwischen Tag -12 und Tag +23.

Auch Itraconazol kam bereits ab Tag -12 zum Einsatz. Lediglich an Tag -4 bis Tag -1 vor Transplantation und Tag +22 und +23 fanden keine Applikationen von Itraconazol statt. Seinen größten Einsatz fand Itraconazol um den Tag -10. Hier erhielten 18% aller Patienten das Medikament.

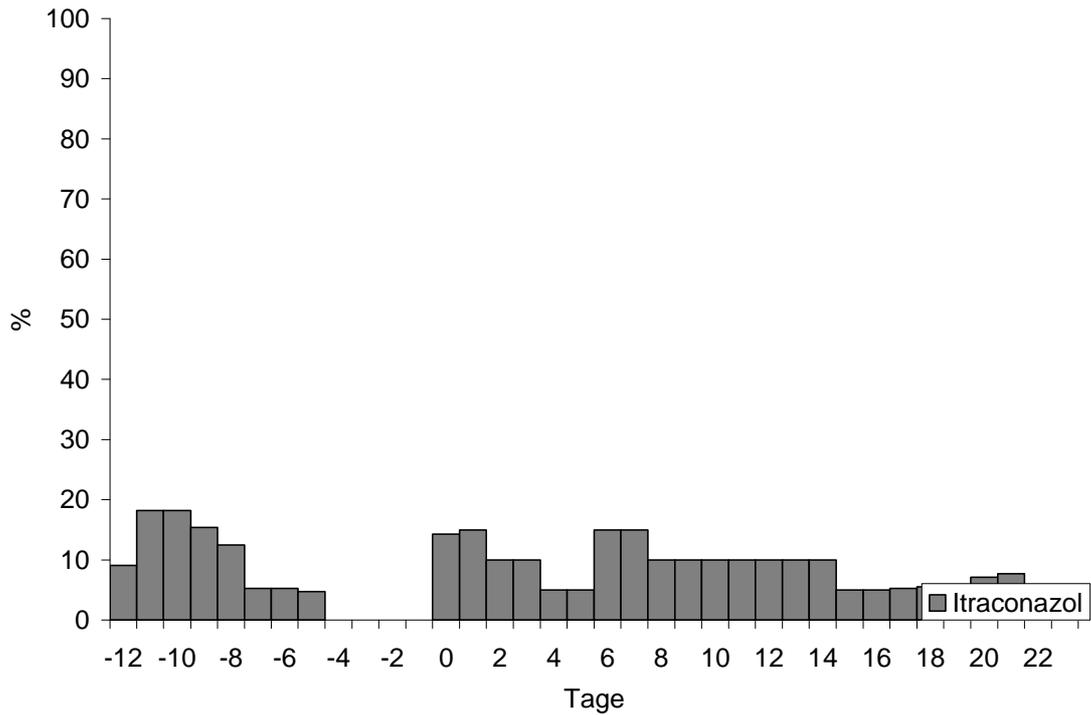


Abb. 4.1.6: Prozentuale Darstellung des im Rahmen der Therapie verabreichten, lebertoxischen Medikamentes Itraconazol, gemessen an 21 Patienten zwischen Tag -12 und Tag +23.

Wie in der folgenden Abbildung zu sehen ist, wurden bis zu 60% der Patienten mit mehr als einem hepatotoxischen Medikament zum gleichen Zeitpunkt therapiert. Bis Tag -6 erfolgte kein Nachweis von der zeitgleichen Anwendung von mehr als einem lebertoxischen Medikament.

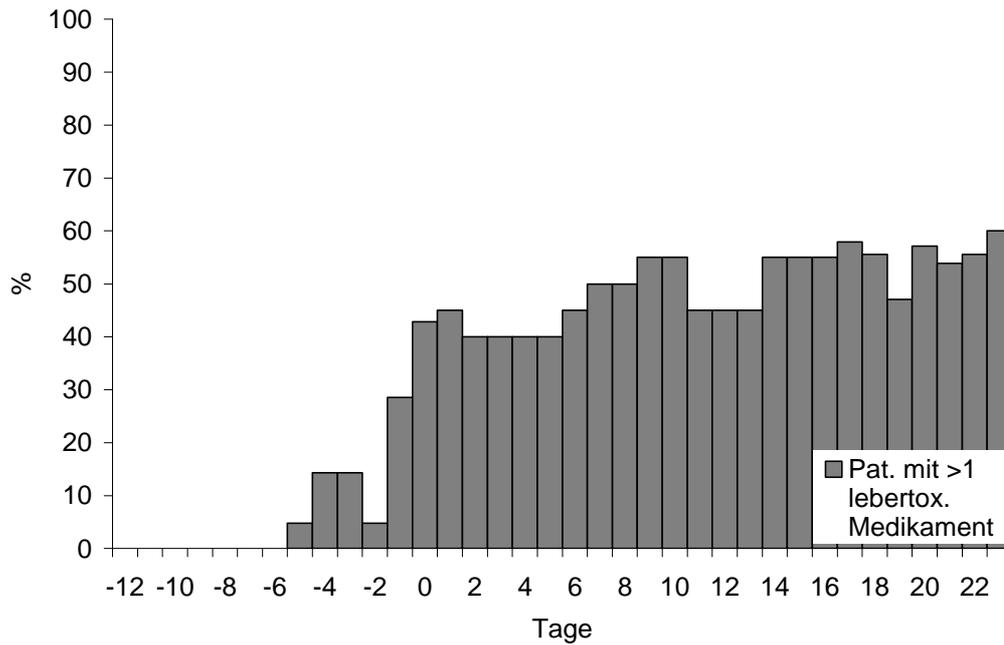


Abb. 4.1.7: Prozentuale Darstellung der Verabreichung von mehr als einem lebertoxischen Medikament am selben Tag, gemessen an 21 Patienten zwischen Tag -12 und Tag +23

Die Verabreichung von mehr als zwei hepatotoxischen Medikamenten zum gleichen Zeitpunkt konnte nur in 5% der Fälle nachgewiesen werden. Diese beschränkten sich auf Tag +3, +6 und +14 nach Transplantation. Eine gleichzeitige Gabe von mehr als drei hepatotoxischen Medikamenten zum gleichen Zeitpunkt konnte im Rahmen dieser Studie nicht nachgewiesen werden.

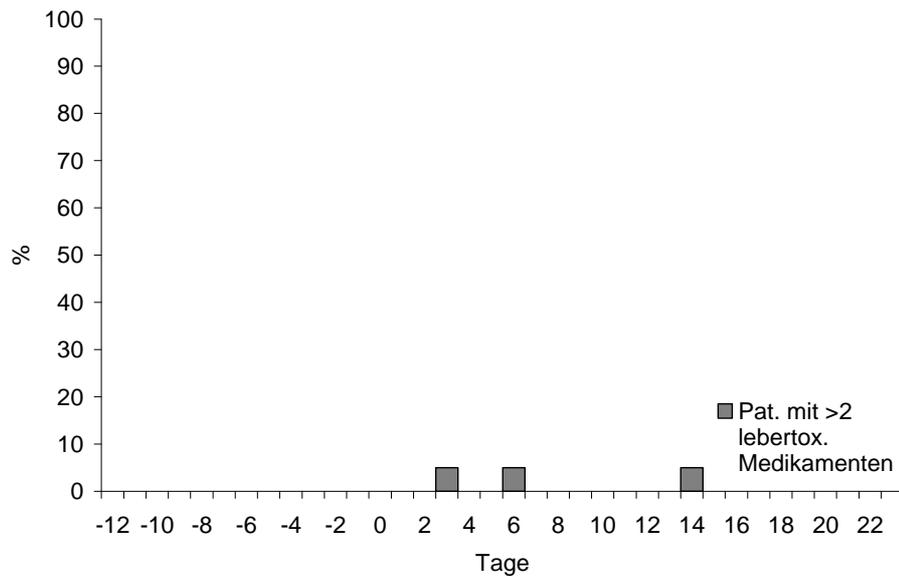


Abb. 4.1.8: Prozentuale Darstellung der Verabreichung von mehr als 2 lebertoxischen Medikamenten am selben Tag, gemessen an 21 Patienten zwischen Tag -12 und Tag +23

4.2 Laborparameter im Verlauf

Während der gesamten Studienlaufzeit wurde die Leberfunktion aller Patienten anhand sämtlicher Laborparameter gemessen, überwacht und dokumentiert. Folgende Laborparameter wurden im Verlauf festgehalten: Bilirubin, Quick, GOT, GPT, GGT, AP, CHE, PAI, sowie die Clearance des Cyclosporin A TDX und des Cyclosporin A SYVA.

Im Folgenden werden die Medianwerte der gemessenen Laborparameter, welche sich für die täglichen Laborparameter Messungen aller 21 Patienten ergaben, von Tag -12 bis Tag +23 nach Transplantation dargestellt.

Der Verlauf des Bilirubins stellte sich zeldachförmig dar. Sein Maximum von 2,1mg/dl konnte an Tag +1 verzeichnet werden. Bis Tag +23 konnte ein nahezu linearer Abfall des Bilirubins verzeichnet werden.

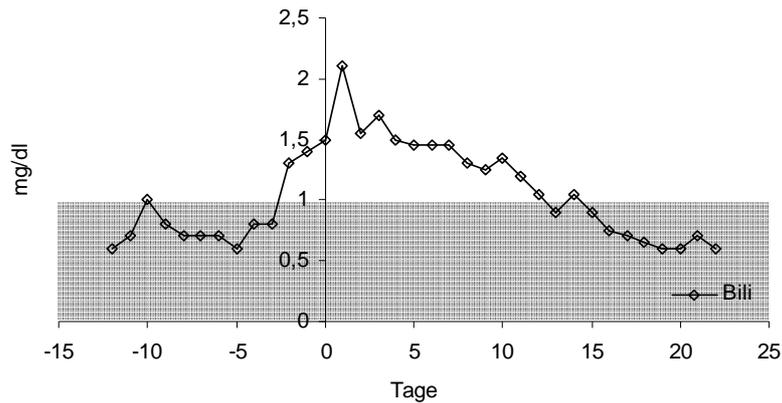


Abb. 4.2.1: Darstellung des Bilirubinverlaufes in mg/dl, gemessen über die Zeit, ab Tag -12 vor Transplantation (Tag 0) bis Tag +23 nach Transplantation. Die Datenpunkte repräsentieren dabei den Median, welcher sich aus den Bilirubinwerten aller gemessenen Patienten für den jeweiligen Tag ergibt. Der Graubereich entspricht dem Normalbereich.

Die Messungen des Quick Wertes ergaben eine geringe Schwankungsbreite zwischen einem Minimalwert von 75% an Tag -2 und einem Maximalwert von 90% an Tag 0.

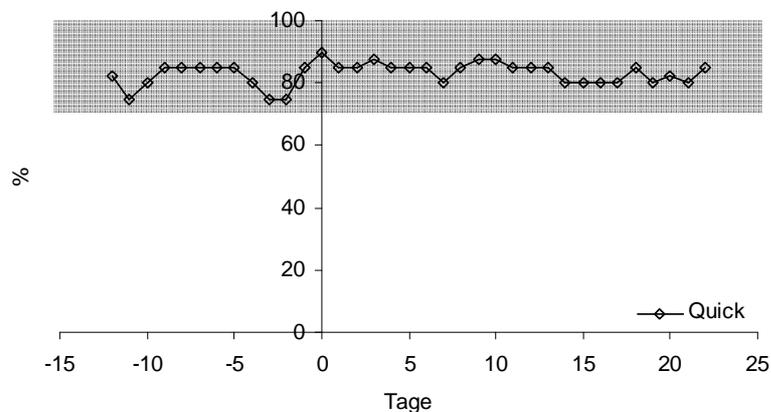


Abb. 4.2.2: Darstellung des Quickverlaufes in %, gemessen über die Zeit, ab Tag -12 vor Transplantation (Tag 0) bis Tag +23 nach Transplantation. Die Datenpunkte repräsentieren dabei den Median, welcher sich aus den Quick-Werten aller gemessenen Patienten für den jeweiligen Tag ergibt. Der Graubereich entspricht dem Normalbereich.

Im Verlauf der GOT wurden während der Konditionierungstherapie ab Tag -13 bis Tag -3 bereits leicht erhöhte Werte festgestellt. Ein kurzzeitiger Abfall auf 14 U/l zeigte sich an Tag -1. Es folgte ein diskreter Anstieg der GOT ab Tag +3 bis Tag +17, der dann ab Tag +18 abrupt durch gewaltige Schwankungen mit einem

Maximum an Tag +22 unterbrochen wurde. Die Schwankungen sind durch eingeschränkte Messungen von lediglich sieben Patienten an Tag 22 zu erklären.

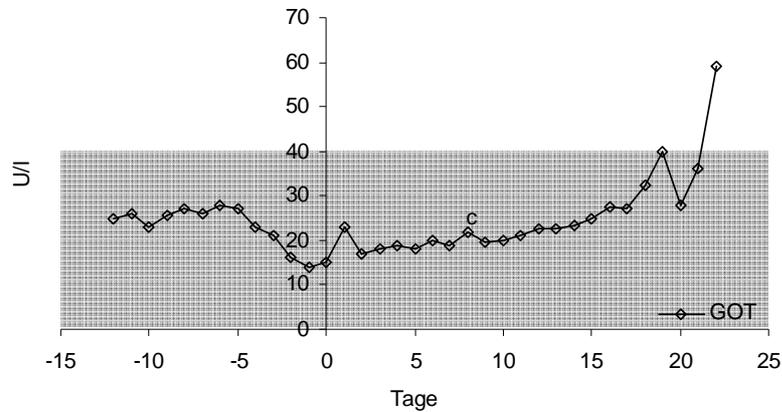


Abb. 4.2.3: Darstellung des Glutamat-Oxalacetat-Transaminaseverlaufes (GOT) in U/l, gemessen über die Zeit, ab Tag -12 vor Transplantation (Tag 0) bis Tag +22 nach Transplantation. Die Datenpunkte repräsentieren dabei den Median, welcher sich aus den GOT- Werten aller gemessenen Patienten für den jeweiligen Tag ergibt. Der Graubereich entspricht dem Normalbereich.

Ein ähnlicher Verlauf zeigte sich auch bei der Darstellung der GPT. Fast gleich bleibende Werte um den Wert 30U/l konnten von Tag -12 bis Tag +14 erfasst werden. Auch hier fand sich das Maximum mit 203U/l an Tag +22. Die Messungen waren auch an diesem Tag nur an sieben Patienten möglich.

