

Gerinnungsveränderungen bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Anja Frevel geb. Görg
aus Siegen

Gießen 2005

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin
Medizinische Klinik IV
Leiter: Prof. Dr. H. Pralle
des Universitätsklinikums Gießen

Gutachterin: Frau Prof. Dr. B. Kemkes-Matthes
Gutachter: Herr PD Dr. H. Hackstein

Tag der Disputation: 10.11.2005

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung	6
1.1	Einführung in die Hämostaseologie	6
1.1.1	Tissue factor (TF)	8
1.1.2	Prothrombinfragment F1+2 (F1+2)	10
1.1.3	Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT)	10
1.1.4	D-Dimer	11
1.2	Einführung in die akuten Leukämien	12
1.3	Problemstellung	16
2	Patientenkollektiv und Methoden	18
2.1	Gruppenbeschreibung	18
2.1.1	Kontrollgruppe	19
2.1.2	Gruppe der AML Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung	19
2.1.3	Gruppe der AML Patienten im Verlauf	20
2.1.4	Gruppe der AML Patienten mit Tissue factor Expression auf Monozyten	21
2.1.5	Einschlusskriterien	23
2.1.6	Ausschlusskriterien	23
2.2	Methoden	24
2.2.1	Probengewinnung	24
2.2.2	Gerinnungsparameter im Einzelnen	25
2.2.3	Durchflußzytometrische Bestimmung des Tissue factor auf Monozyten	31

2.3	Statistische Auswertung	34
3	Ergebnisse	35
3.1	Ergebnisse zum Zeitpunkt der Diagnosestellung	35
3.1.1	Quick-Wert (PT)	36
3.1.2	Aktivierte Thromboplastinzeit (aPTT)	38
3.1.3	Fibrinogen	40
3.1.4	Antithrombin (AT)	42
3.1.5	Prothrombinfragment F1+2 (F1+2)	44
3.1.6	Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT)	46
3.1.7	D-Dimer	48
3.1.8	Tissue factor (TF)	50
3.2	Ergebnisse der Verlaufsbeobachtung	52
3.2.1	Prothrombinfragment F1+2 (F1+2)	53
3.2.2	Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT)	56
3.2.3	D-Dimer	59
3.2.4	Tissue factor (TF)	62
3.3	Tissue factor Expression der Monozyten	65
3.4	Korrelation zwischen Gerinnungsaktivierungsmarkern, TF Expression der Monozyten und Outcome der AML Patienten	68

4	Diskussion	70
4.1	Quick-Wert, aPTT, Fibrinogen und Antithrombin	71
4.2	Prothrombinfragment F1+2 und Thrombin-Antithrombin-Komplex	72
4.3	D-Dimer	74
4.4	Tissue Factor	76
5	Zusammenfassung	80
6	Conclusion	81
7	Ausblick	82
8	Abkürzungsverzeichnis	83
9	Literaturverzeichnis	85
10	Anhang	97

1 Einleitung

1.1 Einführung in die Hämostaseologie

Bereits im Jahre 350 vor Christus nahmen die hippokratischen Ärzte an, dass im strömenden Blut „Fasern“ vorliegen, die für die Blutgerinnung verantwortlich sind.

1892 erkannte Alexander Schmidt die Zirkulation einer Vorstufe von Thrombin im Blut, welche den „Faserstoff“ Fibrinogen in Fibrin überführt [Schmidt 1892, Kemkes-Matthes 1991, Müller-Berghaus und Pötzsch 1999].

Paul Morawitz stellte 1905 ein Schema über die Blutgerinnung auf, wonach unter Einwirken von Gewebethromboplastin Prothrombin in Thrombin überführt wird und dieses letztendlich Fibrinogen gerinnen lässt [Morawitz 1905].

Die im Laufe der Zeit neu entdeckten Gerinnungsfaktoren wurden in der Reihenfolge ihrer Entdeckung mit römischen Ziffern versehen und in das Morawitz'sche Schema eingefügt.

Das so entstandene klassische Schema über die plasmatische Gerinnung besteht aus zwei unterschiedlichen Enzymkaskaden, dem intrinsischen und dem extrinsischen Aktivierungsweg. Die Endstrecke beider Kaskaden läuft identisch ab und endet in der Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin.

Heutzutage misst man dem intrinsischen Aktivierungsweg kaum noch Bedeutung bei. Als Hauptaktivierungsweg steht das extrinsische System mit seinem Tissue factor (TF) - aktiviertem Faktor VII (F VIIa) - Komplex als wichtigster Aktivator des Gerinnungssystems im Vordergrund. Durch diese Komplexbildung wird in Anwesenheit von Calciumionen (Ca^{++}) die Gerinnungskaskade aktiviert. Faktor IX (F IX) und Faktor X (F X) werden in ihre aktivierte Form Faktor IXa (F IXa) und Faktor Xa (F Xa) überführt. Durch Umwandlung von Prothrombin in Thrombin kann im weiteren Verlauf unter Einwirkung von Faktor XIII (F XIII) Fibrinogen in Fibrin vernetzt werden [Müller-Berghaus und Pötzsch 1999] (vgl. Abb. 1.1).

In dem Gesamtprozess der Blutgerinnung stehen dem prokoagulatorischen System das fibrinolytische System und die Gerinnungsinhibitoren gegenüber.

Schlüsselenzym der Fibrinolyse ist das Plasmin, welches aus der inaktiven Vorstufe Plasminogen durch Einwirkung von Plasminogen-Aktivatoren wie z.B. Urokinase (u-PA), tissue-Plasminogen-Aktivator (t-PA) oder Streptokinase entsteht. Beim Abbau von

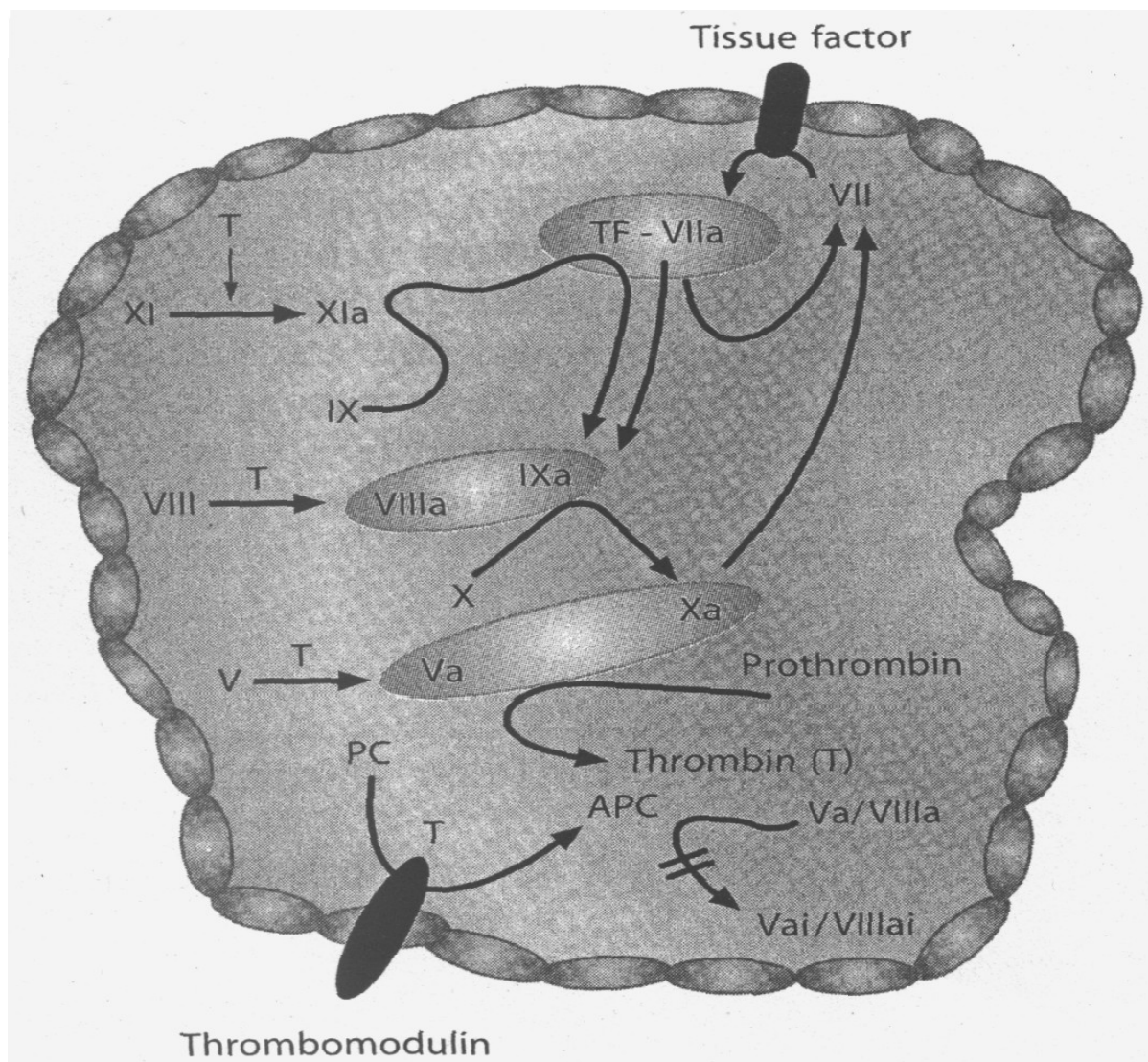


Abbildung 1.1: Die Gerinnungskaskade. Die römischen Ziffern bezeichnen die einzelnen Gerinnungsfaktoren; T Thrombin, a aktivierter Faktor, PC Protein C, APC aktiviertes Protein C, I inaktiver Faktor [Müller-Berghaus und Pötzsch 1999]

quervernetztem Fibrin durch die Serinprotease Plasmin entstehen Spaltprodukte, die sogenannten D-Dimere [Pötzsch und Madlener 2002].

Durch Gerinnungsinhibitoren wird die Thrombinbildung auf das verletzte Areal begrenzt und eine systemische Hyperkoagibilität verhindert. Hierbei spielen Antithrombin (AT), Protein C (PC), Protein S (PS), alpha 2-Makroglobulin, alpha 1-Antitrypsin und C1-Inhibitor wichtige Rollen (vgl. auch Abb. 1.1).

Der Begriff „Hämostase“ beschreibt ein komplexes Zusammenspiel von Prozessen, die für die Fließfähigkeit des Blutes im Gefäßsystem sorgen und einen Beitrag zur Integrität der Gefäßwand leisten.

Der physiologische Normalzustand ist ein dynamisches Gleichgewicht zwischen prokoagulatorischer, antikoagulatorischer und fibrinolytischer Aktivität. Defekte einzelner Komponenten oder Fehlregulationen führen zu einer Dysbalance innerhalb des Hämostasesystems und können entweder Thrombosen oder Hämorrhagien zur Folge haben [Müller-Berghaus und Pötzsch 1999].

1.1.1 Tissue factor (TF)

Tissue factor (synonym: Gewebsthromboplastin, Gewebefaktor, CD 142) ist ein transmembranöses Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 47 kD. Die genetische Information wird von einem einzigen Gen auf Chromosom 1 (p21-p22) kodiert, welches 12 434 Basenpaare (BP) umfasst [Carson et al. 1985, Müller-Berghaus und Pötzsch 1999].

Wegen seiner Strukturähnlichkeit mit den Rezeptoren von Wachstumshormonen und Zytokinen wird der TF-Rezeptor auch zu der Familie der Zytokinrezeptoren gezählt [Bazan 1990].

Tissue factor besteht aus drei Domänen, einer intrazellulären, einer transmembranösen und der extrazellulären Domäne. Letztere fungiert auch als eigentlicher Rezeptor und Cofactor zur Komplexbildung mit dem Gerinnungsfaktor VII (F VII) und seiner aktiven Form Faktor VIIa (F VIIa) [Nemerson 1988, Edgington et al. 1991, Furie und Furie 1992].

TF - F VIIa - Komplex gilt als der wichtigste Aktivator des extrinsischen Gerinnungssystems. Unter normalen Bedingungen findet man intravaskulär nahezu keinen Tissue factor und auch die Zellen, die TF transient exprimieren, sind in ruhendem Zustand Tissue factor - negativ. Kommt es allerdings zu einer Verletzung des Gewebes, kann Tissue factor ins Blut abgegeben werden und die Enzymkaskade wird

aktiviert. Dieser so aktivierte Gerinnungsvorgang läuft unter Beteiligung von TF 100000-mal effizienter ab als durch F VIIa alleine.

Da vor allem Oberflächengewebe wie die Mukosa von Respirations- und Darmtrakt, das Stratum granulosum der Epidermis und das Epithel von Oropharynx und Oesophagus mit TF ausgekleidet sind, belegt dies die These von Lorenzet et al.: „TF represents an envelope whose duty is to stop the loss of blood in the event of tissue injury“ [Lorenzet et al. 1998, Drake et al. 1989].

Das intrazelluläre Bindungsprotein für TF, auch als „actin binding protein“ bezeichnet, beeinflusst die Motilität der Zelle. Demzufolge wird dem TF neben seiner prokoagulatorischen Funktion auch eine wichtige Rolle in Zelladhäsion und -migration zugeschrieben [Sato et al. 1997, Bierhaus et al. 1998]. So spielt TF eine Rolle bei der Atherogenese [Sato et al. 1996], Angiogenese [Bierhaus et al. 1998], Embryogenese [Carmeliet et al. 1996], bei Tumorstadium und -metastasierung [Fischer et al. 1995] sowie bei inflammatorischen Prozessen [Cunningham et al. 1999].

Da in der vorliegenden Studie Monozyten auf ihre transiente Tissue factor Expression hin untersucht werden, soll darauf im Folgenden noch genauer eingegangen werden. Wie bereits erwähnt, ist unter physiologischen Bedingungen intravaskulär nahezu kein TF zu finden und auch die im Blut befindlichen Zellen sind TF-negativ. Durch diese Trennung von Tissue factor und Gerinnungsfaktor VII wird gewährleistet, dass es zu keiner gesteigerten Gerinnungsaktivierung des Blutes kommt. Inzwischen weiß man allerdings, dass unter anderem Monozyten, Endothelzellen und Keratozyten in der Lage sind, unter bestimmten Bedingungen TF auf ihrer Oberfläche zu exprimieren. Als auslösende Faktoren für eine TF Expression gelten u.a. Endotoxin (bakterielle Lipopolysaccharide LPS), verschiedene Zytokine (wie Interleukin-1 und Tumornekrose-Faktor alpha) [Bevilacqua et al. 1986], C-reaktives Protein [Cermak et al. 1993] und maligne Zellen [Lorenzet et al. 1998].

1.1.2 Prothrombinfragment F1+2 (F1+2)

Faktor Xa spaltet Prothrombin zu Thrombin. Dabei wird der N-terminale Anteil des Prothrombinmoleküls, das sogenannte Fragment F1+2 freigesetzt. Erhöhte Prothrombinfragment F1+2 Konzentrationen weisen somit auf eine gesteigerte in-vivo Thrombinbildung hin, wie sie z.B. bei Krankheiten mit Gefäßverschlüssen oder einer gesteigerten intravasalen Gerinnung vorkommt [Barthels und von Depka 2003].

Molekulargewicht von F1+2:	35.000 Da
F1+2 Plasmakonzentration:	0,3-1,2nmol/l
F1+2 Halbwertszeit:	90 min.

1.1.3 Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT)

Thrombin kommt im Blut fast ausschließlich gebunden in einem 1:1 Komplex mit Antithrombin vor. Thrombin wird durch die Bindung an Antithrombin inaktiviert und aus dem Blut entfernt. Durch Heparin wird diese Komplexbildung beschleunigt. Auch dieser Parameter „TAT“ dient dem Nachweis einer gesteigerten Thrombinbildung.

Erhöhte TAT-Konzentrationen werden bei aktivierter, intravasaler Gerinnung, z.B. bei Verbrauchskoagulopathie, venöser bzw. arterieller Verschlusskrankheit oder Polytrauma nachgewiesen [Heimbürger 1989, Barthels und von Depka 2003].

Molekulargewicht von TAT:	90.000 Da
TAT Plasmakonzentration:	< 5µg/l
TAT Halbwertszeit:	< 15 min.

1.1.4 D-Dimer

Wird Fibrin bzw. Fibrinogen durch Plasmin abgebaut, kommt es zur Bildung unterschiedlicher Spaltprodukte, den sogenannten Fibrinospaltprodukten (FSP/ Synonym: D-Dimer, D-Dimer-Antigen) und den Fibrinogenspaltprodukten (FDP/ Synonym: Fibrinogendegenerationsprodukte).

Beim Abbau von Fibrinogen durch Plasmin entstehen zunächst großmolekulare und dann zunehmend kleiner werdende molekulare Degenerationsprodukte, bis aus einem Molekül Fibrinogen zwei D-Degenerationsprodukte und ein E-Degenerationsprodukt entstanden sind.

Die Degradierung des Fibrins ist ähnlich, nur dass zuvor durch Faktor XIIIa die gamma-Ketten der Fibrinmoleküle vernetzt werden und somit jetzt als Endprodukt D-Dimere entstehen [Barthels und von Depka 2003].

Erhöhte D-Dimer Konzentrationen lassen somit auf eine Plasmin- und indirekt auf eine Thrombinämie schließen [Barthels und Poliwoda 1998, Müller-Berghaus und Pötzsch 1999, Barthels und von Depka 2003].