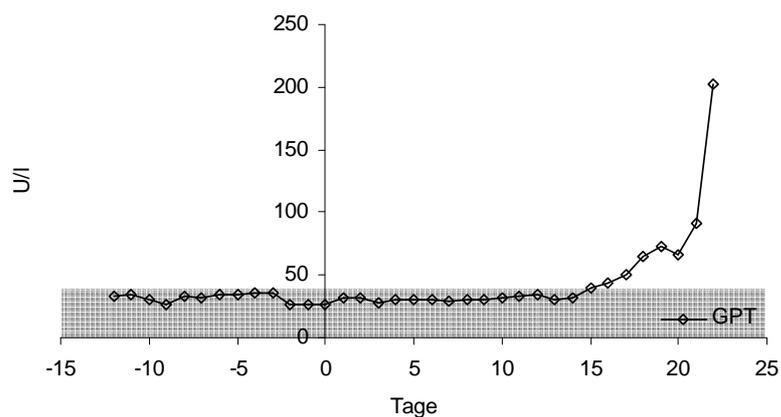


Abb. 4.2.4: Darstellung des Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) Verlaufes in U/l gemessen über die Zeit, ab Tag -12 vor Transplantation (Tag 0) bis Tag +22 nach Transplantation. Die Datenpunkte repräsentieren dabei den Median, welcher sich aus den GPT- Werten aller gemessenen Patienten für den jeweiligen Tag ergibt. Der Graubereich entspricht dem Normalbereich.

Starke Schwankungen ergaben sich hingegen im Verlauf der GGT. Die niedrigsten Werte um den Wert 20U/l fanden sich vor Transplantation. Wenige Tage nach der Transplantation konnte ein rapider Anstieg der GGT beobachtet werden, der sein Maximum am 3. Tag nach Transplantation bei 131U/l fand. Es folgte ein kontinuierlicher Abfall der GGT Werte bis auf einen Wert von 70,5 U/l an Tag +14.

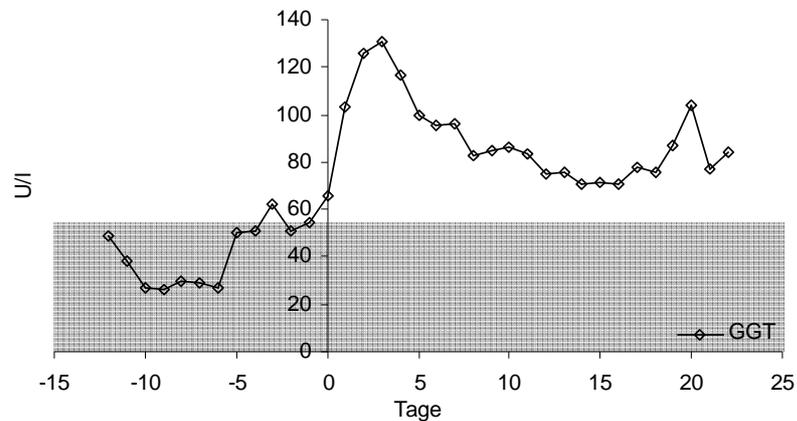


Abb. 4.2.5: Darstellung des Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) Verlaufes in U/l, gemessen über die Zeit, ab Tag -12 vor Transplantation (Tag 0) bis Tag +23 nach Transplantation. Die Datenpunkte repräsentieren dabei den Median, welcher sich aus den GGT- Werten aller gemessenen Patienten für den jeweiligen Tag ergibt. Der Graubereich entspricht dem Normalbereich.

Bei den Messungen der Alkalischen Phosphatase zeigte sich ein biphasischer Verlauf. Zunächst konnte ein mehr oder minder kontinuierlicher Abfall der Laborwerte bis Tag 0, dem Tag der Transplantation verzeichnet werden. Im gleichen Maße des Abfalls konnte nun ein Anstieg der AP ab Tag 0 dokumentiert werden.

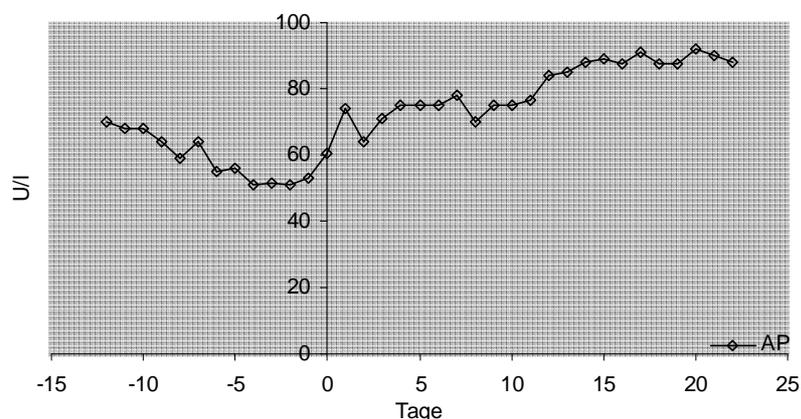


Abb. 4.2.6: Darstellung des Alkalische Phosphatase (AP) Verlaufes in U/l, gemessen über die Zeit, ab Tag -12 vor Transplantation (Tag 0) bis Tag +23 nach Transplantation. Die Datenpunkte repräsentieren dabei den Median, welcher sich aus den AP-Werten aller gemessenen Patienten für den jeweiligen Tag ergibt. Der Graubereich entspricht dem Normalbereich.

Die folgende Abbildung stellt den Cholinesteraseverlauf über die Zeit dar. Die Messung der CHE fand bei jedem Patienten ca. einmal pro Woche zu unterschiedlichen Zeitpunkten statt. Einzelne Punkte repräsentieren Medianwerte, welche sich teils nur aus wenigen Patientenwerten ergeben. So beispielsweise an Tag -7 und Tag -5, an denen nur von zwei Patienten CHE Bestimmungen stattfanden. Zu sehen ist daher ein stark variierender Verlauf, der ein Minimum an Tag -3 und ein Maximum an Tag -7 zeigte. Zu berücksichtigen ist die Enzymhemmung, wie sie beispielsweise durch Cyclophosphamid induziert werden kann. Die Hemmung der CHE kann hierbei bis zu 100% betragen (Fiedler G.M. et al. 2004)

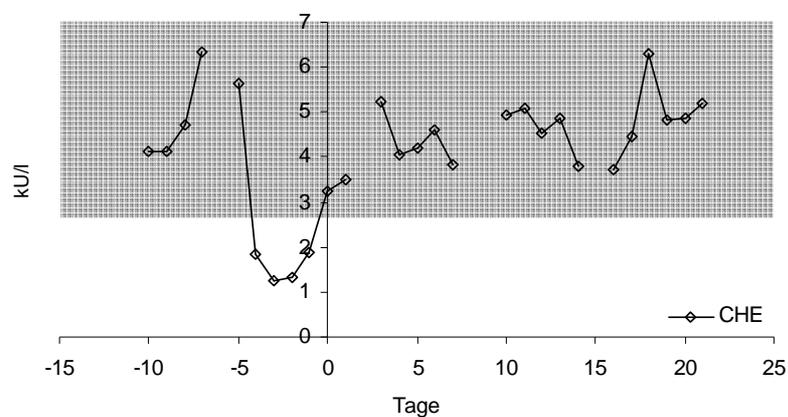


Abb.4.2.7: Darstellung des Cholinesterase (CHE) Verlaufes über die Zeit, gemessen ab Tag -12 vor Transplantation (Tag 0) bis Tag +23 nach Transplantation. Die Datenpunkte repräsentieren dabei den Median, welcher sich aus den CHE-Werten aller gemessenen Patienten für den jeweiligen Tag ergibt. Der Graubereich entspricht dem Normalbereich.

In der nächsten Abbildung folgt die Darstellung des intermittierend gemessenen PAI. Auch hier fanden die Messungen der Patienten einmal pro Woche statt. Bei einem sonst eher niedrig gehaltenen PAI zeigen sich zwei Ausschläge an Tag +16 und Tag +22. Auch hier repräsentieren die einzelnen Werte Medianwerte, welche sich aus nur wenigen Einzelmessungen zusammensetzen.

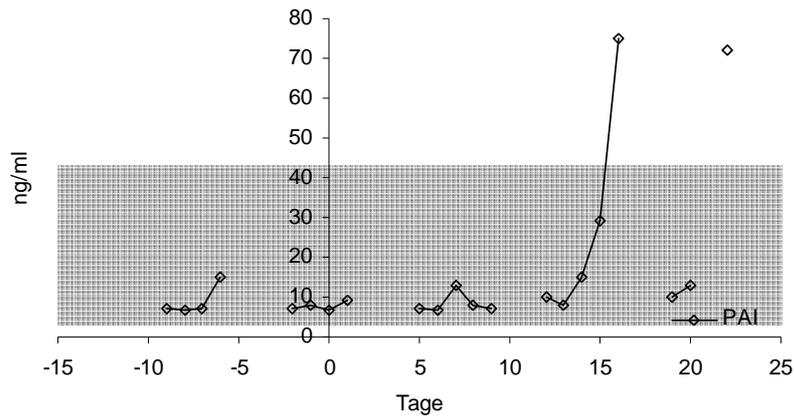


Abb. 4.2.8: Darstellung des Plasminogen-Aktivator-Inhibitor Verlaufes in ng/ml, gemessen über die Zeit, ab Tag -12 vor Transplantation (Tag 0) bis Tag +23 nach Transplantation. Die Datenpunkte repräsentieren dabei den Median, welcher sich aus den PAI - Werten aller gemessenen Patienten für den jeweiligen Tag ergibt. Der Graubereich entspricht dem Normalbereich.

Folgend ist die Cyclosporin A TDX Clearance im Verlauf dargestellt. Es zeigt sich zunächst eine hohe Clearance an Tag -1 vor Transplantation, mit einem Maximalwert von 7,75 ml/min/kg KG. Zu diesem Zeitpunkt wurden jedoch lediglich zwei CyA TDX Clearances erfasst. Ab dem Tag der Transplantation ist ein abnehmendes Niveau der Clearance zwischen 5 und 2 ml/min/kg KG zu sehen

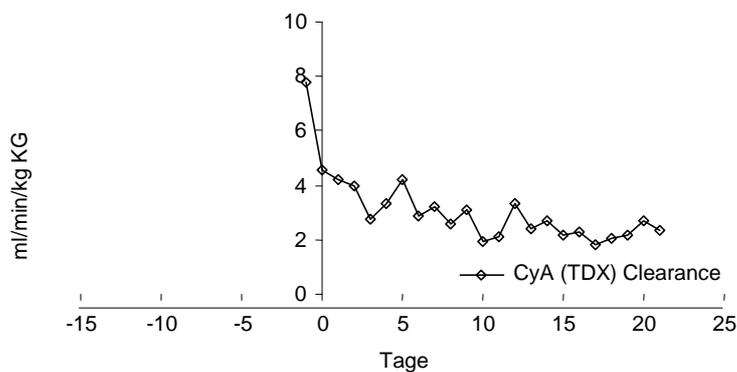


Abb. 4.2.9: Darstellung des Cyclosporin A (TDX) Clearance Verlaufes in l/min/kg KG, gemessen über die Zeit, ab Tag -2 vor Transplantation (Tag 0) bis Tag +23 nach Transplantation. Die Datenpunkte repräsentieren dabei den Median, welcher sich aus den Cyclosporin A (TDX) Werten aller gemessenen Patienten für den jeweiligen Tag ergibt.

Entsprechend der Cyclosporin A TDX Clearance Bestimmung zeigt sich bei der Cyclosporin A SYVA Clearance Bestimmung ein Maximum an Tag -1 vor

Transplantation, das sich an den Tagen nach Transplantation auf ein Niveau zwischen 9 und 4 ml/min/kg KG einpendelt.

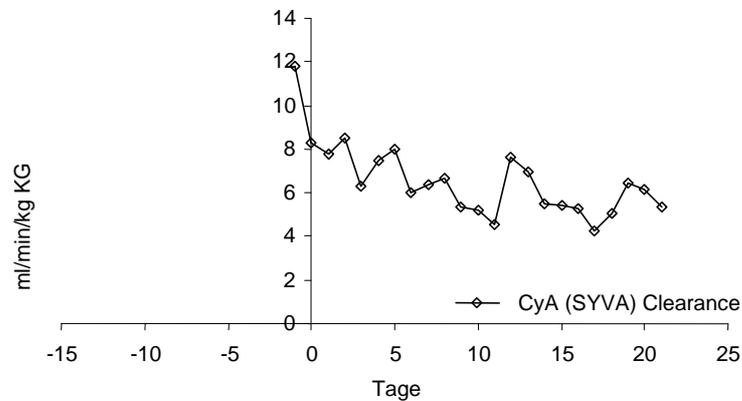


Abb. 4.2.10: Darstellung des CyA (SYVA) Clearance Verlaufes in l/min/kg/KG, gemessen über die Zeit, ab Tag -2 vor Transplantation (Tag 0) bis Tag +23 nach Transplantation. Die Datenpunkte repräsentieren dabei den Median, welcher sich aus den Cyclosporin A (SYVA) Werten aller gemessenen Patienten für den jeweiligen Tag ergibt.

4.3 Limon - Messwerte im Verlauf

Im Folgenden ist die ICG PDR in %/min, sowie die ICG R15 in % gegen die Zeit dargestellt.

Die ICG PDR zeigt an den Tagen vor Transplantation eine im höheren Bereich gelegene PDR, die dann, ab dem Tag der Transplantation, abnimmt. Die Folgetage nach Transplantation zeigen eine PDR zwischen 20% und 30%. Ein Maximum, wie es an Tag -2 vor Transplantation zu verzeichnen ist, wird im Verlauf nicht mehr beobachtet.

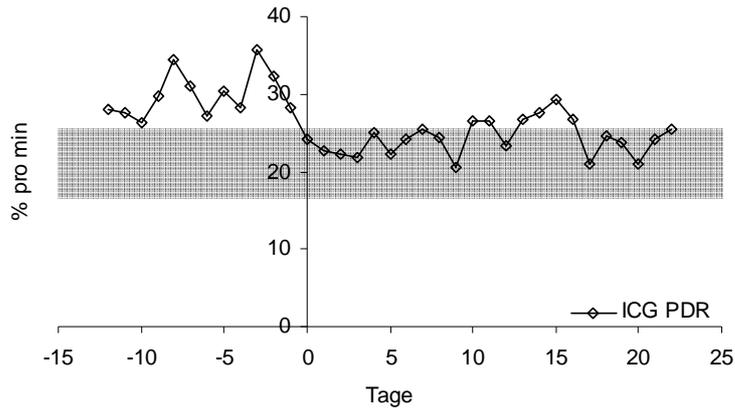


Abb. 4.3.1: Darstellung des ICG PDR Verlaufes in % pro Minute, gemessen über die Zeit, ab Tag -12 vor Transplantation (Tag 0) bis Tag +23 nach Transplantation. Die Datenpunkte repräsentieren dabei den Median, welcher sich aus den ICG PDR - Werten aller gemessenen Patienten für den jeweiligen Tag ergibt. Der Graubereich entspricht dem Normalbereich.

Eine große Schwankungsbreite ergaben die Messungen der Retentionsrate des ICG s nach 15 Minuten (R15). Zu sehen sind Retentionsraten vor Transplantation im Bereich von 0,5% und 2,7% sowie deutlich höhere Retentionsraten nach Transplantation im Bereich von 1,2% und 4,8%.