Im Klinikalltag hat die D-Dimer Bestimmung eine große Rolle bei der Diagnostik frischer thromboembolischer Ereignisse gewonnen. Ein negativer D-Dimer Test schließt eine frische Phlebothrombose oder Lungenembolie mit 95 %iger Wahrscheinlichkeit aus [Müller-Bergaus und Pötzsch 1999, Kemkes-Matthes und Oehler 2001].

Erhöhte D-Dimer Konzentrationen findet man z.B. bei Infektionen, malignen Erkrankungen, nach chirurgischen Eingriffen, akutem Coronarsyndrom und in der Schwangerschaft [Kruskal et al. 1987, Gustafsson et al. 1990, Raimondi et al. 1993, Becker et al. 1996].

Molekulargewicht von D-Dimer: 160000-200000 D

1.2 Einführung in die akuten Leukämien

1844 wurde die Bezeichnung „Leukämie“ (weißes Blut) wegen erheblicher Vermehrung von weißen Zellen im Blut bei Patienten mit chronisch myeloischer Leukämie von Rudolf Virchow geprägt [Classen, Diehl und Kochsiek 1998].

Unter diesem Begriff werden verschiedene Erkrankungen zusammengefaßt, die durch maligne Transformation hämatopoetischer oder lymphatischer Zellen entstehen.

Die Unterteilung der Leukämien erfolgt nach

- dem Zelltyp (myeloisch-lymphatisch),
- dem Differenzierungsgrad (reifzellig-unreifzellig),
- dem Verlauf (akut-chronisch),
- leukämischem oder aleukämischem Verlauf, d.h. dem Vorliegen oder Fehlen von Leukämiezellen im Blut,
- primärer (denovo-) oder sekundärer Leukämie

[Classen, Diehl und Kochsiek 1998].

Akute Leukämien werden definiert als Erkrankungen der hämatopoetischen Stammzellen mit Proliferation unreifer Blasten im Knochenmark und meistens auch im Blut [Classen, Diehl und Kochsiek 1998].

Die Diagnose einer akuten myeloischen Leukämie wird bei Vorhandensein von mehr als 20 Prozent myeloischer Blasten in Blut und/oder Knochenmark gestellt [Dietel, Dudenhausen und Suttrop 2003].

Die Einteilung der AML basiert auf der Morphologie, Zytochemie, dem Immunphänotyp sowie auf zytogenetischen und molekularen Merkmalen und wird in der Klassifikation der French American British Group (FAB) zusammengefaßt.

Die Klassifikation der Weltgesundheitsorganisation (WHO) verwendet molekulare (einschließlich zytogenetischer), morphologische und klinische Merkmale (z.B. vorausgegangene hämatologische Erkrankungen) zur Definition eigenständiger Krankheitsentitäten [Dietel, Dudenhausen und Suttrop 2003] (vgl Abb. 1.2).

Tabelle 111-1. Klassifikationssysteme der akuten myeloischen Leukämie

French American British Group (FAB)-Klassifikation^a	
M0	minimal differenzierte Leukämie
M1	myeloblastische Leukämie ohne Reifung
M2	myeloblastische Leukämie mit Reifung
M3	hypergranulierte Promyelozytenleukämie
M4Eo	Variante: Vermehrung abnormer Eosinophiler im Knochenmark
M4	myelomonozytäre Leukämie
M5	monozytäre Leukämie
M6	Erythroleukämie (DiGuglielmo-Krankheit)
M7	megakaryoblastische Leukämie
WHO-Klassifikation^b	
I.	AML mit wiederholter zytogenetischer Translokation AML mit t(8;21)(q22;q22); AML1(CBF α)/ETO akute promyelozytäre Leukämie (AML mit t[15;17][q22;q12] und Varianten; PML/RAR α) AML mit abnormen Knochenmark-Eosinophilen (inv[16][p13q22] oder t[16;16][p13q22] CBF β /MYH11) AML mit 11q23-(MLL)-Veränderungen
II.	AML mit Dysplasie multipler Zellreihen mit vorherigem myelodysplastischen Syndrom ohne vorheriges myelodysplastisches Syndrom
III.	AML und myelodysplastisches Syndrom, therapieinduziert alkylanzieninduziert epipodophyllotoxininduziert andere Formen
IV.	sonstige AML minimal differenziert ohne Reifung mit Reifung akute myelomonozytäre Leukämie akute monozytäre Leukämie akute erythroide Leukämie akute megakaryozytäre Leukämie akute basophile Leukämie akute Panmyelose mit Myelofibrose

^a JM Bennett et al: Ann Intern Med 103:620, 1985

^b NL Harris et al: J Clin Oncol 17:3835, 1999

Abbildung 1.2: Klassifikationssysteme der akuten myeloischen Leukämien [Dietel, Dudenhausen, Suttrop 2003]

Die Inzidenz der akuten Leukämien in Deutschland liegt zwischen 2 und 8/100000 Einwohner pro Jahr. Im Kindesalter überwiegen akute lymphatische Leukämien, während Erwachsene häufiger an akuten myeloischen Leukämien erkranken [Gerok et al. 2000].

Die genaue Ätiologie der Erkrankung ist unklar, aber sicher multifaktoriell. Prädisponierende Faktoren sind ionisierende Strahlen, Chemikalien (v.a. Benzol),

Zigarettenrauchen, Zytostatika (alkylierende Substanzen und Topoisomerase-II-Inhibitoren), bestimmte hereditäre bzw. kongenitale Erkrankungen sowie ein bereits bestehendes myelodysplastisches Syndrom [Classen, Diehl und Kochsiek 1998].

Patienten mit AML weisen zunächst meist unspezifische Symptome wie Leistungsminderung, Nachtschweiß, Fieber oder Appetitlosigkeit auf. Häufig lassen sich diese Symptome über einen Zeitraum von bis zu drei Monaten zurückverfolgen. Der weitere Krankheitsverlauf ist rasch progredient und wird durch Müdigkeit, Infektneigung und Blutungskomplikationen als Ausdruck der zugrundegehenden normalen Hämatopoese geprägt.

Die kurative Behandlung der akuten myeloischen Leukämie besteht in einer zytotoxischen Chemotherapie.

Die meisten Therapieschemata lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Remissionsinduktionstherapie
- Konsolidierung oder Frühintensivierung
- Spätkonsolidierung oder Erhaltungstherapie

[Classen, Diehl und Kochsiek 1998].

Ziel ist, eine komplette Remission (CR) mit Hilfe der Induktionszyklen zu erlangen und diese durch das Postremissionsmanagement auch zu erhalten.

Kriterien für eine komplette Remission (CR) sind hierbei:

- weniger als 5% Blasten im Knochenmark und Blastenfreiheit im peripheren Blut,
- die Wiederherstellung des normalen Blutbildes, d.h.
 - Leukozyten $> 3000/\mu\text{l}$,
 - Thrombozyten $> 100000/\mu\text{l}$,
 - Hb über 10g/dl,
 - keine extramedulläre Manifestation

[Classen, Diehl und Kochsiek 1998].

Bei Therapieversagen oder Frührezidiven steht die Option einer allogenen oder autologen Stammzelltransplantation als potentiell kurativer Ansatz zur Verfügung.

Der bedeutsamste prognostische Einzelfaktor für die Heilungschancen und das Langzeitüberleben bei akuter myeloischer Leukämie ist die Erzielung einer kompletten Remission und deren Erhaltung.

Die Wahrscheinlichkeit, eine CR zu erreichen, die Dauer der CR und die Heilungschancen werden wiederum durch weitere Faktoren beeinflusst. Eine wichtige Rolle spielt hierbei das Therapieregime und das Lebensalter des Patienten bei Therapiebeginn [Dietel, Dudenhausen und Suttrop 2003].

Weitere unabhängige prognostische Faktoren bei Diagnosestellung sind bestimmte Chromosomenaberrationen, Leukozytenzahlen von $>100000/\mu\text{l}$ Blut, eine bereits länger bestehende Anämie, Leukopenie und/oder Thrombozytopenie sowie durch bereits erfolgte zytotoxische Behandlung bzw. Strahlentherapie im Rahmen einer anderen malignen Erkrankung bedingte akute Leukämie, sogenannte sekundäre Leukämie [Dietel, Dudenhausen und Suttrop 2003].

1.3 Problemstellung

Bereits 1865 beschrieb Trousseau den Zusammenhang zwischen malignen Erkrankungen und thromboembolischen Ereignissen. Er beobachtete eine rezidivierende Thrombophlebitis migrans bei Patienten mit Magenkarzinom [Trousseau 1865].

Im Jahre 1932 fand Morrison in seiner Studie bei über 60% der Tumorpatienten eine „verlängerte Blutungszeit“ [Morisson 1932].

Auch jüngere Studien befassen sich mit dieser komplexen Problematik und versuchen, die ursächlichen Zusammenhänge mittels Bestimmung der Gerinnungsparameter aufzuzeigen [Yale 2000].

Klinisch treten Veränderungen im Gerinnungssystem bei Tumorpatienten in unterschiedlicher Form und Schweregrad auf. Dabei reicht die Varianz des Erscheinungsbildes von thromboembolischen Ereignissen bis hin zu schweren Blutungskomplikationen.

In der Tat ist die Blutung oft das erste Symptom einer akuten Leukämie und im weiteren Verlauf kommt es nicht selten zu lebensbedrohlichen hämorrhagischen Komplikationen [Gralnick et al. 1972, Al-Mondhiry et al. 1975].

Ob diesem klinischen Verlauf eine gesteigerte plasmatische Gerinnungsaktivierung oder eine gesteigerte fibrinolytische Aktivität zu Grunde liegt, bleibt derzeit noch unbeantwortet.

Vor diesem Hintergrund befasst sich die vorliegende Studie damit, Veränderungen im Gerinnungssystem bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie zum Zeitpunkt der Diagnosestellung anhand der Bestimmung von Aktivierungsmarkern der plasmatischen Gerinnung und Tissue factor aufzuzeigen.

Mit Hilfe von Verlaufsbeobachtungen soll untersucht werden, ob Gerinnungsveränderungen, abhängig von der Krankheitsaktivität, bestehen.

Desweiteren soll ein möglicher Zusammenhang zwischen Gerinnungsaktivierungsmarkern und dem Outcome der Patienten mit akuter myeloischer Leukämie gezeigt werden.

Untersucht wurden in dieser Studie 52 Patienten mit akuter myeloischer Leukämie zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und im weiteren Verlauf.

Dazu wurden neben den Globaltests der plasmatischen Gerinnung auch die Gerinnungsaktivierungsparameter Prothrombinfragment F1+2, Thrombin-Antithrombin-Komplex, D-Dimer sowie Tissue factor bestimmt.

2 Patientenkollektiv und Methoden

2.1 Gruppenbeschreibung

Im Zeitraum April 1998 bis Dezember 2000 wurden 52 Patienten mit der Erstdiagnose „akute myeloische Leukämie“ hinsichtlich ihrer Gerinnungsparameter untersucht.

Bei 20 der 52 Patienten konnte nach dem ersten Induktionszyklus eine weitere Blutabnahme erfolgen.

11 der 20 Patienten befanden sich zu diesem Zeitpunkt im Zustand einer kompletten Remission.

Bei 9 der 20 Patienten war eine partielle bzw. keine Remission des Krankheitsgeschehens zu verzeichnen.

Bei den übrigen Patienten (n = 32) kam es aus folgenden Gründen zu keiner weiteren Abnahme:

- Versterben des Patienten vor bzw. während der Induktionstherapie bzw. Abbruch der Induktionstherapie wegen schwerwiegender Begleiterkrankungen (n = 12)
- Verzicht auf eine aggressive Induktionstherapie zugunsten einer palliativen Erhaltungstherapie (n = 12)
- Wechsel des Patienten zur Weiterbehandlung in ein anderes, meist heimatnäheres Krankenhaus (n = 4)
- Vorstellung zur Knochenmarkstransplantation (n = 2)
- Patient befand sich zum zweitem Abnahmezeitpunkt, d.h. nach erfolgter Induktionstherapie, in einem akuten Infektionszustand (n = 2).

2.1.1 Kontrollgruppe

Als Kontrollgruppe dienten zehn gesunde Personen, darunter drei Frauen und sieben Männer mit einem Altersdurchschnitt von $42,1 \pm 15$ Jahren.

Bei den Probanden lagen zur Zeit der Probenentnahme keine akuten Erkrankungen vor. Desweiteren waren keine chronischen oder malignen Grunderkrankungen bekannt.

Bei einem Patient war eine Hyperlipidämie anamnestisch zu eruieren. Zwei Probanden neigten zu arterieller Hypertonie.

Keiner der Probanden erhielt eine gerinnungshemmende Therapie, keiner hatte einen Leberschaden.

2.1.2 Gruppe der AML Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung

Im Zeitraum April 1998 bis Dezember 2000 wurden 52 Patienten mit akuter myeloischer Leukämie zum Zeitpunkt der Diagnosestellung untersucht.

Das Gesamtkollektiv ($n = 52$) wurde aufgrund der FAB-Klassifikation in Untergruppen unterteilt.

FAB-Klasse	M1	M2	M3	M4	M5	M7
Patienten (n)	13	16	1	18	3	1
Geschlecht (m/w)	10/3	14/2	1/0	5/13	1/2	1/0
Alterdurchschnitt $\pm s$ (Jahre)	56 ± 15	54 ± 15	59	60 ± 18	61 ± 21	27

Tabelle 2.1: Gruppenstruktur der AML Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung ($n=52$).

2.1.3 Gruppe der AML Patienten im Verlauf

Bei 20 der 52 AML Patienten konnte nach dem ersten Induktionszyklus eine weitere Blutabnahme erfolgen.

Diese 20 im Verlauf beobachteten Patienten wurden nach dem Therapieergebnis des ersten Behandlungszyklusses in zwei Gruppen unterteilt.

In eine Gruppe gelangten die Patienten, die nach erfolgtem Induktionszyklus eine komplette Remission erreichten (n = 11).

Dem gegenübergestellt wurden die Patienten, bei denen eine partielle bzw. keine Remission des Krankheitsverlaufs nach Induktionstherapie zu beobachten war (n = 9).

Bei den übrigen Patienten (n=32) kam es aus den schon zuvor aufgeführten Gründen zu keiner weiteren Abnahme.

Gruppe mit kompletter Remission (n=11)

11 der 20 im Verlauf beobachteten AML Patienten, die nach erfolgter Induktionstherapie eine komplette Remission erreichten. Darunter befanden sich fünf Männer und sechs Frauen mit einem Altersdurchschnitt von $45,5 \pm 16,2$ Jahren.

FAB-Klasse	M1	M2	M3	M4	M5	M7
Patientenzahl (n)	4	4	0	3	0	0
Geschlecht (m/w)	3/1	0/4	0/0	2/1	0/0	0/0

Tabelle 2.2: Gruppenstruktur der AML Patienten mit kompletter Remission nach Induktionstherapie (n = 11).

Gruppe ohne Remission (n = 9)

9 der 20 im Verlauf beobachteten AML Patienten ohne Erreichen einer kompletten Remission nach Induktionstherapie. Darunter befanden sich ein Mann und acht Frauen mit einem Altersdurchschnitt von $63,3 \pm 12,0$ Jahren.

FAB-Klasse	M1	M2	M3	M4	M5	M7
Patientenzahl (n)	1	4	0	3	1	0
Geschlecht (m/w)	1/0	0/4	0/0	0/3	0/1	0/0

Tabelle 2.3: Gruppenstruktur der AML Patienten ohne Remission nach Induktionstherapie (n = 9).

2.1.4 Gruppe der AML Patienten, die auf TF-Expression der Monozyten untersucht wurden (n = 22)

Nach Etablierung des Tests konnte bei 22 der 52 AML Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung zusätzlich die TF-Expression auf Monozyten bestimmt werden. Dabei handelte es sich um die chronologisch letzten 22 Patienten, die mit Erstdiagnose akute myeloische Leukämie in diese Studie aufgenommen wurden.

Darunter befanden sich 9 Männer und 13 Frauen mit einem Altersdurchschnitt von $58,7 \pm 19,7$ Jahren.

FAB-Klasse	M1	M2	M3	M4	M5	M7
Patientenzahl (n)	5	6	0	8	3	0
Geschlecht (m/w)	4/1	1/5	0/0	3/5	1/2	0/0

Tabelle 2.4: Gruppenstruktur der AML Patienten, bei denen TF-Expression der Monozyten untersucht wurde (n = 22).

2.1.5 Einschlusskriterien

Aufgenommen wurden alle Patienten, bei denen im Zeitraum April 1998 bis Dezember 2000 eine akute myeloische Leukämie erstmals diagnostiziert wurde.

Alle Patienten befanden sich zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme vor Beginn des ersten Behandlungszyklusses.

Für die Aufnahme in die Verlaufskontrolle wurden nur die Patienten zugelassen, bei denen eine Induktionstherapie eingeleitet wurde.

2.1.6 Ausschlusskriterien

Ausgeschlossen wurden Patienten, bei denen bereits eine andere maligne Grunderkrankung vorlag und deren AML als sekundäre Leukämie einzustufen war.

Ebenso wurden Patienten mit einer vorher bestehenden myelodysplastischen Proliferation und Patienten mit Zeichen einer Sepsis zum Zeitpunkt der Diagnosestellung ausgeschlossen.

Patienten, die zum Diagnosezeitpunkt unter einer immunsuppressiven Therapie standen, wurden ebenfalls nicht in die Studie aufgenommen.