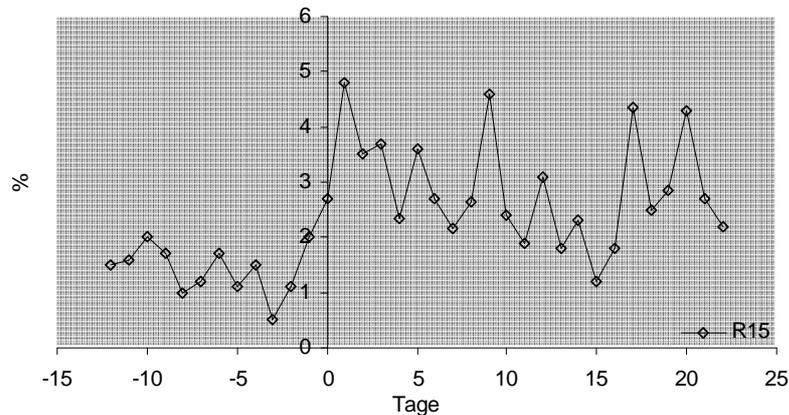


Abb. 4.3.2: Darstellung des Verlaufes der Retentionsrate nach 15 Minuten (R15) in %, gemessen über die Zeit (Tage), ab Tag -12 vor Transplantation (Tag 0) bis Tag +23 nach Transplantation. Die Datenpunkte repräsentieren dabei den Median, welcher sich aus den R15 Werten aller gemessenen Patienten für den jeweiligen Tag ergibt. Der Graubereich entspricht dem Normalbereich.

4.4 Korrelation der Limon - Messwerte mit Laborparametern

Im Folgenden sind Tabellen und Graphiken zu sehen, die eine Korrelation zwischen R15 Werten, gemessen an unterschiedlichen Tagen, und den herkömmlichen hepatischen Laborparametern darstellen.

Bei der Variablen 1 (Var1) handelt es sich um den mittels dem LIMON Messverfahren ermittelten R15 Wert, welcher die Retentionsrate des ICG s nach 15 Minuten in % angibt. Variable 2 (Var2) besteht aus mehreren unterschiedlichen hepatischen Laborparametern mit den jeweiligen Standardeinheiten. Variable 1 und Variable 2 wurden am gleichen Tag ermittelt und dokumentiert. Spearman-Rho ist der jeweilige Korrelationskoeffizient, der aus den beiden Variablen ermittelt werden konnte, KI das Koinfidenzintervall mit der jeweiligen Untergrenze (UG) und seiner Obergrenze (OG).

Eine signifikante Korrelation ergibt sich zwischen R15 und dem am gleichen Tag ermittelten Bilirubinwert. Hierbei ist eine Korrelation von 0,33 zu erkennen. Ebenfalls signifikant, jedoch weniger stark korrelierend, zeigen sich die GGT und die AP, welche ebenfalls am gleichen Tag, wie das R15 gemessen wurden. Eine Korrelation kann hier bei 0,24 für GGT und 0,15 für AP angegeben werden.

Tabelle 4.1: Nicht lineare Korrelation der Variablen 1 (Var1), R15 mit der Variablen 2 (Var2), verschiedener Laborparameter. Var1 wurde am gleichen Tag wie Var2 gemessen. Spearman Rho ist der Korrelationskoeffizient, KI das Koinfidenzintervall mit der jeweiligen Unter- (UG) und Obergrenze (OG). Die verschiedenen Graustufen stellen die am besten korrelierenden Variablen dar, wobei die dunkelgrauen Variablen die höchste Korrelation, die mittel bzw. hellgrau unterlegten Variablen, die zweit- bzw. drittgrößte Korrelation aufweisen.

Var 1	Var 2	Spearman-Rho (gepoolt)	95%-KI (UG)	95%-KI (OG)
R15	AP	0.15376	0.02099	0.28120
R15	Bili	0.33104	0.16857	0.47600
R15	CHE	-0.00944	-0.32399	0.30699
R15	GGT	0.24492	0.10672	0.37383
R15	GOT	-0.11510	-0.27441	0.05036
R15	GPT	-0.10744	-0.29505	0.08814
R15	Quick	-0.02235	-0.18558	0.14209
R15	CyA (SYVA) ngml	.	.	.
R15	CyA (TDX) ngml	.	.	.
R15	SYVA AUC mg/ml/min	0.23440	-0.06022	0.49145
R15	SYVA Clearance ml/min	-0.03321	-0.19192	0.12719
R15	SYVA Clearance ml/min/kg	-0.04807	-0.20622	0.11252
R15	TDX AUC mg/ml/min	0.31953	0.17246	0.45266
R15	TDX Clearance ml/min	-0.12017	-0.37598	0.15266
R15	TDX Clearance ml/min/kg	-0.10841	-0.35266	0.14966

Folgend sind die drei mit der R15 am stärksten korrelierenden Laborparameter graphisch dargestellt. Die Darstellung erfolgte zur besseren Darstellung logarithmisch, wobei jeder einzelne Punkt einer Laborparameterbestimmung des jeweilig an der x-Achse aufgeführten Laborparameters entspricht. Mit in die Graphik einbezogen wurden hierbei alle über die Gesamtzeit dokumentierten Laborparametererhebungen von Bilirubin, GGT und AP aller Patienten.

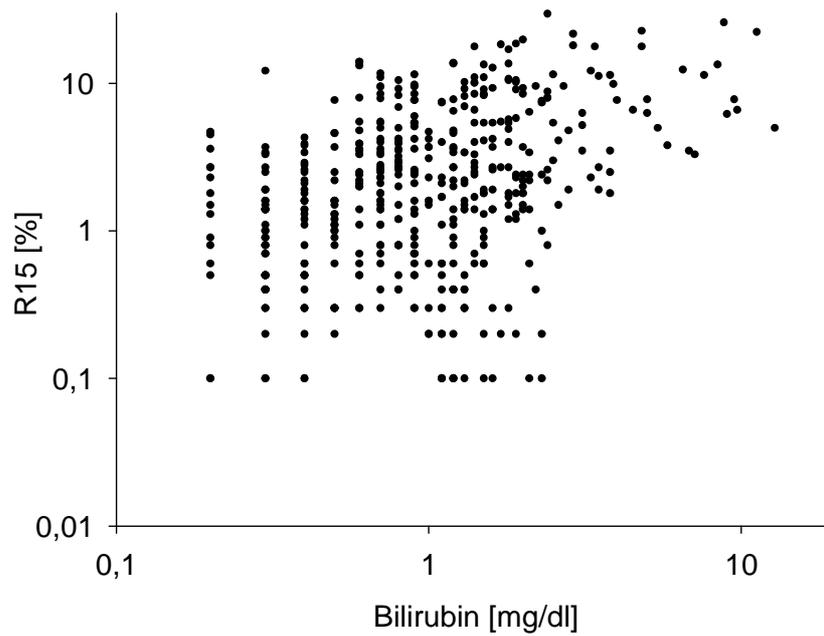


Abb. 4.4.1: Punktgraphik: logarithmische Darstellung der Korrelation der R15 [%] mit dem Bilirubin [mg/dl]. Die Messung der R15, sowie des Bilirubins fanden am selben Tag statt. Jeder Punkt repräsentiert eine Bilirubinmessung. Die Bilirubinmessungen ergeben sich aus der einzelnen Laborparameterbestimmungen aller 21 Patienten über die Zeit der Transplantationstherapie (Tag -12 bis Tag +23).

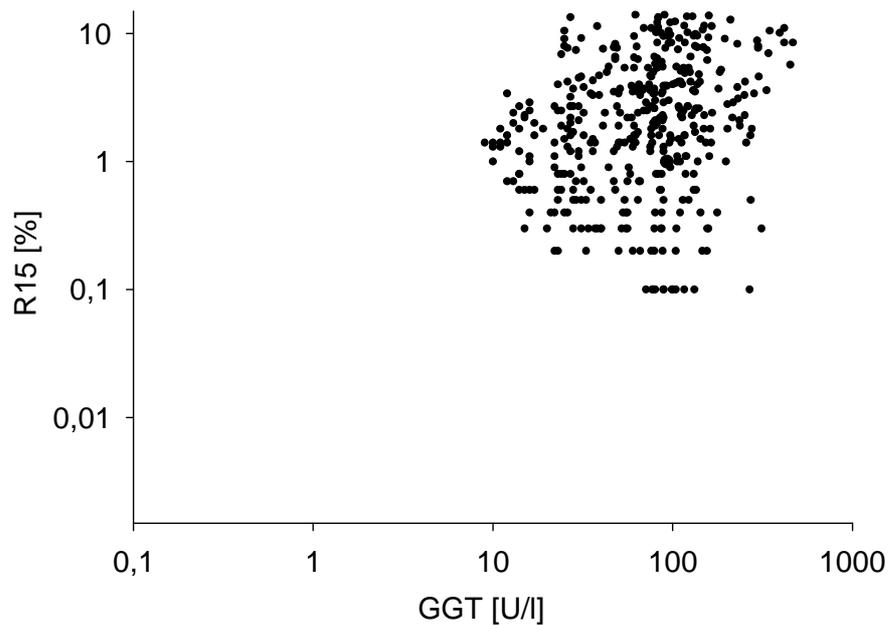


Abb. 4.4.2: Punktgraphik: logarithmische Darstellung der Korrelation der R15 [%] mit der GGT [U/l]. Die Messung der R15, sowie der GGT fanden am selben Tag statt. Jeder Punkt repräsentiert eine GGT-Messung. Die GGT-Messungen ergeben sich aus der einzelnen Laborparameterbestimmungen aller 21 Patienten über die Zeit der Transplantationstherapie (Tag -12 bis Tag +23).

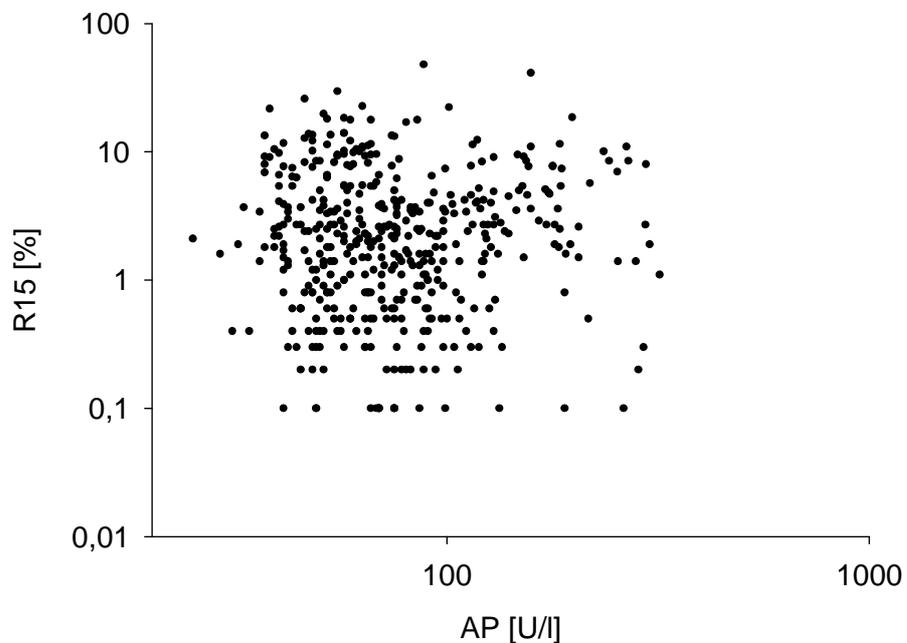


Abb. 4.4.3: Punktgraphik: logarithmische Darstellung der Korrelation der R15 [%] mit der AP [U/l]. Die Messung der R15, sowie der AP fanden am selben Tag statt. Jeder Punkt repräsentiert eine AP-Messung. Die AP-Messungen ergeben sich aus der einzelnen Laborparameterbestimmungen aller 21 Patienten über die Zeit der Transplantationstherapie (Tag -12 bis Tag +23).

Tabelle 4.1 entsprechend, zeigt Tabelle 4.2 die Korrelation der R15 (Var1) mit den verschiedenen Laborparametern der Leberfunktionsdiagnostik (Var2). R15 wurde in diesem Fall einen Tag früher als die entsprechenden Laborparameter bestimmt (R15_min_1).

Auch hierbei zeigen sich schwache bis moderate Korrelationen der R15 Werte mit der GGT, dem Bilirubin, sowie der AP. Die stärkste Korrelation weist hierbei die GGT mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,30 auf, gefolgt von Bilirubin mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,26, sowie der AP, die einen Korrelationskoeffizienten von 0,20 aufweist.

Tabelle 4.2: Nicht lineare Korrelation der Variablen 1 (Var1), R15_min_1, mit der Variablen 2 (Var2), verschiedener Laborparameter. Var1 wurde 1 Tag früher als Var2 erfasst. Spearman Rho ist der Korrelationskoeffizient, KI das Koinfidenzintervall mit der jeweiligen Unter- (UG) und Obergrenze (OG). Die verschiedenen Graustufen stellen die am besten korrelierenden Variablen dar, wobei die dunkelgrauen Variablen die höchste Korrelation, die mittel- bzw. hellgrau unterlegten Variablen die zweit- bzw. drittgrößte Korrelation aufweisen.

Var 1	Var 2	Spearman-Rho (gepoolt)	95%-KI (UG)	95%-KI (OG)
R15_min_1	AP	0.20125	0.07593	0.32031
R15_min_1	Bili	0.26131	0.11058	0.40029
R15_min_1	CHE	0.01853	-0.29874	0.33210
R15_min_1	GGT	0.30162	0.15344	0.43654
R15_min_1	GOT	-0.04228	-0.17844	0.09548
R15_min_1	GPT	-0.05387	-0.24097	0.13709
R15_min_1	Quick	0.04205	-0.10241	0.18477
R15_min_1	CyA SYVA ng/ml	0.04205	-0.10241	0.18477
R15_min_1	CyA TDX ng/ml	0.04205	-0.10241	0.18477
R15_min_1	SYVA AUC mg/ml/min	0.04205	-0.10241	0.18477
R15_min_1	SYVA Clearance ml/min	0.04205	-0.10241	0.18477
R15_min_1	SYVA Clearance ml/min/kg	0.04205	-0.10241	0.18477
R15_min_1	TDX AUC mg/ml/min	0.04205	-0.10241	0.18477
R15_min_1	TDX Clearance ml/min	0.04205	-0.10241	0.18477
R15_min_1	TDX Clearance ml/min/kg	0.04205	-0.10241	0.18477

Zur Verdeutlichung der tabellarischen Korrelationsdarstellung folgen die graphischen Darstellungen der drei am besten mit der R15 korrelierten Laborparameter. Es handelt sich um eine logarithmische Punktdarstellung der Laborparameter GGT, Bilirubin und AP.

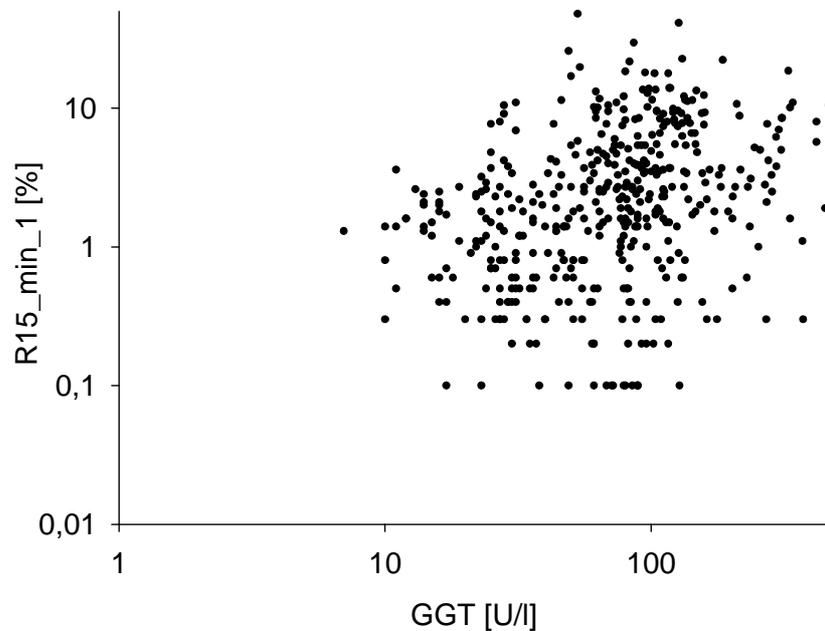


Abb. 4.4.4: *Punktgraphik: logarithmische Darstellung der Korrelation der R15 [%] mit der GGT[U/l]. Die Bestimmung der R15 fand in diesem Fall 1 Tag vor der GGT Bestimmung statt (R15_min_1). Jeder Punkt repräsentiert eine GGT-Messung. Die GGT-Messungen ergeben sich aus der einzelnen Laborparameterbestimmungen aller 21 Patienten über die Zeit der Transplantationstherapie (Tag -12 bis Tag +23).*

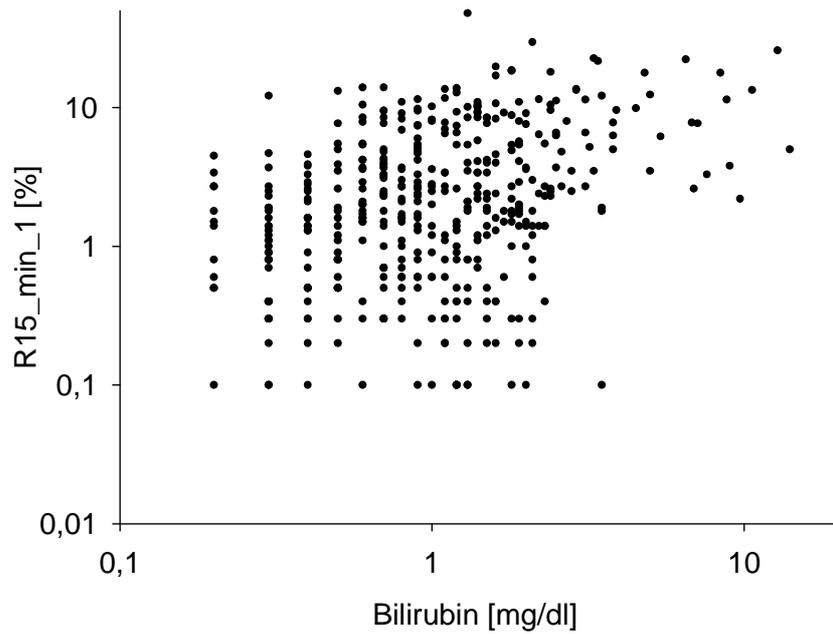


Abb. 4.4.5: Punktgraphik: logarithmische Darstellung der Korrelation der R15 [%] mit dem Bilirubin [mg/dl]. Die Bestimmung der R15 fand in diesem Fall 1 Tag vor der Bestimmung des Bilirubins statt (R15_min_1). Jeder Punkt repräsentiert hierbei eine Bilirubinmessung. Die Bilirubinmessungen ergeben sich aus jeder einzelnen Laborparameterbestimmungen aller 21 Patienten über die Zeit der Transplantationstherapie (Tag -12 bis Tag +23).

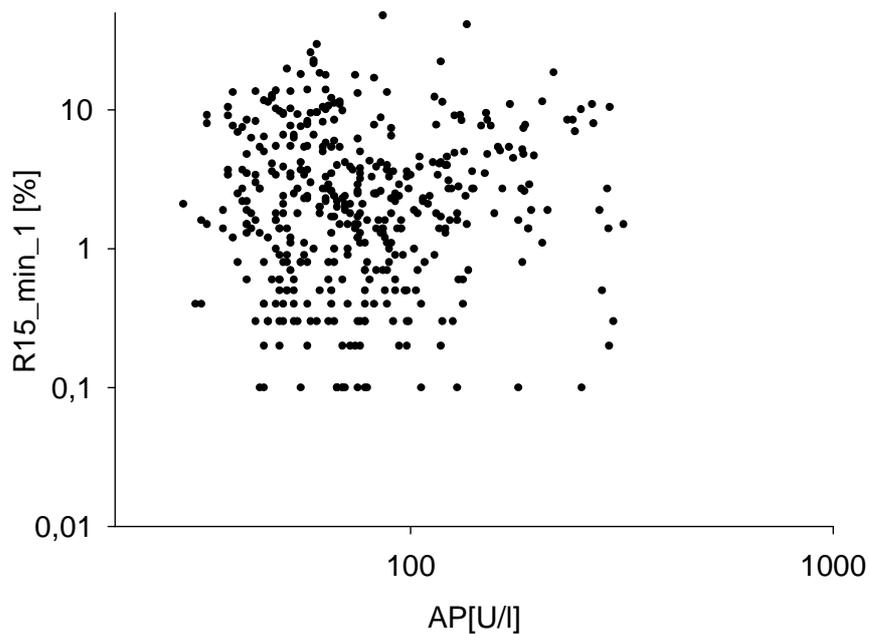


Abb. 4.4.6: Punktgraphik: logarithmische Darstellung der Korrelation der R15 [%] mit der AP [U/l]. Die Bestimmung der R15 fand in diesem Fall 1 Tag vor der Bestimmung der AP statt (R15_min_1). Jeder Punkt repräsentiert hierbei eine AP Messung. Die AP Messungen ergeben sich aus jeder einzelnen Laborparameterbestimmungen aller 21 Patienten über die Zeit der Transplantationstherapie (Tag -12 bis Tag +23).

Bei der Korrelation der R15 zwei Tage vor der Bestimmung der Leberfunktionsparameter findet man ebenfalls eine schwache bis mäßige Korrelation der R15 mit den Parametern GGT, AP und Bilirubin (Tabelle 4.3).

Wie auch bei der Erhebung der R15 einen Tag vor der Laborparameterbestimmung, findet sich hier die höchste Korrelation der R15 mit der GGT. Der Korrelationskoeffizient liegt bei 0.31. Die zweithöchste Korrelation ist mit dem Bilirubin, die dritthöchste mit der AP zu verzeichnen.

Tabelle 4.3: Nicht lineare Korrelation der Variablen 1 (Var1), R15_min_2, mit der Variablen 2 (Var2), verschiedener Laborparameter. Var1 wurde hier zwei Tage früher als Var2 erfasst. Spearman Rho ist der Korrelationskoeffizient, KI das Koinfidenzintervall mit der jeweiligen Unter- (UG) und Obergrenze (OG). Die verschiedenen Graustufen stellen die am besten korrelierenden Variablen dar, wobei die dunkelgrauen Variablen die höchste Korrelation, die mittel- bzw. hellgrau unterlegten Variablen die zweit- bzw. drittgrößte Korrelation aufweisen.

Var 1	Var 2	Spearman-Rho (gepoolt)	95%-KI (UG)	95%-KI (OG)
R15_min_2	AP	0.24691	0.15156	0.33770
R15_min_2	Bili	0.19769	0.06395	0.32446
R15_min_2	CHE	0.06249	-0.25811	0.37070
R15_min_2	GGT	0.31754	0.16853	0.45236
R15_min_2	GOT	0.01184	-0.14405	0.16716
R15_min_2	GPT	-0.10312	-0.28805	0.08922
R15_min_2	Quick	-0.04324	-0.20461	0.12041
R15_min_2	CyA SYVA ng/ml	-0.04324	-0.20461	0.12041
R15_min_2	CyA TDX ng/ml	-0.04324	-0.20461	0.12041
R15_min_2	SYVA AUC mg/ml/min	-0.04324	-0.20461	0.12041
R15_min_2	SYVA Clearance ml/min	-0.04324	-0.20461	0.12041
R15_min_2	SYVA Clearance ml/min/kg	-0.04324	-0.20461	0.12041
R15_min_2	TDX AUC mg/ml/min	-0.04324	-0.20461	0.12041
R15_min_2	TDX Clearance ml/min	-0.04324	-0.20461	0.12041
R15_min_2	TDX Clearance ml/min/kg	-0.04324	-0.20461	0.12041

Die folgenden Abbildungen 4.4.7, 4.4.8 und 4.4.9 stellen die Korrelation der R15, welche zwei Tage vor den entsprechenden Laborparametern gemessen wurden, mit den jeweiligen Leberparameter GGT, AP und Bilirubin graphisch dar. Auch hier wurde zur besseren Veranschaulichung eine logarithmische Punktdarstellung gewählt.

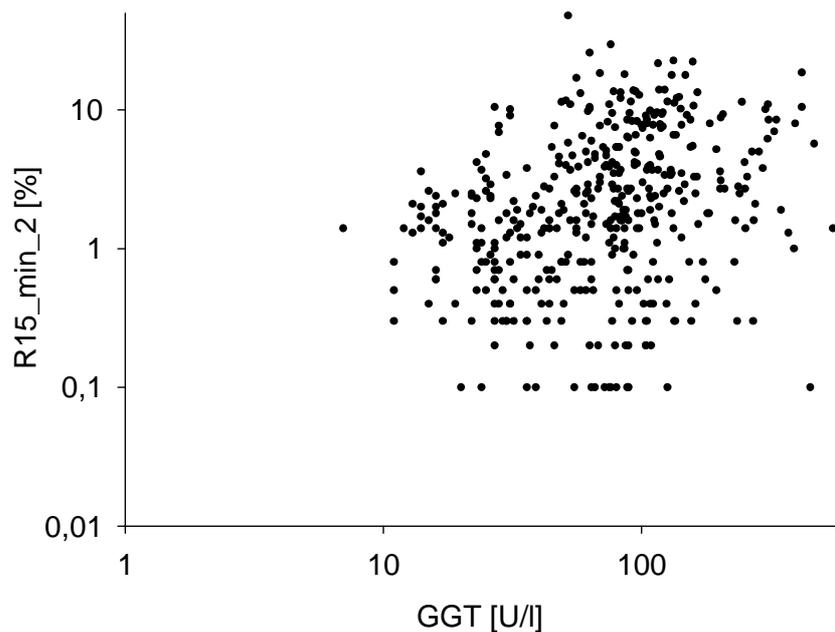


Abb. 4.4.7: Punktgraphik: logarithmische Darstellung der Korrelation der R15 [%] mit der GGT[U/l]. Die Bestimmung der R15 fand in diesem Fall 2 Tage vor der GGT Bestimmung statt (R15_min_2). Jeder Punkt repräsentiert eine GGT Messung. Die GGT Messungen ergeben sich aus der einzelnen Laborparameterbestimmungen aller 21 Patienten über die Zeit der Transplantationstherapie(Tag -12 bis Tag +23).

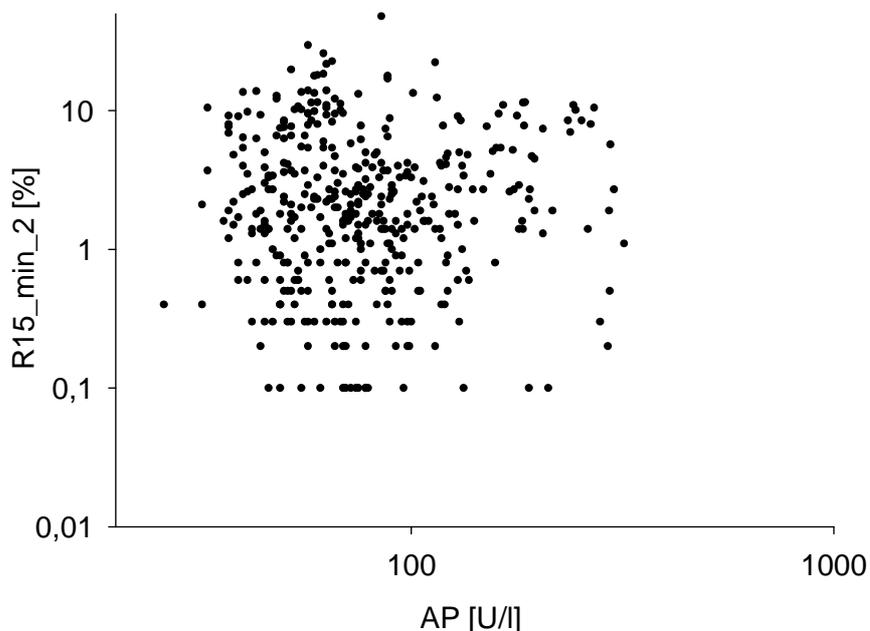


Abb. 4.4.8: Punktgraphik: logarithmische Darstellung der Korrelation der R15 [%] mit der AP [U/l]. Die Bestimmung der R15 fand in diesem Fall 2 Tage vor der Bestimmung der AP statt (R15_min_2). Jeder Punkt repräsentiert hierbei eine AP Messung. Die AP Messungen ergeben sich aus jeder einzelnen Laborparameterbestimmungen aller 21 Patienten über die Zeit der Transplantationstherapie (Tag -12 bis Tag +23).

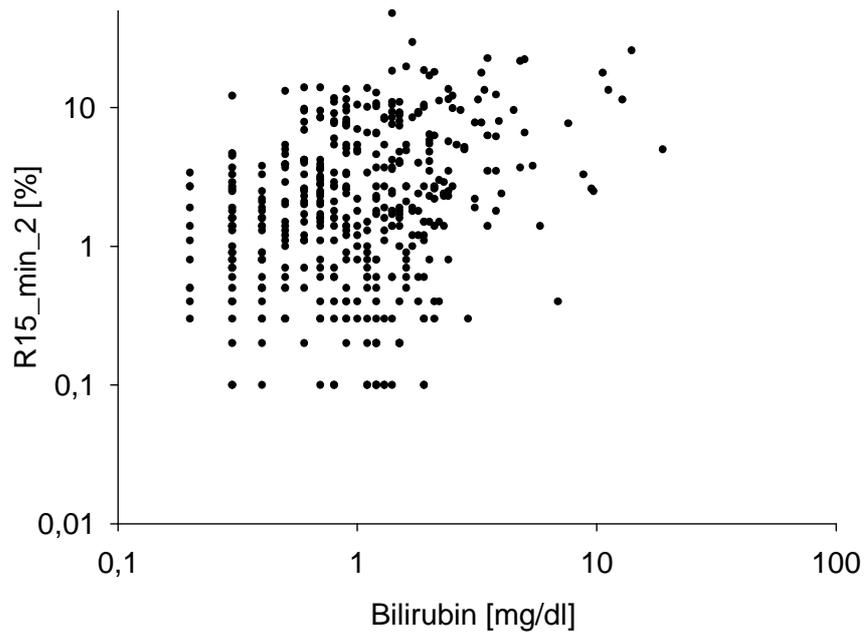


Abb. 4.4.9: Punktgraphik: logarithmische Darstellung der Korrelation der R15 [%] mit dem Bilirubin [mg/dl]. Die Bestimmung der R15 fand in diesem Fall 2 Tage vor der Bestimmung des Bilirubins statt (R15_min_2). Jeder Punkt repräsentiert hierbei eine Bilirubinmessung. Die Bilirubinmessungen ergeben sich aus jeder einzelnen Laborparameterbestimmungen aller 21 Patienten über die Zeit der Transplantationstherapie (Tag -12 bis Tag +23).