2.2 Methoden

2.2.1 Probengewinnung

Die erste Blutentnahme erfolgte unmittelbar nach der Diagnosestellung vor Einleitung von Therapiemaßnahmen. Die zweite Entnahme wurde nach erfolgtem Induktionsszyklus vorgenommen.

Nach kurzer venöser Stauung wurde mit einem 21-Gauge Butterfly-Venenpunktionsbesteck aus einer peripheren Vene Blut entnommen.

Zuerst wurde eine EDTA Monovette (à 5 ml) zur Bestimmung der Leukozytenzahl und Leukozytendifferenzierung gefüllt. Anschließend wurden vier Citratmonovetten (à 5 ml; Mischungsverhältnis 1 Teil Natriumcitratlösung plus neun Teile frisch entnommenes Blut) für die Gerinnungsuntersuchungen und die Durchflußzytometeranalyse entnommen. Durch vorsichtiges Schwenken der Entnahmeröhrchen wurde das Blut sorgfältig mit der Anticoagulantienlösung vermischt.

Aus einer Citratmonovette wurden direkt nach Entnahme 500µl Blut abpipettiert und für die Durchflußzytometeranalyse weiterverarbeitet.

Die Globaltests der plasmatischen Gerinnung (Quick-Wert, aPTT, Fibrinogen, Antithrombin) wurden anhand einer Citratmonovette im Gerinnungslabor bestimmt.

Für die spätere Untersuchung der Aktivierungsmarker (Prothrombinfragment F1+2, Thrombin-Antithrombin-Komplex, D-Dimer) und Tissue factor wurden zwei Citratmonovetten zweimal für acht Minuten bei 2000 g zentrifugiert. Das so gewonnene Plasma wurde abpipettiert und zu je ca. 400 µl in Eppendorfgefäße aufgeteilt.

Diese wurden bei -20° C tiefgefroren und bis zur Messung von Prothrombinfragment F1+2 (F1+2), Thrombin Antithrombin-Komplex (TAT), D-Dimer und Tissue factor (TF) aufbewahrt. Vor Gebrauch wurden die Proben für zehn Minuten bei 37° C im Wasserbad aufgetaut.

2.2.2 Die Gerinnungsparameter im Einzelnen

Die Bestimmung von Quick-Wert, aPTT, Fibrinogen- sowie Antithrombin-Konzentration wurde am BCS-Gerät (Behring-Coagulation-Systems) durchgeführt.

Quick-Wert (PT)

Reagenz: Thromborel® S Test der Firma Dade Behring Marburg GmbH, Deutschland

Der sogenannte "Quick-Test" gilt als Screeningmethode, um Störungen im Bereich des extrinsischen Gerinnungssystems (Faktor II, V, VII, X) und des Fibrinogens aufzuspüren.

Der Gerinnungsvorgang in der Probe wird durch Zugabe von Gewebethromboplastin und Calciumionen ausgelöst. Prothrombin wird zu Thrombin, welches Fibrinogen in Fibrin umwandelt. Die Zeit bis zum ersten Auftreten eines Fibringerinnsels wird in Sekunden gemessen.

Diese kann als methodenabhängige Gerinnungsaktivität in Prozent (= Quick-Wert) oder als methodenunabhängige Internationale Normalisierte Ratio (INR) angegeben werden. Der Normalbereich liegt bei 70-130 Quick % bzw. für INR-Wert bei 0,8-1,2.

Aktivierter Partielle Thromboplastinzeit (aPTT)

Reagenz: Pathromtin® SL Test der Firma Dade Behring Marburg GmbH, Deutschland

Die aPTT-Messung gilt als Screeningtest für Störungen, die sich aus dem intrinsischen System (Faktor V, VIII, IX, Fibrinogen und Kontaktfaktoren) ergeben.

In einem ersten Schritt wird das intrinsische System durch Zugabe von gerinnungsaktiven Phospholipiden (partielle Thromboplastine) und einem Oberflächenaktivator (z.B. Kollagen, Basalmembranen) aktiviert.

Durch Zugabe von Calciumionen wird in einem zweiten Schritt der Gerinnungsvorgang gestartet.

Die Zeit bis zum Einsetzen einer Gerinnselbildung wird gemessen und in Sekunden angegeben.

Der Normalbereich liegt zwischen 26-36 sec.

Fibrinogen

Reagenz: Multifibren® U Test der Firma Dade Behring Marburg GmbH, Deutschland

Dieser Test stellt eine Modifikation der Methode nach Clauss (Schnellmethode) dar.

Hierbei wird einer Citratplasmaverdünnung ein Überschuß an Thrombin zugegeben und die Zeit bis zum Auftreten eines Gerinnsels gemessen. Die so bestimmte Gerinnungszeit hängt dabei weitgehend vom Fibrinogengehalt der Probe ab und wird nicht von Thrombin hemmenden Substanzen, wie z.B. Heparin in therapeutischen Konzentrationen, beeinflusst.

Unter diesen Bedingungen ist die gemessene Gerinnungszeit eine direkte Funktion der Fibrinogenkonzentration der Probe.

Die Konzentration wird in g/l angegeben.

Der Normalbereich beträgt 1,77-4,00 g/l.

Antithrombin (AT)

Reagenz: Berichrom® Antithrombin III (A) der Behringwerke Marburg GmbH, Deutschland

Das Antithrombin der Probe wird durch Zugabe von Heparin in einen Sofort-Inhibitor überführt, der alpha-Thrombin inaktiviert. Der Restthrombingehalt der Probe wird in

einem kinetischen Test mit Extinktionszunahme bei einer Wellenlänge von 405 nm bestimmt.

Als chromogenes Substrat dient bei diesem Test D-Cyclohexylalanyl-alpha-aminobutyryl-para-nitroanilid (Hd-CHA-But-Arg-pNA).

Die Extinktion nimmt linear mit der sich in der Probe befindlichen Antithrombinkonzentration ab.

Der Normalbereich liegt bei 70 – 130 % der Norm.

D-Dimer

Reagenz: Asserachrom[®] D-Dimer der Firma Diagnostica Stago Roche

Die Methode dieses Tests beruht auf einem enzymimmunologischen Assay nach dem Sandwichprinzip.

Die auf einem Mikrotitrationsstreifen fixierten Antikörper gegen D-Dimer binden in einer ersten Immunreaktion Fibrinspaltprodukte in der Probe. Da D-Dimer mehrere antigene Determinanten besitzt, werden in einer zweiten Immunreaktion mit Hilfe POD-markierter FDP-D Antikörper Sandwich-Komplexe gebildet. Die Menge der Sandwich-Komplexe ist ein Maß für den D-Dimer-Gehalt der Probe.

Der POD-Konjugatüberschuss wird in einem nachfolgenden Waschschrift entfernt (bound-free-separation).

Die gebundene POD-Aktivität wird nach Zusatz von Harnstoffperoxid und Chromogen(o-Phenylendiamin) photometrisch bei einer Wellenlänge von 450 nm bestimmt.

Zu jeder Serie muss eine Bezugskurve mit D-Dimer Standardlösungen erstellt werden. Die gemessenen Extinktionswerte werden auf doppelt logarithmischem Papier gegen ng/ml D-Dimer aufgetragen.

Als Normbereiche gelten hierbei Werte < 500 ng/ml Fibrinogen-Äquivalente bzw. 250 ng/ml D-Dimer.

Prothrombinfragment F1+2 (F1+2)

Reagenz: Enzygnost® F1+2 micro der Firma Dade Behring Marburg GmbH, Deutschland

Methodisch beruht dieser Test ebenfalls auf einem Enzymimmunoassay nach dem Sandwich-Prinzip.

In einer ersten Immunreaktion binden die auf der Oberfläche eines Mikrotitrationsstreifens fixierten F1+2-Antikörper die in der Probe befindlichen Prothrombinfragment F1+2-Antigene. Nach Auswaschen werden in einer zweiten Reaktion Peroxidase-konjugierte Antikörper gegen Human-Prothrombin an die freien F1+2-Determinanten gebunden. In einem weiteren Waschschriff werden die noch überschüssigen konjugierten Antikörper entfernt. Danach wird die gebundene Enzymaktivität bestimmt.

Die enzymatische Umsetzung von Wasserstoffperoxid und Chromogen wird durch Zusatz von verdünnter Schwefelsäure unterbrochen. Die entstandene Farbintensität wird photometrisch bei einer Wellenlänge von 492 nm gemessen. Die Extinktion der Lösung ist proportional der F1+2 Konzentration der Probe.

Eine Bezugskurve wird mit Hilfe der Standards S1 - S4 erstellt, die den Konzentrationsbereich von 0,04 - 10 nmol/l abdecken.

Die Normwerte liegen bei 0,4 - 1,2 nmol/l.

Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT)

Reagenz: Enzygnost® TAT micro der Firma Behring Marburg GmbH, Deutschland

Dieser Test ist ebenfalls ein Enzymimmunoassay nach dem Sandwich-Prinzip. Die auf der Oberfläche einer Mikrotitrationsplatte fixierten Antikörper binden in einer ersten Immunreaktion die in der Probe vorhandenen Thrombin-Antithrombin-Komplexe (TAT). In einer zweiten Reaktion binden sich - nach Auswaschen der Probe - POD-konjugierte Antikörper gegen Antithrombin an die AT-Determinanten des TAT-

Komplexes. Die nicht gebundenen konjugierten Antikörper werden abermals ausgewaschen. Anschließend wird die gebundene Enzymaktivität bestimmt.

Die enzymatische Umsetzung von Wasserstoffperoxid und Chromogen wird durch Zugabe von verdünnter Schwefelsäure unterbrochen. Die entstandene Farbintensität kann bei einer Wellenlänge von 492 nm photometrisch gemessen werden. Die gemessene Extinktion der Probe ist proportional der Thrombin-Antithrombin-Komplex Konzentration (TAT).

Mit TAT – Standard - Plasmen wird eine Bezugskurve erstellt, die den Konzentrationsbereich von 2 - 60 µg/l abdeckt.

Der Normalbereich liegt bei < 5 µg/l.

Tissue factor (TF)

Reagenz: IMUBIND® Tissue Factor Elisa Kit, Product #845 der Firma American Diagnostics Inc., Greenwich

Bei diesem Test handelt es sich ebenfalls um einen Enzymimmunoassay für die quantitative Bestimmung von menschlichem Tissue factor (TF, Gewebsthromboplastin) im Plasma. Der Test erkennt TF, TF-apo und TF-F VII-Komplexe und wird nicht von anderen Gerinnungsfaktoren und –inhibitoren prokoagulatorischer Aktivität beeinflusst. Er ist ausschließlich für Forschungszwecke geeignet.

In einer ersten Immunreaktion binden sich die auf einer Mikrotitrationsplatte fixierten Antikörper gegen humanen Tissue factor mit dem Tissue factor der Probe. Anschließend binden sich in einer zweiten Reaktion HRP-(Streptavidin-horseradish-peroxidase) konjugierte Antikörper mit den gebundenen TF-Determinanten.

Die enzymatische Reaktion wird photometrisch bei einer Wellenlänge von 450 nm erfasst.

Mit Hilfe von Standardlösungen wird eine Bezugskurve erstellt, mit der die Extinktionen der Proben verglichen werden.

Eine solche Bezugskurve sollte für jede Bestimmung neu erstellt werden (vgl. Abb. 2.1).

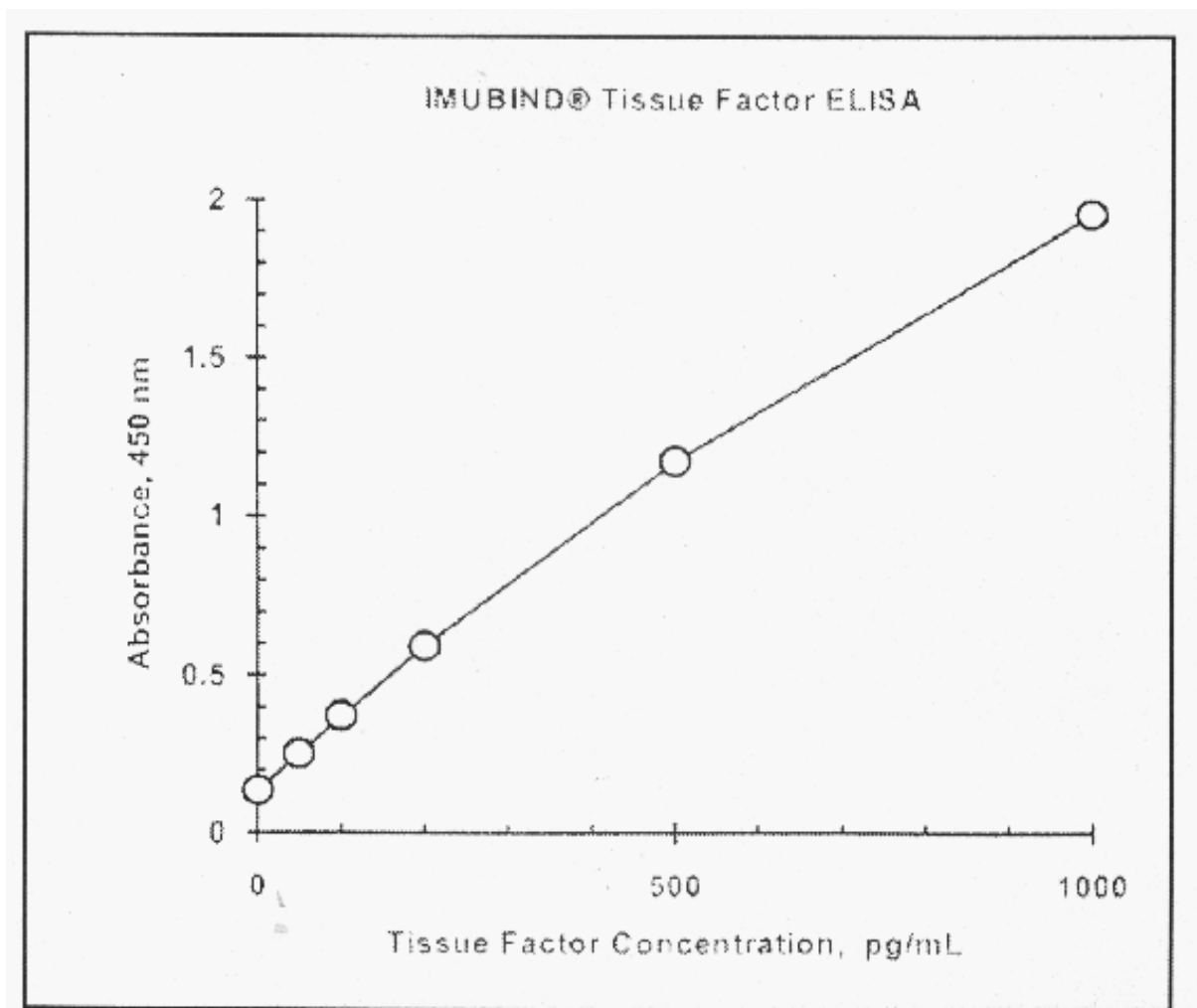


Abbildung 2.1: Repräsentative Standardkurve aus dem IMBUND® Tissue factor ELISA Kit.

2.2.3 Durchflußzytometrische Bestimmung der Tissue factor Expression auf Monozyten.

Unmittelbar nach Entnahme der Blutproben werden 500µl Citratblut aus einer Monovette zur Probenaufbereitung für die durchflußzytometrische Bestimmung der TF-Expression auf Monozyten entnommen.

Jeweils 100 µl des Citratblutes werden auf den Boden der Durchflußzytometerröhrchen pipettiert und mit den fluoreszierenden Antikörpern versetzt. Die spezifische Probe wird mit 5µl Anti-CD-14 PE (Immunotech-Coulter) zur Erkennung der Monozyten und mit Anti-Tissue factor FITC (American Diagnostic Inc.) markiert.

Als Isokontrolle dient ein Ansatz mit ebenfalls Anti-CD14 PE (Immunotech-Coulter) Markierung. Im Gegensatz zur spezifischen Probe wird hier ein unspezifisch bindender IgG-Mouse FITC Antikörper (Immunotech-Coulter) eingesetzt. Beide Proben werden im Doppelansatz geführt.

Die so vorbereiteten Proben werden bei 4°C im Dunkeln für 30 Minuten inkubiert.

Nach der Inkubation werden in jedes Röhrchen 2 ml „FACS Lysing Solution“ (Becton Dickinson) pipettiert. Dieser Vorgang dient dazu, die Erythrozyten zu lysieren und gleichzeitig die Leukozyten und Thrombozyten zu fixieren. Exakt drei Minuten nach Zugabe der „FACS Lysing Solution“ werden in jedes Röhrchen 2 ml „Cell Wash“ Lösung (Becton Dickinson) pipettiert, um den Lysevorgang zu stoppen. Die Ansätze werden für acht Minuten bei 300 g zentrifugiert, die Überstände dekantiert und die Zellsedimente in 4 ml „Cell Wash“ Lösung resuspendiert.

Anschließend werden die Ansätze ein zweites Mal für acht Minuten bei 300 g zentrifugiert. Nach Dekantieren der Überstände werden die Zellsedimente in 300 µl „Cell Wash“ Lösung mit 1%igem Formaldehyd resuspendiert.

Die so aufgearbeiteten Proben sind nach eigenen Versuchen für 12 Stunden bei 4°C lagerungsstabil.

Gemessen und ausgewertet werden die Proben an einem Durchflußzytometer der Firma Beckman Coulter.