Wird die R15 des ICG zwei Tage nach Ermittlung der Laborparameter erhoben, findet sich eine moderate Korrelation der R15 mit dem Bilirubinwert (Tabelle 4.4). Eine etwas schwächere Korrelation der R15 ist mit der GGT zu verzeichnen.

Tabelle 4.4: Nicht lineare Korrelation der Variablen 1 (Var1), R 15_pl_2, mit der Variablen 2 (Var2), verschiedener Laborparameter. Var1 wurde hier zwei Tage später als Var2 erfasst. Spearman Rho ist der Korrelationskoeffizient, KI das Koinfidenzintervall mit der jeweiligen Unter- (UG) und Obergrenze (OG). Die verschiedenen Graustufen stellen die am besten korrelierenden Variablen dar, wobei die dunkelgrauen Variablen die höchste Korrelation, die mittel- bzw. hellgrau unterlegten Variablen die zweit- bzw. drittgrößte Korrelation aufweisen.

Var 1	Var 2	Spearman-Rho (gepoolt)	95%-KI (UG)	95%-KI (OG)
R15_pl_2	AP	-0.02081	-0.19491	0.15456
R15_pl_2	Bili	0.34323	0.17802	0.48961
R15_pl_2	CHE	-0.05142	-0.36108	0.26845
R15_pl_2	GGT	0.20433	0.05733	0.34266
R15_pl_2	GOT	-0.20716	-0.35324	-0.05122
R15_pl_2	GPT	-0.10808	-0.28403	0.07491
R15_pl_2	Quick	-0.14897	-0.30413	0.01390
R15_pl_2	CyA SYVA ng/ml	-0.14897	-0.30413	0.01390
R15_pl_2	CyA TDX ng/ml	-0.14897	-0.30413	0.01390
R15_pl_2	SYVA AUC mg/ml/min	-0.14897	-0.30413	0.01390
R15_pl_2	SYVA Clearance ml/min	-0.14897	-0.30413	0.01390
R15_pl_2	SYVA Clearance ml/min/kg	-0.14897	-0.30413	0.01390
R15_pl_2	TDX AUC mg/ml/min	-0.14897	-0.30413	0.01390
R15_pl_2	TDX Clearance ml/min	-0.14897	-0.30413	0.01390
R15_pl_2	TDX Clearance ml/min/kg	-0.14897	-0.30413	0.01390

Auch in der graphischen, logarithmischen Punktdarstellung zeigen sich schwache bis moderate Korrelationen der R15 mit dem Bilirubin (Abb.4.4.10) und der GGT (Abb.4.4.11).

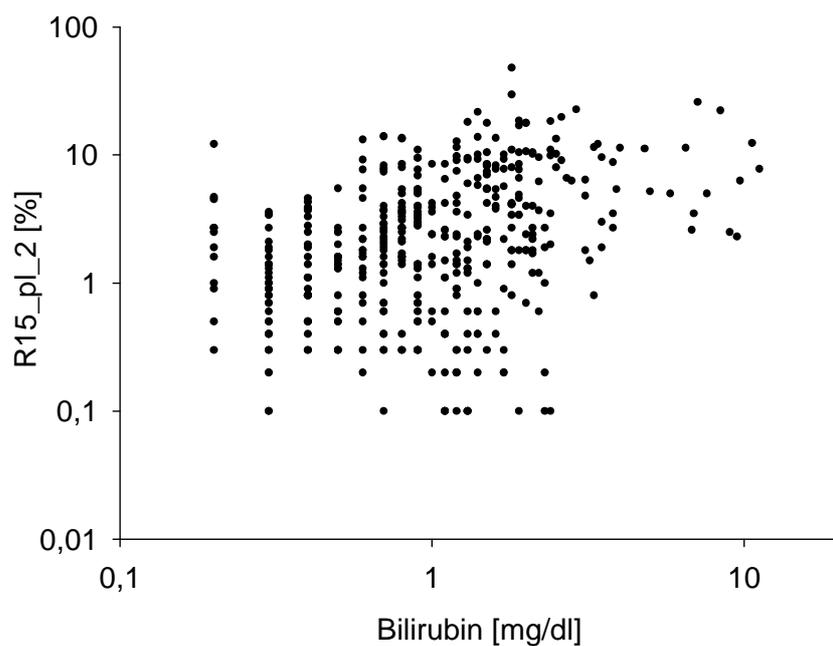


Abb. 4.4.10: Punktgraphik: logarithmische Darstellung der Korrelation der R15 [%] mit dem Bilirubin [mg/dl]. Die Bestimmung der R15 fand in diesem Fall 2 Tag nach der Bestimmung des Bilirubins statt (R15_pl_2). Jeder Punkt repräsentiert hierbei eine Bilirubinmessung. Die Bilirubinmessungen ergeben sich aus jeder einzelnen Laborparameterbestimmungen aller 21 Patienten über die Zeit der Transplantationstherapie (Tag -12 bis Tag +23).

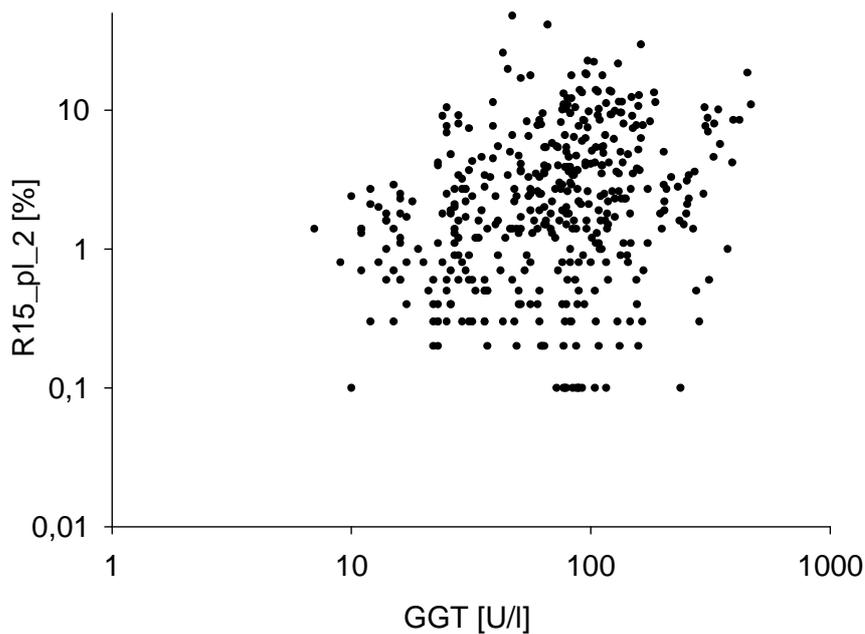


Abb. 4.4.11: Punktgraphik: logarithmische Darstellung der Korrelation der R15 [%] mit der GGT[U/l]. Die Bestimmung der R15 fand in diesem Fall 2 Tage nach der GGT Bestimmung statt (R15_pl_2). Jeder Punkt repräsentiert eine GGT Messung. Die GGT Messungen ergeben sich aus den einzelnen Laborparameterbestimmungen aller 21 Patienten über die Zeit der Transplantationstherapie (Tag -12 bis Tag +23)

Abschließend folgt eine zur Übersicht dienende, graphische Darstellung des zeitlichen Zusammenhangs zwischen der Bestimmung der R15 und den Werten Bilirubin, GGT und AP. Die negativen Werte stehen hier für die entsprechend frühere Bestimmung der R15, verglichen mit dem Zeitpunkt der Bestimmung von Bilirubin, GGT und AP. Positive Werte stellen die Anzahl der Tage dar, an welchen R15 entsprechend später bestimmt wurde, als seine Vergleichswerte Bilirubin, GGT oder AP. Die Werte GGT und AP korrelieren am besten mit Werten der R15, welche zwei Tage vorher bestimmt wurden.

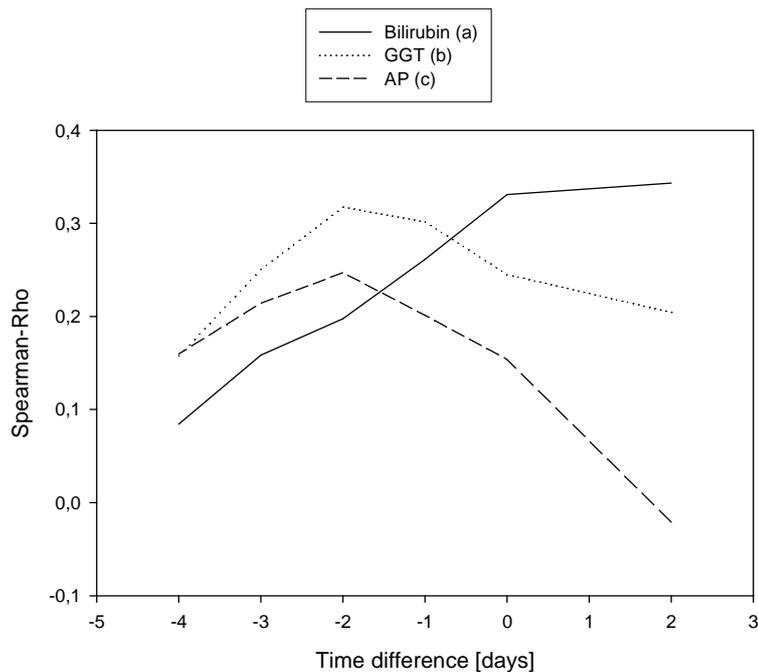


Abb. 4.4.12: Graphik: zeitliche Korrelation zwischen der Bestimmung der Werte Bilirubin (a), GGT (b) oder AP (c) und der R15.

4.5 Korrelation der Bilirubinwerte mit Cyclosporin A

In den folgenden drei Tabellen wurde das Bilirubin mit dem Cyclosporin A korreliert. Als Variable wurden verschiedene Maßeinheiten des Cyclosporins A hergenommen. Verwendet wurden die Cyclosporin A SYVA (CyA SYVA), gemessen in ng/ml, die Cyclosporin A TDX (CyA TDX), gemessen in ng/ml, die SYVA AUC, gemessen in mg/ml/min, sowie die SYCA Clearance (SYVA Clear), welche einmal in ml/min und einmal in ml/min/kg gemessen wurde. Weitere Messungen waren die TDX AUC, gemessen in mg/ml/min, die TDX Clearance (TDX Clear), die zum einen in ml/min und zum anderen in ml/min/kg gemessen wurde.

Bestimmt man Variable 1 und Variable 2 am selben Tag, so findet sich die höchste Korrelation der Variablen Bilirubin und der TDX AUC (mg/ml/min) mit einem Spearman Rho Koeffizienten von 0,63, gefolgt von einer hohen Korrelation des Bilirubins mit der SYCA AUC (mg/ml/min), welche einen Spearman Rho Koeffizienten von 0,50 ergibt.

Tabelle 4.5: Nicht lineare Korrelation der Variablen 1 (Var1), des Bilirubins (Bili) mit der Variablen 2 (Var2), dem Cyclosporin A. Cyclosporin A wurde auf verschiedene Art und Weise, sowie in unterschiedlichen Maßeinheiten bestimmt. Var1 und Var2 wurden am gleichen Tag erfasst. Spearman Rho ist der Korrelationskoeffizient, KI das Konfidenzintervall mit der jeweiligen Unter- (UG) und Obergrenze (OG). Die verschiedenen Graustufen stellen die am besten korrelierenden Variablen dar, wobei die dunkelgrau unterlegten Variablen die höchste Korrelation, die mittel- bzw. hellgrau unterlegten Variablen die zweit- bzw. drittgrößte Korrelation aufweisen.

Var 1	Var 2	Spearman-Rho (gepoolt)	95%-KI (UG)	95%-KI (OG)
Bili	CyASYVAinngml	-0.14897	-0.30413	0.01390
Bili	CyATDXinngml	-0.14897	-0.30413	0.01390
Bili	SYVAAUCmgmlmin	0.50803	0.19794	0.72569
Bili	SYVAClear_mlmin	0.23929	-0.04104	0.48470
Bili	SYVAClear_mlming	0.22177	-0.05943	0.47037
Bili	TDXAUCmgmlmin	0.63561	0.44703	0.77010
Bili	TDXCclear_mlmin	0.22677	-0.07928	0.49376
Bili	TDXCclear_mlming	0.25622	-0.06411	0.52868

Betrachtet man das Bilirubin einen Tag nach den Cyclosporinmessungen, so fällt die stärkste Korrelation des Bilirubins mit der TDX AUC (mg/ml/min), gefolgt von der weniger stark ausgeprägten Korrelation des Bilirubins mit der SYVA AUC (mg/ml/min) auf.

Tabelle 4.6: Nicht lineare Korrelation der Variablen 1 (Var1), des Bilirubins (Bili) mit der Variablen 2 (Var2), dem Cyclosporin A. Cyclosporin A wurde auf verschiedene Art und Weise, sowie mit unterschiedlichen Maßeinheiten bestimmt. Var1 wurde ein Tag nach Var2 erfasst (bili_pl_1). Spearman Rho ist der Korrelationskoeffizient, KI das Koinfidenzintervall mit der jeweiligen Unter- (UG) und Obergrenze (OG). Die verschiedenen Graustufen stellen die am besten korrelierenden Variablen dar, wobei die dunkelgrau unterlegten Variablen die höchste Korrelation, die mittel- bzw. hellgrau unterlegten Variablen die zweit- bzw. drittgrößte Korrelation aufweisen.

Var 1	Var 2	Spearman-Rho (gepoolt)	95%-KI (UG)	95%-KI (OG)
bili_pl_1	CyASYVAinngml	0.25622	-0.06411	0.52868
bili_pl_1	CyATDXinngml	0.25622	-0.06411	0.52868
bili_pl_1	SYVAAUCmgmlmin	0.47984	0.12422	0.72622
bili_pl_1	SYVAClear_mlmin	0.31989	0.06938	0.53244
bili_pl_1	SYVAClear_mlming	0.30607	0.05869	0.51803
bili_pl_1	TDXAUCmgmlmin	0.57789	0.35770	0.73720
bili_pl_1	TDXCclear_mlmin	0.31981	-0.00083	0.58082
bili_pl_1	TDXCclear_mlming	0.32869	0.01020	0.58663

Auch die Messungen des Bilirubins zwei Tage nach der Bestimmung des Cyclosporins ergeben ähnliche Ergebnisse, wie in Tabelle 4.5 und 4.6 beschrieben. Zu sehen ist eine etwa gleich starke Korrelation des Bilirubins mit der TDX AUC (mg/ml/min), sowie der SYVA AUC (mg/ml/min).