Prinzip dieser Messung ist, dass die Zellen in einer Flüssigkeit nahezu einzeln die Meßkapillare des Durchflußzytometers passieren. Die einzelnen Zellen werden mit Hilfe von Laserdetektoren erfaßt und entsprechend ihrer Größe, Granularität und gebundenen fluoreszierenden Antikörpern differenziert.

Die erfassten Zellen werden graphisch als Punktwolken in Koordinatensystemen/Quadranten dargestellt und analysiert.

Um die Monozyten aus der Gesamtheit der Zellen zu separieren, werden in einem ersten Analyseschritt die CD 14 (hier Fluoreszenz 1, PE) positiven Zellen unter Berücksichtigung ihrer Granularität im Side scatter gegatet.

Diese CD 14 positiven Zellen werden anschließend auf ihre TF-Expression (hier Fluoreszenz 2, FITC) hin untersucht (vgl. Abb. 2.2).

Als Maß der TF-Expression gilt hier die mittlere Fluoreszenzintensität (MFI). Diese ergibt sich aus der Differenz der mittleren Fluoreszenzintensität (MFI) der spezifischen Probe und der MFI der Isokontrolle.

Mit LPS (bakterielle Lipopolysaccharide) stimulierte Proben werden als Positivkontrolle zu jedem Ansatz mitgemessen.

BECKMAN COULTER

COULTER(R) EPICS(R) Acquisition Flow Cytometry Report

11Sep00 17:07:32

anja2

Z0001981

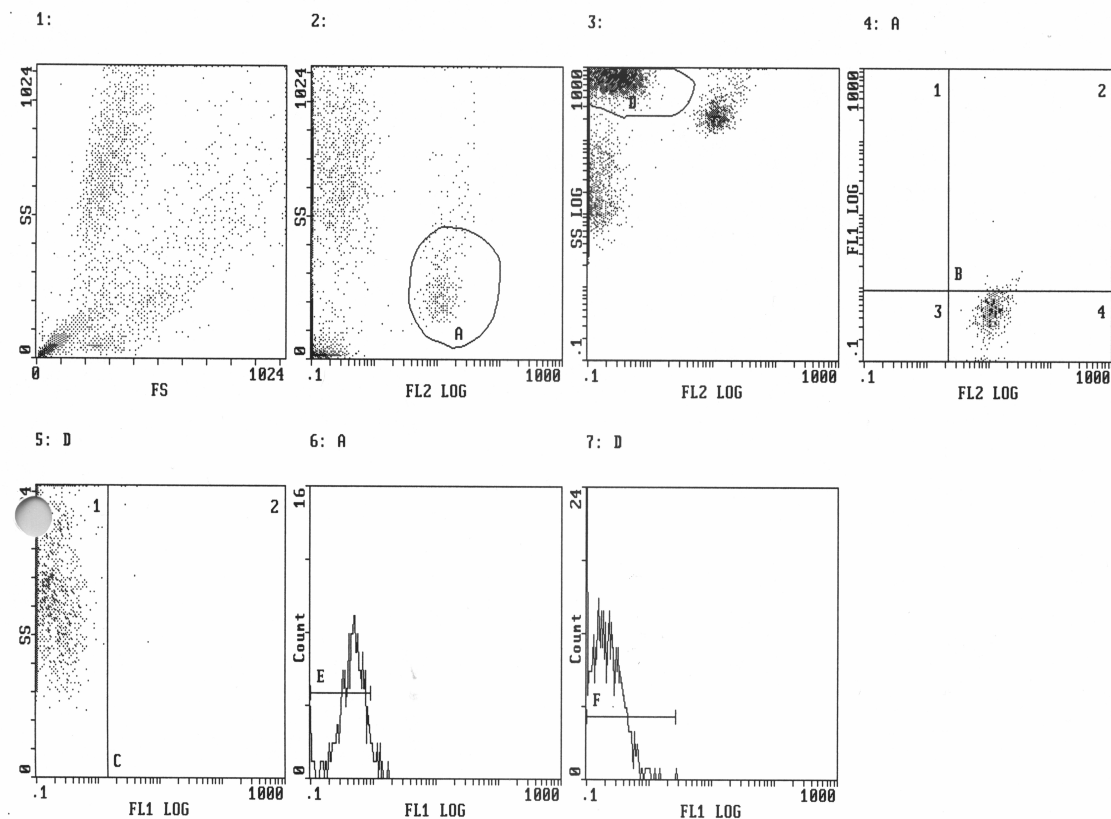
TF 1

OP ID: NAME

14 seconds, 29492 events

Manual Stop

Initial cytosett. from prot. anja2



Stats: Normalized, Listgating: Disabled

Hist	Region ID	%	Count	Mn X	Mn Y	PkPosX	PkPosY	PkCnt	FPCVX	FPCVY
2	A A	3.01	889	11.6	241.9	10.2	192.0	9	37.96	32.75
3	D D	12.1	3556	0.224	599.0	0.102	618.8	194	71.54	27.62
4	B1 B	0.00	0	****	****	****	****	**	**	**
	B2 B	6.64	59	17.1	1.32	13.7	0.953	4	45.23	92.69
	B3 B	0.00	0	****	****	****	****	**	**	**
	B4 B	93.4	830	11.3	0.431	11.0	0.464	10	35.78	46.80
	C1 C	99.6	3543	0.153	640.9	0.102	616.0	51	53.72	26.78
	C2 C	0.37	13	3.31	844.3	1.47	664.0	1	70.54	29.00
	C3 C	0.00	0	****	****	****	****	**	**	**
	C4 C	0.00	0	****	****	****	****	**	**	**
Hist	Region ID	%	Count	Mn X	Md X	PkPosX	PkCnt	HPCV	Min	Max
6	E E	91.5	813	0.455	0.482	0.508	14	0.72	0.104	0.936
7	F F	99.8	3549	0.157	0.109	0.102	1730	0.00	0.102	2.75

Abbildung 2.2: Protokoll einer durchflußzytometrischen Untersuchung der Monozyten auf TF Expression. FS Forward scatter, SS Side scatter, FL1 Fluoreszenz 1 (hier TF/FITC), FL2 Fluoreszenz 2 (hier CD14/PE).

In Quadrant 2 des Protokolls sind die CD 14 positiven Zellen - entsprechend ihrer Granularität im Side scatter und Fluoreszenzmarkierung FL2 - gegatet (A).

In Quadrant 4 und 6 werden die gegateten Zellen (CD14) auf ihre TF Expression analysiert.

2.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten wurde am Institut für medizinische Informatik (Leiter: Prof. Dr. Dudeck) in Zusammenarbeit mit Herrn Pabst durchgeführt.

Die Daten wurden mithilfe des Programms Excel 97 der Firma Microsoft auf einem Personalcomputer erfasst. Für die statistische Auswertung wurde SPSS für Windows (Version 6.1.3) verwandt.

Unter Annahme einer Normalverteilung der beobachteten Parameter wurden, zur Deskription der Daten innerhalb einer Gruppe, der Mittelwert und die Standardabweichung bestimmt. Darüber hinaus wurden der Median, das Minimum und Maximum angegeben.

Um mögliche Unterschiede zwischen Kontrollgruppe und dem Patientenkollektiv - unterteilt in die einzelnen FAB-Klassen - nachzuweisen, wurde der Mann-Whitney-U Wilcoxon Test angewandt.

Die Frage, ob Unterschiede vor und nach Therapie bei den beobachteten Parametern der Patientengruppen bestehen, wurde mit Hilfe des Wilcoxon Matched-Pairs Signed-Ranks Tests bearbeitet.

Korrelationen der einzelnen Parameter untereinander wurden mit dem Spearman-Correlation-Coefficient bzw. Korrelationen der Gerinnungsmarker zu den Überlebenszeiten bzw. Therapieergebnissen mit der Cox-Regression für Überlebensdaten beschrieben.

Die Interpretation der Ergebnisse erfolgte im Sinne der explorativen Datenanalyse. Hier wurde die Wahrscheinlichkeit p für das beobachtete oder ein extremeres Ereignis angegeben, welches die Beibehaltung oder Ablehnung der Nullhypothese erlaubt.

3 Ergebnisse

3.1 Ergebnisse zum Zeitpunkt der Diagnosestellung

Zunächst soll die Auswertung der Parameter erfolgen, die zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bestimmt wurden. Zusätzlich zu den globalen Gerinnungsparametern Quick-Wert (PT), aktivierte Thromboplastinzeit (aPTT), Fibrinogen und Antithrombin (AT) kommen die Aktivierungsmarker der plasmatischen Gerinnung wie Prothrombinfragment F1+2 (F1+2), Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT), D-Dimer sowie Tissue factor (TF) zur Darstellung.

Die Werte der AML Patienten - unterteilt in die einzelnen FAB-Klassen – zum Zeitpunkt der Diagnosestellung werden den Werten der Kontrollgruppe gegenübergestellt und auf einen möglichen Unterschied hin untersucht.