Tabelle 4.7: Nicht lineare Korrelation der Variablen 1 (Var1), des Bilirubins (Bili) mit der Variablen 2 (Var2), dem Cyclosporin A. Cyclosporin A wurde auf verschiedene Art und Weise, sowie Maßeinheiten bestimmt. Var1 wurde 2 Tage nach Var2 erfasst (bili_pl_2). Spearman Rho ist der Korrelationskoeffizient, KI das Koinfidenzintervall mit der jeweiligen Unter- (UG) und Obergrenze (OG). Die verschiedenen Graustufen stellen die am besten korrelierenden Variablen dar, wobei die dunkelgrau unterlegten Variablen die höchste Korrelation, die mittel- bzw. hellgrau unterlegten Variablen die zweit- bzw. drittgrößte Korrelation aufweisen.

Var 1	Var 2	Spearman-Rho (gepoolt)	95%-KI (UG)	95%-KI (OG)
bili_pl_2	CyASYVAinngml	0.32869	0.01020	0.58663
bili_pl_2	CyATDXinngml	0.32869	0.01020	0.58663
bili_pl_2	SYVAAUCmgmlmin	0.49155	0.19192	0.70735
bili_pl_2	SYVAClear_mlmin	0.28799	-0.00495	0.53541
bili_pl_2	SYVAClear_mlminkg	0.28125	-0.01026	0.52869
bili_pl_2	TDXAUCmgmlmin	0.54285	0.36072	0.68509
bili_pl_2	TDXCclear_mlmin	0.37719	0.03875	0.63799
bili_pl_2	TDXCclear_mlminkg	0.36164	0.02070	0.62724

Bestimmt man sämtliche Cyclosporin A Werte drei Tage nach der Bilirubinmessung, so zeigen sich auch hier die höchsten Spearman Rho Koeffizienten bei der TDX AUC (mg/ml/min) und der SYVA AUC (mg/ml/min).

Tabelle 4.8: Nicht lineare Korrelation der Variablen 1 (Var1), des Bilirubins (Bili) mit der Variablen 2 (Var2), dem Cyclosporin A . Cyclosporin A wurde in verschiedenen Maßeinheiten gemessen. Var1 wurde 3 Tage später als Var2 erfasst (bili_pl_3). Spearman Rho ist der Korrelationskoeffizient, KI das Konfidenzintervall mit der jeweiligen Unter- (UG) und Obergrenze (OG). Die verschiedenen Graustufen stellen die am besten korrelierenden Variablen dar, wobei die dunkelgrau unterlegten Variablen die höchste Korrelation, die mittel- bzw. hellgrau unterlegten Variablen die zweit- bzw. drittgrößte Korrelation aufweisen.

Var 1	Var 2	Spearman-Rho (gepoolt)	95%-KI (UG)	95%-KI (OG)
bili_pl_3	CyASYVAinngml	0.36164	0.02070	0.62724
bili_pl_3	CyATDXinngml	0.36164	0.02070	0.62724
bili_pl_3	SYVAAUCmgmlmin	0.53599	0.23640	0.74251
bili_pl_3	SYVAClear_mlmin	0.22209	-0.04267	0.45771
bili_pl_3	SYVAClear_mlming	0.22465	-0.03402	0.45511
bili_pl_3	TDXAUCmgmlmin	0.57884	0.34559	0.74472
bili_pl_3	TDXCclear_mlmin	0.23497	-0.07746	0.50539
bili_pl_3	TDXCclear_mlming	0.24440	-0.06113	0.50806

Folgend ist eine graphische Darstellung zur Verdeutlichung des zeitlichen Zusammenhangs zwischen der Bestimmung der Bilirubin Werte und der Variablen TDX AUC und SYVA AUC zu sehen. Negative Werte bedeuten, dass die jeweiligen AUC Werte eine entsprechende Anzahl von Tagen vor den Bilirubinwerten gemessen wurde.

Hierbei zeigt sich, dass TDX AUC am besten mit Bilirubin korreliert, wenn beide Werte am gleichen Tag (0) bestimmt wurden, wohingegen SYVA AUC den Bilirubinwerten 3 Tage (-3) voraus geht.

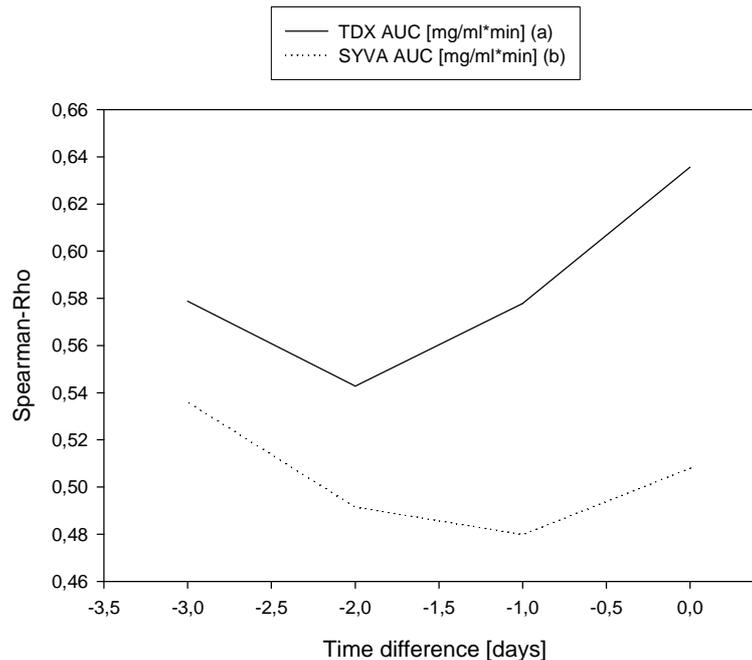


Abb. 4.5.1: Graphik: zeitliche Korrelation zwischen der Bestimmung der Werte TDX AUC (a) oder SYVA AUC (b) und dem Bilirubin.

4.6. Positiv prädiktiver Wert des R15 Parameters bezüglich standardisierter Laborparameter

Um die klinische Aussagekraft des LIMON Parameters R15 besser quantifizieren zu können, wird folgend der positiv prädiktive Wert der R15, welcher zwei Tage vor den Parametern GGT, Bilirubin und AP bestimmt wurde, tabellarisch dargestellt.

Bezug nehmend auf die R15, werden in der folgenden Tabelle nur jene R15 Werte berücksichtigt, welche oberhalb der 50., 75. und 90. Perzentile liegen. 235 GGT Werte aller gemessenen GGT Werte lagen ebenfalls über der 50. Perzentile. 142 GGT Werte, waren auch dann größer der 50. Perzentile, wenn entsprechend die R15 Werte größer der 50. Perzentile waren. Dies entspricht einem positiv prädiktiven Wert von 60,4%. Betrachtet man Werte, die sich oberhalb der 75. Perzentile bewegen, so findet man hier den höchsten prädiktiven Wert bei den Bilirubinwerten mit 72,4%. Auch die R15 Werte größer der 90. Perzentile ergeben den höchsten prädiktiven Wert mit den Bilirubinwerten. Hier ergibt sich ein Prozentwert von über 80%.

Tabelle 4.9: Positiv prädiktiver Wert der R15 Werte, welche entsprechend über der angegebenen Perzentile liegen, bezogen auf die Werte GGT, Bilirubin und AP.

R15	Median R15	GGT	Median GGT Werte	%Anteil GGT Werte
>50. Perzentile	2,1%	142/235	76U/l	60,4%
>75. Perzentile	4,7%	83/116	76U/l	71,6%
>90. Perzentile	9,6%	33/46	76U/l	71,7%

R15	Median R15	Bilirubin	Median Bili Werte	%Anteil Bili Werte
>50. Perzentile	2,1%	131/235	1mg/dl	55,7%
>75. Perzentile	4,7%	84/116	1mg/dl	72,4%
>90. Perzentile	9,6%	37/46	1mg/dl	80,4%

R15	Median R15	AP	Median AP Werte	%Anteil AP Werte
>50. Perzentile	2,1%	107/208	72U/l	46,9%
>75. Perzentile	4,7%	43/112	72U/l	38,4%
>90. Perzentile	9,6%	14/45	72U/l	31,1%

5. DISKUSSION

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit einer Pilotstudie, in der erstmals untersucht wurde, ob hepatische Dysfunktionen im Rahmen einer allogenen SZT mittels LIMON, einem nicht invasiven Messverfahren der Leberfunktion, schneller detektiert werden können als mittels herkömmlicher Standarduntersuchungen.

Insgesamt wurden 21 Patienten in die Studie eingeschlossen. Dokumentierte Verläufe über die Leberfunktion fanden von Tag -12 vor Transplantation bis Tag +23 nach Transplantation statt, einem typischen Zeitraum für das Auftreten hepatotoxischer Schäden im Rahmen einer SZT. Diese recht starre Abfolge hepatischer Dysfunktionen beginnt mit der im Rahmen der Konditionierungstherapie auftretenden medikamenteninduzierten Toxizität, vor allem durch Cyclophosphamid und Busulfan. Zum Zeitpunkt der Transplantation kann es zu einem Sinusoidal Obstruction Syndrom der Leber kommen, welches Ausdruck einer massiven Hepatozytenschädigung, infolge thrombotischer Verschlüsse kleiner Lebervenen ist. Durch die im Rahmen der allogenen SZT infundierten T-Lymphozyten besteht mit dem Beginn der Regeneration stets das Risiko einer GvHD. Diese Komplikation geht mit einer hohen Mortalität einher.

Daten dieser Studie ergaben, dass ca. 5% der Patienten mehr als zwei hepatotoxische Medikamente zum gleichen Zeitpunkt erhielten. Mehr als 50% der Patienten wurden zeitgleich mit mehr als einem hepatotoxischen Medikament über einen Zeitraum von mindestens 14 Tagen behandelt.

Im Rahmen dieser Studie konnte eine signifikante Korrelation zwischen LIMON Messwerten und gängigen Laborparametern, wie GGT, Bilirubin und AP gefunden werden. Außerdem fand sich auch eine signifikante Korrelation zwischen dem laborchemisch bestimmten Cyclosporin A Spiegel (TDX AUC) sowie den Bilirubinwerten im Verlauf. Hohe Cyclosporin A Spiegel (TDX AUC) korrelierten mit hohen Bilirubinwerten. Eine Korrelation zwischen LIMON Werten und Cyclosporin A Spiegel blieb jedoch aus.

5.1 LIMON als Methode zur Evaluierung von Leberfunktionsstörung

Hintergrund dieser Studie war es, die für die Prognose teils entscheidenden hepatischen Komplikationen, wie sie im Rahmen von KMT möglich sind, schneller als bisher möglich detektieren zu können. Da die KMT eine maximale

Immunsuppression voraussetzt, handelt es sich in dieser Studie um ein hochsensibles Patientenkollektiv. Als Diagnostikum wurde LIMON eingesetzt, ein für den Patienten sehr schonendes Messverfahren. LIMON ist eine diagnostische Messmethode, welche anhand der PDR des Farbstoffes ICG die Leberfunktion bestimmen kann. Hierbei handelt es sich um ein in der Medizin bereits weit verbreitetes und erprobtes Verfahren. Bereits vor über zwanzig Jahren wurde eine Methodik zur Bestimmung der ICG PDR beschrieben (Leevy et al. 1979). In der Intensivmedizin konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Überlebensprognose kritisch kranker Patienten und der gemessenen PDR gezeigt werden: von 336 Intensivpatienten wiesen nicht überlebende Patienten auffällig niedrige PDR Werte, überlebende Patienten deutlich erhöhte PDR Parameter auf (Sakka SG et al. 2002). Auch die Mortalität septischer Patienten korrelierte mit niedrigen PDR Parametern: ein Anstieg des PDR Parameters während der ersten Tage des klinischen Aufenthaltes korrelierte stark mit der Überlebensprognose, wohingegen ein gleich bleibender oder weiter abfallender PDR Wert bei nicht überlebenden Patienten zu beobachten war. Bleibt ein PDR Anstieg binnen 120h aus, muss von einer infausten Prognose ausgegangen werden (Kimura S et al. 2001). Im Rahmen allogener SZT s fand LIMON bisher keine Anwendung.

Ein klarer Vorteil des Verfahrens gerade bei diesem Patientengut, liegt in der patientennahen Anwendung. Dieses Procedere macht die Messung direkt am Patientenbett möglich. Somit können die für die immunkompromittierten Patienten gefährlichen Transporte zu alternativen diagnostischen Verfahren vermieden werden. Ein weiterer Vorteil ist die schnelle und personell wenig aufwendige Anwendung. Die geringe Halbwertszeit von ICG von nur wenigen Minuten ermöglicht repetitive Messungen bis zu einer Maximaldosis von 5mg/kg KG/d binnen kurzer Zeit. Dies ist ein klarer Vorteil gegenüber anderen diagnostischen Methoden gerade im Bereich der KMT, in der eine engmaschige Überwachung der Leberfunktion äußerst relevant ist.

Zu berücksichtigen sind allerdings Nebenwirkungen, wie sie bei einem der 21 Patienten um den Tag der Transplantation zu verzeichnen waren. In diesem Falle klagte der Patient über Diarrhoe und Übelkeit, was zum Ausschluss des Patienten aus der Studie führte. Verwendet man jedoch Dosierungen von 0,1 bis 0,3mg/kg Kg werden Nebenwirkungen äußerst selten beschrieben und am ehesten auf die Verunreinigung des darin enthaltenen Natriumjodids zurückgeführt (Wipper H 2006).

Die beobachteten Nebenwirkungen reichen von Halsschmerzen und allgemeinem Unwohlsein bis hin zum anaphylaktischen Schock in nur wenigen Fällen. Nach Einführung von ICG wurden über 34 Jahre insgesamt 17 Unverträglichkeitsreaktionen inklusive zwei Todesfälle beschrieben. Letztere traten bei schwerkranken Patienten auf (Benya et al. 1978).

Nachteilig erscheinen der aufwendige Umgang mit dem Farbstoff ICG bei der Anwendung von LIMON, sowie die durch die Messung entstehenden Kosten. Diese belaufen sich je Einzelmessung auf etwa 75 Euro auf die Materialkosten, sowie auf 40 Euro, betrachtet man den Kostenanteil des Gerätes bei einer Laufdauer von ca. fünf Jahren bei jährlich 60 Messungen.

Auch die Infektionsgefahr durch die zentralvenöse Injektion des Farbstoffes sollte bei immunsupprimierten Patienten nicht außer Acht gelassen werden.

Betrachtet man die alternativen Möglichkeiten zur Bestimmung der Leberfunktion, hat beispielsweise die Sonographie den klaren Vorteil einer morphologischen Darstellung. Die Leberfunktion kann jedoch nur abgeschätzt werden, nicht jedoch quantifiziert werden. Die Leberbiopsie hingegen ermöglicht eine detaillierte Gewebsuntersuchung, welche auf die Leberfunktion ebenfalls keine Rückschlüsse ziehen lässt. Nicht zu unterschätzen ist das hohe Blutungsrisiko auf Grund der in der Regel thrombopenischen Patienten, so dass die Leberbiopsie meist transjugulär durchgeführt wird. Mit steigender Anzahl der Biopsate steigt die Beurteilbarkeit der Anzahl der Portalfelder, da die histologische Veränderungen häufig nicht gleichförmig in der gesamten Leber auftreten. Da die Biopsiestücke meist sehr klein ausfallen, ist die Sensitivität dieser Methode eher unbefriedigend.

Die schnelle, bettseitige und nichtinvasive Diagnostik sprechen jedoch sehr für die Anwendung von LIMON bei KMT Patienten. Auch der hohe prozentuale Anteil der Patienten mit Leberfunktionsstörungen auf KMT Stationen lassen den Einsatz trotz hoher Kosten als sinnvoll erscheinen.

5.2 Ergebnisse und klinische Relevanz

5.2.1 Einsatz und Monitoring hepatotoxischer Medikamente

In dieser Arbeit fand erstmals eine Quantifizierung der im Rahmen der KMT zum Einsatz kommenden hepatotoxischen Medikamente statt.

Betrachtet man den Verlauf von 35 Tagen, so wurden bis zu 60% der Patienten ab dem Tag 0, der Tag der Transplantation, mit mehr als einem hepatotoxischen

Medikament therapiert. 95% aller Patienten wurden mit Cyclosporin A therapiert. An einzelnen Tagen erhielten bis zu 85% der Patienten Cyclophosphamid, 19% aller Patienten wurden mit Busulfan therapiert. Eine antimykotische Therapie fand am häufigsten mit Voriconazol statt, welches bis zu 60% der Patienten erhielten, gefolgt von Itraconazol (18%) und Fluconazol (15%).

Die zeitgleiche Therapie mit mindestens zwei hepatotoxischen Medikamenten konnte nur bei maximal 5% der Patienten an nur wenigen Tagen nachgewiesen werden. Hierbei handelte es sich um zwei Patienten, welche neben der obligatorischen Cyclosporin A Therapie eine überlappende Therapie mit zwei unterschiedlichen Antimykotika im Rahmen einer Umstellung des antimykotischen Therapiekonzeptes erhielten. Die Überlappung betrug in jedem Fall nur ein Tag. Signifikante Änderungen der LIMON Messwerte sind zu diesen Zeitpunkten bei keinem der beiden Patienten zu verzeichnen.

Dies lässt vermuten, dass es hierbei zu keinen relevanten, oder aber mittels LIMON nicht erfassbaren, hepatischen Einschränkungen gekommen ist. Auch der Zeitpunkt der Messung in Bezug auf die Applikation der antimykotischen Substanz könnte hierbei eine entscheidende Rolle spielen. Repetitive, stündliche LIMON Messungen ab dem Zeitpunkt der Medikamentenverabreichung könnten sich hierbei als Verlaufsparemeter im Einzelfall als sinnvoll erweisen. Betrachtet man den weiteren Verlauf nach Verabreichung von zwei und mehr hepatotoxischen Medikamenten, so sind auch wenige Tage danach keine relevanten Änderungen zu verzeichnen. Nicht zu vernachlässigen ist jedoch der gesamte Zeitraum der allogenen Stammzelltherapie. Hierbei ist jeder einzelne Patient über mehrere Monate hepatotoxischen Medikamenten ausgesetzt. Da die Auswirkungen der medikamentösen Therapie sich interindividuell sehr unterschiedlich darstellen, sollten sie nicht unterschätzt werden. Wie man bereits weiß, gibt es bedingt durch genetische Polymorphismen eine große Variabilität in der Effizienz der Medikamente, sowie in der medikamentenspezifischen Toxizität. Hierbei spielen sowohl Transporter, Enzyme, als auch Rezeptoren der Zielorgane eine entscheidende Rolle (Evans et al. 2001). Des Weiteren ist bekannt, dass Immunabwehr und pro- sowie antiinflammatorische Cytokine, welche durch den genetischen Polymorphismus sowohl des Spenders, als auch des Empfängers variieren, entscheidende Einflussfaktoren für die Inzidenz von Infektionen, GvHD und die Überlebenswahrscheinlichkeit bei der KMT darstellen. Aufgrund dieser Tatsache

untersuchten Rocha et al., ob die medikamentenbedingte Toxizität sowie das Outcome einer KMT durch genetische Polymorphismen beeinflusst werden können. Dabei stellte man fest, dass es bei Patienten, deren Spender Polymorphismen des Gens CYP 2B6 aufwies, zu einem gehäuften Auftreten von VOD kam. Patienten mit MTHFR Polymorphismus waren mit einem erhöhten Risiko für eine akute GvHD behaftet. Interessanterweise konnte kein Zusammenhang zwischen genetischen Polymorphismen und den im Verlauf gemessenen Blutserumwerten festgestellt werden (Rocha et al. 2009). Um die Therapien noch besser individuell anpassen zu können, ohne dabei das Risiko einer massiven Leberschädigung einzugehen, ist die tägliche Überwachung insbesondere der Leberfunktion ein wichtiger Faktor im Rahmen der allogenen SZT. Unter LIMON Diagnostik könnte die Therapie im Einzelfall somit intensiviert werden, ohne dabei einen relevanten Leberschaden erwarten zu müssen.

5.2.2 LIMON Messwerte als Verlaufsparemeter bei KMT Patienten

Das nächste Ziel dieser Arbeit war es, die Aussagekraft der LIMON Messung im Rahmen allogener KMT zu eruieren. Bisher gibt es keine Daten über den Einsatz von LIMON und dessen Sensitivität im Rahmen allogener KMT. Betrachtet man den zeitlichen Gesamtverlauf der R15- bzw. der ICG-Clearance Werte von Tag -12 bis Tag +23, so fiel auf, dass die Ausgangswerte vor der Therapie deutlich niedriger bzw. höher waren, als sie es ab dem Tag der Transplantation und dem weiteren Verlauf der Therapie waren. Trotz hoher Schwankungsbreiten waren derartig niedrige Ausgangswerte der LIMON Messwerte bzw. hohe ICG-Clearance Werte im späteren Verlauf kaum mehr zu finden. Insgesamt gab es interindividuelle Unterschiede, betrachtet man sowohl die Ausgangswerte als auch die Verläufe. Während die meisten Patienten Ausgangswerte der R15 zwischen 1% und 2% aufwies, gab es einige wenige Patienten mit Werten kleiner 1% und größer 4%. Auch die Verläufe der LIMON Messwerte weisen beim Großteil der Patienten eine geringe Schwankungsbreite, bei einigen wenigen Patienten jedoch eine starke Wertschwankung auf. Da es sich bei allen Patienten um initial lebergesunde Patienten handelt, ist die Ursache dieser teils starken Schwankungen am ehesten als organunspezifisch zu werten. Mögliche Ursachen für die intra- und interindividuelle Variabilität könnten zum einen eine unterschiedlich ausgeprägte Durchblutung und die damit in Zusammenhang gebrachte Elimination des Farbstoffes sein. Dabei weiß

man, dass mit zunehmendem Alter die Leberdurchblutung abnimmt. Auch genetische Faktoren, welche die Pharmakokinetik des ICG s beeinflussen, könnten eine mögliche Begründung sein. So könnte beispielsweise die Menge an vorhandenen Membrantransportproteinen, welche den Farbstoff aus der Leber eliminieren, stark variieren; die Zeit der Elimination würde sich drastisch erhöhen und damit falsch hohe Werte liefern. Auch die Anzahl der hepatisch vorhandenen ATP Moleküle korrelieren mit der ICG Exkretion, sodass geringere ATP Mengen höhere ICG Konzentrationen im Serum mit sich bringen (Chijiwa K. et al. 2002). Denkbar wären außerdem Extinktionsabschwächungen durch Wechselwirkungen mit anderen Präparaten, wie sie beispielsweise bei Analgetika wie Metamizol oder Opiaten beobachtet wurden. Extinktionssteigernd hingegen wirkt z.B. Rifampicin. Speziell in der Onkologie scheint dies die starke Variabilität der LIMON Messwerte zu erklären.

5.2.3 LIMON Messwerte gehen hepatischen Laborparametern voraus

Um die qualitative Aussagekraft der LIMON Messwerte evaluieren zu können, wurden in dieser Studie laborchemische, leberspezifische Parameter erhoben, welche mit den R15 Werten in einen zeitlichen Zusammenhang gebracht wurden. Hierbei ergab sich, dass es einen signifikanten Zusammenhang zwischen der R15 und dem am selben Tag bestimmten Bilirubin gibt. So finden sich in beiden Fällen Maximalwerte an Tag +1. Die steigenden Werte stehen mit hoher Wahrscheinlichkeit im engen Zusammenhang mit der vorangegangenen Konditionierungstherapie und weisen auf eine vorübergehende, toxisch bedingte Schädigung der hepatischen Clearance hin. Doch auch im weiteren Verlauf korrelieren hohe Bilirubinwerte mit hohen R15 Werten. Es stellt sich die Frage, warum gerade Bilirubin als Laborparameter den höchsten Korrelationskoeffizienten mit R15 darstellt. Eine mögliche Antwort könnte der ähnliche Stoffwechselweg beider Parameter sein. Bereits 1976 konnte man bei Patienten mit Gilbert-Meulengracht-Syndrom, einer Erkrankung mit hereditärer Transport- und Stoffwechselstörung von Bilirubin ohne eigenen Krankheitswert, erniedrigte LIMON Messwerte nachweisen. Als Vergleichsparameter wurde der heutzutage obsolete Leberfunktionstest BSP (Bromsulphthalein) herangezogen. Dies legte schon damals den Verdacht auf eine Funktionsstörung der Hepatozyten im Sinne einer verminderten Aufnahmekapazität nahe (Martin JE et al. 1976). Eine weitere Theorie für den engen Zusammenhang der LIMON Messwerte mit dem Bilirubin stellt Albumin dar, welches sowohl

Transportprotein des Bilirubins, als auch des ICG s ist. Hohe Bilirubinkonzentrationen konkurrieren mit ICG um die Proteinbindungsstelle des Albumins und verdrängen ICG kompetitiv, was zu einem Anstieg der ICG Konzentration im Blut führen könnte. Besteht jedoch ein Albuminmangel durch verminderte Aminosäureaufnahme oder aber einen Albuminverlust, könnte dies falsch hohe ICG Serum Werte zur Folge haben.

Vor dem Hintergrund, dass das Bilirubin als klinischer Verlaufsparemeter der VOD, als auch zur Klassifikation der GvHD herangezogen wird (Thomas et al. 1975), sollte die Bestimmung der R15 mittels LIMON bei Verdacht auf VOD oder aber auch der GvHD als eine alternative, diagnostische Methode herangezogen werden.

Da sowohl bei der GvHD, der VOD, als auch bei toxisitätsbedingten Leberschäden oft schwere Verläufe zu verzeichnen sind, war die zentrale Frage dieser Arbeit, ob mittels LIMON derartige Komplikationen schneller detektiert werden können, als es mittels herkömmlicher Laborparameter bisher möglich war. Erstaunlicherweise konnte hierbei eine Korrelation der R15 Werte mit der zwei Tage später bestimmten GGT als hepatischen Laborparameter festgestellt werden. Weiter, jedoch schwächer, korrelierten Bilirubin und die AP. Sowohl bei der GGT, als auch bei der AP handelt es sich um Cholestaseparameter, deren Anstieg vor allem in Frühstadien einer Leberfunktionsstörung zu verzeichnen ist. Aufgrund von frühzeitigen Bestimmungen der LIMON Messwerte könnte hierbei bereits die Therapie von Leberfunktionsstörungen forciert werden. Es handelt sich bei der GGT, als auch bei der AP um eher unspezifische Parameter, welche in der Diagnostik der GvHD und der VOD nur eine untergeordnete Rolle spielen. Es sollte Ziel folgender Arbeiten sein, diesem Ergebnis weiter nachzugehen. Ähnliche Daten gibt es im Bereich der Chirurgie. Hierbei konnte ein zeitlicher, signifikanter Zusammenhang bei Patienten beobachtet werden, welche sich hepatische Verletzungen zugezogen hatten. Wiederholte Messungen der PDR und des Bilirubins ergaben, dass die Abnahme der PDR einem Bilirubinanstieg stets voraus ging (Gottlieb et al. 1984). Auch im Rahmen der Leberresektionschirurgie konnten zeitliche signifikante Zusammenhänge zwischen Bilirubin und der PDR festgestellt werden. Niedrige Werte der PDR, welche am 1. postoperativen Tag bestimmt wurden, korrelierten signifikant mit Bilirubinwerten, welche am 1., 5., sowie 10. Tag postoperativ bestimmt wurden. Ähnliche, jedoch weniger signifikante Ergebnisse ergaben sich für die PDR und

Albumin. Die Bestimmung der GGT wurde in diese Studie nicht mit aufgenommen (De Liguori Carino et al. 2009).

5.2.4 Bilirubin korreliert mit Cyclosporin A

Um einen klinischen Zusammenhang zwischen den LIMON Werten und der medikamententoxisch bedingten Leberkomplikationen wieder herstellen zu können, wurden in dieser Studie LIMON Werte mit den Cyclosporin A Spiegeln statistisch untersucht. Hierbei konnte zwar eine Korrelation gefunden werden, diese war jedoch deutlich schwächer als die Korrelation der LIMON Werte mit den Cholestaseparametern. Eine starke Korrelation jedoch zeigte sich bei den Bilirubinwerten mit Cyclosporin A Spiegeln, wobei hierbei die Cyclosporin A TDX AUC- und die Cyclosporin SYVA AUC-Spiegel unterschieden wurden. Werte des Bilirubins korrelierten, sofern man sie am gleichen, ein, zwei oder drei Tage nach dem Cyclosporin A Spiegel bestimmte, stets am stärksten mit den Cyclosporin A TDX AUC Werten. Cyclosporin A TDX beinhaltet Metabolite, sowie die Muttersubstanz des Cyclosporins A, Cyclosporin A SYVA spiegelt lediglich die Muttersubstanz des Cyclosporins A wieder. Eine nicht ganz so starke Korrelation fand sich mit Cyclosporin A SYVA AUC Werten. Eine mögliche Erklärung hierfür wären die hier nicht erfassten Metabolite des Cyclosporins A, welche vor allem für die Cyclosporintoxizität verantwortlich gemacht werden. Der Stellenwert der Metabolite, was die Toxizität, sowie die immunsuppressive Potenz anbelangt, wird in der Literatur allerdings kontrovers diskutiert. Literaturangaben zum immunsuppressiven Potential der Cyclosporinmetaboliten schwanken zwischen 10% und 80% der Potenz der Muttersubstanz (Copeland et al. 1991). Bereits in den frühen 90-er Jahren wurde die immunsuppressive Potenz der Metabolite extensiv untersucht. Auch hier kam es zu widersprüchlichen Ergebnissen. Es stellt sich nun die Frage, warum die R15, welcher eine Korrelation mit Bilirubin nachgewiesen werden konnte, in diesem Falle nicht mit der Cyclosporin A TDX, zu korrelieren war. Folge dessen ist ein ausreichendes Monitoring der hepatotoxischen Cyclosporinmetabolite mittels LIMON nicht gegeben. Einen wichtigeren Stellenwert scheint hierbei das Bilirubin einzunehmen. Eine mögliche Erklärung könnten der ähnliche Eliminationsmechanismus des Bilirubins und der der Cyclosporinmetabolite sein. Hierbei sind jedoch Metabolite der ersten-, von Metaboliten der zweiten Generation zu unterscheiden. So besteht ein signifikanter Zusammenhang des

konjugierten, sowie des gesamten Bilirubins mit einzelnen Metaboliten der 2. Generation, wohingegen bei der Muttersubstanz oder aber auch bei Metaboliten der ersten Generation kein signifikanter Zusammenhang mit dem Bilirubin zu verzeichnen war (Christians U et al. 1995). Da die Cyclosporin A TDX, wie sie in dieser Arbeit verwendet wurde die Gesamtheit aller Metabolite repräsentiert, stellt sich nun die Frage, ob es in Zukunft sinnvoll wäre, einzelne Metabolite der zweiten Generation, welche vor allem für die Hepatotoxizität verantwortlich gemacht werden, zu bestimmen. Hierbei ist sicherlich eine interindividuelle Entscheidung und eine Kosten/Nutzen - Abwägung zu treffen. Da es sich bei Cyclosporin A um ein sehr potentes und vor allem in der Transplantation häufig verwendetes Medikament handelt, scheint es zukünftig sehr wichtig, toxische Komponenten in der Therapie zu minimieren, ohne jedoch die immunsuppressive Potenz zu beeinträchtigen. Ein suffizientes Monitoring zur Kontrolle der toxischen Komponenten wäre hierbei äußerst hilfreich.

5.2.5 Klinische Relevanz beim Einsatz von LIMON in der KMT

Zusammenfassend beschäftigt sich diese Arbeit mit LIMON, als ein in der Medizin bereits lang erprobtes Verfahren. Dieses wurde hier erstmalig im Rahmen der KMT als ein diagnostisches Werkzeug bei Leberfunktionsstörungen untersucht. Zum einen konnte gezeigt werden, dass LIMON speziellen Laborparametern der Leber um mehr als einen Tag vorausgeht, zum anderen sollte jedoch die klinische Relevanz dieses Ergebnisses quantifiziert werden. Betrachtet man alle Laborparametern, sowie LIMON Werte oberhalb der 50. Perzentile, so ergibt sich ein positiv prädiktiver Wert für die GGT von 60%, Werte oberhalb der 75. Perzentile ergaben einen positiv prädiktiven Wert für Bilirubin von über 72%. Werte oberhalb der 95. Perzentile zeigten einen positiv prädiktiven Wert von über 80% für das Bilirubin.

Nach den Daten dieser Studie erscheint der Einsatz von LIMON im Rahmen allogener KMT Therapien als durchaus gerechtfertigt. Da es sich bei dieser Studie jedoch um eine Pilotstudie mit sehr kleinem Patientenkollektiv handelt, sollte es Ziel weiterer Studien sein, den Nutzen und die prognostische Bedeutung von LIMON im Rahmen der KMT Therapie im Detail zu erforschen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Diese Studie beschäftigt sich mit der frühzeitigen Detektion hepatischer Dysfunktionen im Rahmen der allogenen SZT. Hierbei wurde erstmals ein sich in der Medizin bereits lang bewährtes Verfahren namens LIMON eingesetzt, welches ein nicht invasives Monitoring der Leberfunktion ermöglicht. Die mittels LIMON ermittelten ICG-Clearance Parameter wurden den laborchemisch bestimmten Parametern gegenübergestellt und zeitlich miteinander korreliert.

Ergebnisse dieser Arbeit haben gezeigt, dass die LIMON Messung sämtlichen leberspezifischen Laborparametern bis zu zwei Tagen vorausgeht. Die stärkste Korrelation der LIMON Messwerte am gleichen Tag zeigte sich mit dem Bilirubin. Der GGT, sowie der AP gingen die LIMON Messwerte ein bis zwei Tage voraus. Nicht jedoch korrelierten LIMON Messwerte mit Serumspiegel des Cyclosporin A. Allerdings ergab sich eine signifikante Korrelation der Cyclosporin A TDX AUC Werte mit dem Bilirubin. Klinisch bedeutet dies, dass LIMON Messwerte, welche oberhalb der 50. Perzentile liegen, in bis zu 60% der Fälle zwei Tag später GGT Werte mit sich bringen, welche ebenfalls oberhalb der 50. Perzentile liegen. Oberhalb der 75. Perzentile korrelierten LIMON Messwerte bis zu 72,4% mit Bilirubinwerten. Größer der 95. Percentile ergab sich ein positiv prädiktiver Wert für Bilirubin von über 80%.

Da die engmaschige Überwachung sämtlicher Organsysteme in der KMT nach wie vor von großer Bedeutung ist, sollte es zukünftig Ziel sein, einfache, praktikable und auch kostengünstige Systeme des Monitorings zu entwickeln, welche helfen sollten, Komplikationen im Rahmen von KMT frühzeitig zu detektieren, um sie dadurch rechtzeitig behandeln zu können. Der wohl wichtigste Faktor in der KMT Therapie ist die Prävention und die frühzeitige Erkennung transplantationsbedingter Komplikationen. Trotz deutlicher Fortschritte in Prävention und Behandlung sind die Komplikationen einer allogenen SZT nach wie vor mit einer hohen Morbidität und Mortalität behaftet.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- Baker KG: Binding of sulfobromophthalein (BSP) volume in indocyanine green (ICG) by plasma α 1 lipoproteins. Proc Soc Exp Biol Med 1966; 122:957-962
- Benya R, Quintana J, Brundage B: Adverse reactions to indocyanine green as related to angiography. Phys Med Biol. 1978; 23:159-163
- Berdel WE, Böhm M, Classen M, Diehl V, Kcchsiek K, Schmiegel W: Innere Medizin, 5. Auflage, Urban und Fischer Verlag München, Jena 2004; ISBN: 3-437-42830-6
- Borel JF, Feurer C, Magnée C, Stähelein H: Effects of the new anti-lymphotic peptide cyclosporin A in animals. Immunology 1977; 32:1017
- Bunjes D, Buchmann I, Duncker C, et al.: Rhenium 188-labeled anti – CD66 monoclonal antibody to intensify the conditioning regimen prior to stem cell transplantation for patients with high-risk acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome: results of a phase I-II –study. Blood 2001; 98:565-572
- Christians U, Kohlhaw K, Sürig T, Bader A, Schottmann R, Linck A, Ringe B, Sewing KF: Parallel blood concentration of second-generation cyclosporine metabolites and bilirubin in liver graft recipients. Ther Drug Monit. 1995; 17:487-498.
- Cherrick GR, Stein SW, Leevy CM, Davidson CS: Indocyanine green: Observations on its physical properties, plasma decay and hepatic extraction. J Klin Invest 1960; 39:592-600
- Chijiwa K, Mizuta A, Ueda J, Takamatsu Y, Nakamura K, Watanabe M, Kuroki S, Tanaka M: Relation of biliary bile acid output to hepatic adenosine triphosphate level and biliary indocyanine green extraction in humans. World J Surg. 2002; 26:457-461.
- Copeland Kenneth R, Yatscoff Randall W, Mc Kenna Rachel M: Immunosuppressive activity of Cyclosporine metabolites compared and characterized by mass spectroscopy and nuclear magnetic resonance. Clin.Chem. 1991; 36:225-229.
- De Liguori Carino N, O`Reilly DA, Dajani K, Ghaneh P, Poston GJ, Wu AV: Perioperativ use of LIMON method of indocyanine green elimination measurement for the prediction and early detection of post-hepatectomy liver failure. Eur J Surg Oncol. 2009; 35:957-962.
- Dührsen U, Villeval JL, Boyd J et al.: effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. Blood 1988; 72:2074-2081
- Epstein RB, Storb R, Ragde H, Thomas ED: Cytotoxic typing antisera for marrow grafting in littermate dogs. Transplantation 1968; 6:45-58
- Evans WE, Johnson JA. The inherited basis for interindividual differences in drug response. Annu Rev Genomics Hum Genet 2001; 2:9-39.
- Fachinfo- Service; Busilvex®, Stand: April 2007; Diflucan® i.v., Stand: Januar 2008; Endoxan®, Stand: Januar 2005; ICG- Pulsion®, Stand: Juni 2006; Prograf® 5mg/ml, Stand: April 2007; Sandimmun®, Stand: Juli 2006; Sempera®, Stand: Februar 2007; VFEND®, Stand: Juli 2007
- Fever A, Sullivan KM; Weiden P, Buckner CD, Schoch G, Storb R, et al. Graft versus leukemia effect in man: the relaps rate of acute leukemia is lower after allogeneic than after syngeneic marrow. Prog Clin Biol Res 1987; 244:401-408.
- Fiedler G.M., Thiery J.,: Der “fehlerhafte” Laborbefund. Internist 2004; 45:315-332
- Gluckman E, Broxmeyer HE, Auerbach AS, et al.: Hematopoietic reconstitution in patients with Fanconi anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA identical sibling. N. Engl J Med 1989; 321:1174-1178
- Glucksberg H, Storb R, Fefer A, et al.: Clinical manifestation of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors, Transplantation 1974; 18:295-304

- **Gottlieb ME, Stratton HH, Newell JC, Shah DM. Indocyanine green. Its use as an early indicator of hepatic dysfunction following injury in man. Arch Surg.1984; 119:264-268.**
- **Jones RJ, Lee KS, Beschorner WE, et al.: Venooclusive disease of the liver following bone marrow transplantation. Transplantation 1987; 44:778-783**
- **Kimura S, Yoshioka T, Shibuya M, Sakano T, Tanaka R, Matsuyama S: Indocyanine green elimination rate detects hepatocellular dysfunction early in septic shock and correlates with survival. Crit Care Med. 2001; 29:1159-1163.**
- **Kröger N., Zander A.R. et al.: Allogene Stammzelltherapie- Grundlagen, Indikationen und Perspektiven; 1. Auflage; UNI-MED, BREMEN Verlag, 2004; ISBN:3-89599-792-7.**
- **Landsman ML, Kwant G, Mook GA Zijlstra WG:Light-absorbing properties, stability, and spectral stabilization of indocyanine green. J Appl Physiol 1972; 40:575-583**
- **Leevy CM, Leevy CB, Howard MM: Indocyanine green and the liver. Problems in Liver Diseases; Georg Thieme Publishers Stuttgart-New York, 1979; 4:42-52,**
- **Martin JE, Vierlein JM, Wolkoff AW, Scharschmidt BF, Vergalla J, Waggoner JG, Berk PD: Abnormal hepatic transport of indocyanine green in Gilbert`s syndrome. Gastroenterology.1976; 70:385-391.**
- **Mc Donald GB, Sharma P, Matthews DE, et al.: The clinical course of 53 patients with venooclusive disease of the liver after marrow translantation. Transplantation 1985; 39:603-608**
- **Nash A., Antin J.H., Karanes C., Fay J.W., Avalos R., Yeager A.M., Przepiorka D., Davies S., Petersen F.B., Bartels P., Buell D., Fitzsimmons W., Anasetti C., Storb R., Ratanatharathorn V.: Phase 3 study comparing methotrexate and tacrolimus with methotrexate and cyclosporine for prophylaxis of acut graft-versus-host disease after marrow transplantation from unrelated donors. Blood 2000; 96:2062–2068**
- **Ratanatharathorn V., Nash R.A., Przepiorka D, Devine S.M., Klein J.L., Weisdorf D., Fay J.W., Nademanee A., Antin J.H., Christiansen N.P. van der Jagt R., Herzig R.H., Litzow M.R., Wolff S.N., Longo W.L., Petersen F.B., Karanes C., Avalos B., Storb R., Buell D.N., Maher R.M., Fitzsimmons W.E., Wingard J.R.: Phase 3 study comparing methotrexate and tacrolimus (prograf, FK506) with methotrexate and cyclosporine for graft-versus-host disease prophylaxis after HLA identical sibling bone marrow transplantation. Blood 1998; 92:2062-2068**
- **Rocha V, Porcher R, Fernandes JF, Filion A, Bittencourt H, Silva W JR, Vilela G, Zanette DL, Ferry C, Larghero J, Devergie A, Ribaud P, Skvortsova Y, Tamouza R, Gluckman E, Socie G, Zago MA. Association of drug metabolism gene polymorphism with toxicities, graft-versus-host disease and survival after HLA- identical sibling hematopoietic stem cell transplantation for patients with leukaemia. Leukemia 2009; 23:545-556**
- **Ryan J. Hansen, Susan M. Ludeman, Sari J. Paikoff, Anthony E. Pegg, and M. Eileen Dolan: Role of MGMT in Protecting against Cyclophosphamide-Induced Toxicity in Cells and Animals DNA Repair 2007; 6:1145–1154**
- **Sakka SG, Reinhart K, Meier- Hellmann A.: Prognostic value of the indocyanine green plasma disappearance rate in critically ill patients. Chest 2002; 112:1715-1720**
- **Socinski MA, CannistraSA, EliasA. et al.:granulocyte-macrophage colony stimulating factor expands the circulating hematopoietic progenitor cell compartement in man. Lancet 1988; 1:1194-1198**
- **Thomas ED, Storb R, Clift RA, Fever A,Johnson FL, Nejman PE, Lerner KG, Glucksberg H, Buckner CD: Bone marrow transplantation (second of two parts). N Eng J Med 1975; 292:895-902**

- Weiden PL, Flournoy N, Thomas ED, et al: Antileukemic effect of graft –versus-host disease in human recipients of allogeneic-marrow grafts. N. Engl J Med 1979; 300:1068-1073
- Wesslau C, Krüger R, May G :Clinical investigations using indocyanine green clearance for evaluation of liver function in organ donors. Transplantation 1994; 5:7-9.
- Wipper S, Validierung der Fluoreszenzangiographie für die intraoperative Beurteilung und Quantifizierung der Myokardperfusion. Dissertation, LMU München: Medizinische Fakultät 2006
- Zander AR, Berger C, Kröger N, Stockshlader M, Krüger W, Horstmann M, Grimm J, Zeller W, Kabisch H, Erttmann R, Schönrock P, Kuse R, Braumann D, Illiger HJ, Fiedler W, de Witt M, Hossfeld KD, Weh HJ: High dose chemotherapy with busulfan, cyclophosphamide and etoposide as conditioning regimen for allogeneic bone marrow transplantation for patients with acute myeloid leukaemia in first complete remission. 1997; 3:2671-2675

8. WIDMUNG UND DANKSAGUNG

Ich widme die vorliegende Arbeit meinem Mann: Dr. med. Raphael Kland, sowie meinen Eltern: Frau Brigitte und Dr. Hans-Peter Lorenz.

An erster Stelle danke ich Herrn Professor Dr. med. Hiddemann für die Ermöglichung und Überlassung des Themas dieser Dissertation.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Jan Braess, welcher die Vorraussetzungen für diese Arbeit geschaffen hat. Ich bedanke mich für die umfassende Hilfe bei der Planung und Durchführung dieser Arbeit und die jederzeit willkommene und immer konstruktive Kritik in den verschiedenen Entstehungsphasen dieser Arbeit.

Die wahrscheinlich größte Hilfe erhielt ich durch Herrn Dr. med. Bernhard Heilmeier, der mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand und mich in der gesamten Zeit nie im Stich ließ.

Ebenfalls gilt mein Dank allen Mitarbeitern der KMT Stationen im Klinikum Großhadern, die mich in der Durchführung des praktischen Teils stets unterstützten.