Die Ergebnisse werden in Form von Median, Minimal- und Maximal-Wert tabellarisch sowie graphisch dargestellt.

Die FAB-Klassen M3, M5, M7 werden in der tabellarischen Darstellung der Ergebnisse mitaufgeführt, aufgrund der geringen Fallzahl in den Graphiken jedoch nicht berücksichtigt.

3.1.1 Quick-Wert (PT)

Bei dem Parameter Quick-Wert ist kein signifikanter Unterschied zwischen AML Patienten – unterteilt in die einzelnen FAB-Klassen – und der Kontrollgruppe zu beobachten ($p = 0,07$). Die Median-Werte der einzelnen Gruppen liegen mit Ausnahme der Gruppe M7 ($n=1$) im 95% Konfidenzintervall der Normalbevölkerung.

Gruppe	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard-abweichung
Kontroll-Gruppe (n=10)	97,5	88,0	110	97,3	6,7
M1 (n=13)	86,0	64,0	106,0	83,6	13,1
M2 (n=16)	97,0	75,0	120,0	96,5	13,2
M3 (n=1)	102	102	102	102	0,0
M4 (n=18)	86,5	47,0	113,0	87,1	19,4
M5 (n=3)	81,0	43,0	88,0	70,67	24,2
M7 (n=1)	55,0	55,0	55,0	55,0	0,0

Tabelle 3.1.1: Quick-Werte (% der Norm) der AML Patienten – unterteilt in die einzelnen FAB-Klassen - zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und der Kontrollgruppe.

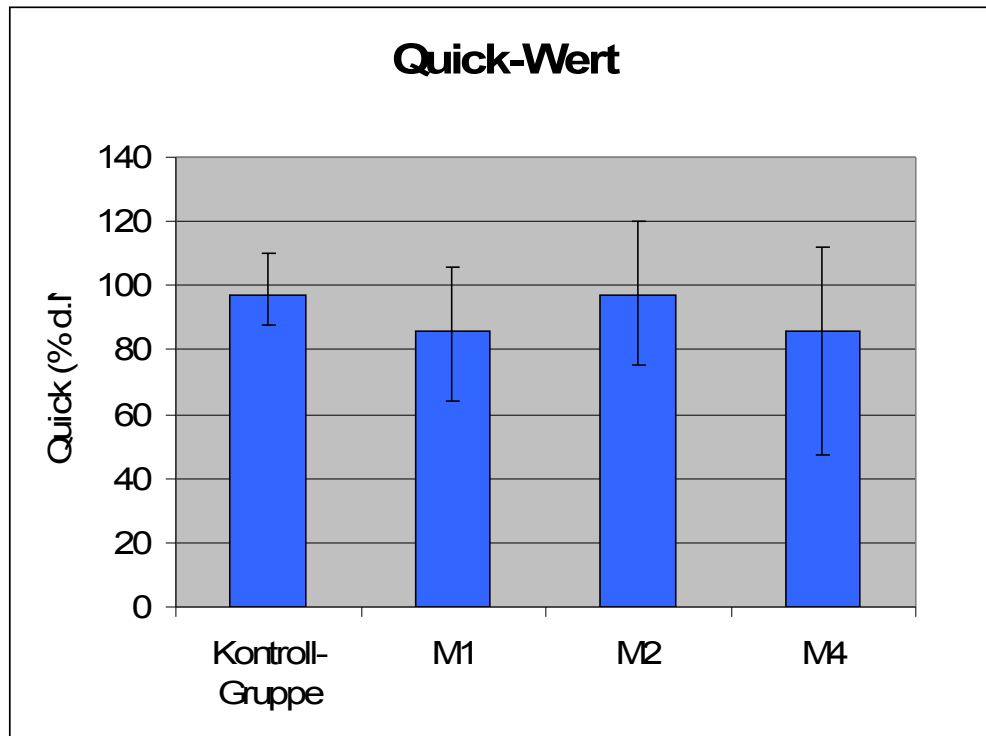


Abbildung 3.1.1: Median-Werte, Minimum und Maximum der Quick-Werte (% der Norm) bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (dargestellt sind die FAB-Klassen M1, M2 und M4) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung im Vergleich zur Kontrollgruppe.

3.1.2 Aktivierter Thromboplastinzeit (aPTT)

Bei der aktivierten Thromboplastinzeit ist kein signifikanter Unterschied zwischen AML Patienten – unterteilt in die einzelnen FAB-Klassen - und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der Diagnosestellung zu erkennen ($p = 0,06$).

Alle Median-Werte der einzelnen Gruppen liegen im Vertrauensbereich der Normalbevölkerung.

Gruppe	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard- abweichung
Kontroll- gruppe (n=10)	29	25	35	29,5	3,1
M1 (n=13)	33	23	89	39,3	19,3
M2 (n=16)	30	21	68	32,8	10,7
M3 (n=1)	32,0	32,0	32,0	32,0	0,0
M4 (n=18)	33	22	53	34,2	7,9
M5 (n=3)	36,0	28,0	39,0	34,3	5,7
M7 (n=1)	36,0	36,0	36,0	36,0	0,0

Tabelle 3.1.2: aPTT-Werte (Sekunden) der AML Patienten – unterteilt in die einzelnen FAB-Klassen - zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und der Kontrollgruppe.

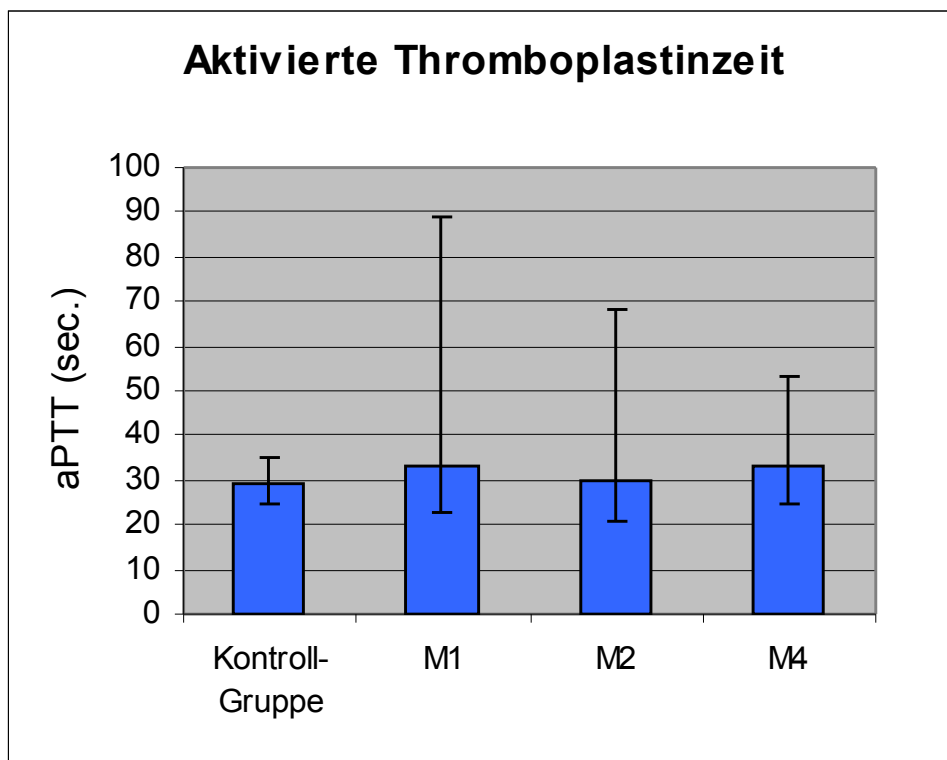


Abbildung 3.1.2: Median-Werte, Minimum und Maximum der aPTT-Werte (Sekunden) bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (dargestellt sind die FAB-Klassen M1, M2 und M4) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung im Vergleich zur Kontrollgruppe.

3.1.3 Fibrinogen

Zwischen den Fibrinogen-Werten der einzelnen FAB-Klassen der AML Patienten und der Kontrollgruppe zeigt sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,09 kein signifikanter Unterschied. Patienten mit FAB-Klasse M1 tendieren zu leicht erhöhten Werten und liegen mit einem Median von 4,8 g/l knapp oberhalb des Normalbereiches.

Gruppe	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard-abweichung
Kontroll-Gruppe (n=10)	3,45	2,30	4,20	3,38	0,58
M1 (n=13)	4,80	1,30	M1	4,50	2,01
M2 (n=16)	3,60	1,60	8,00	3,99	1,82
M3 (n=1)	7,80	7,80	7,80	7,80	0,0
M4 (n=18)	4,00	1,00	7,70	4,26	1,73
M5 (n=3)	3,80	1,90	4,90	3,53	1,52
M7 (n=1)	3,80	3,80	3,80	3,80	0,0

Tabelle 3.1.3: Fibrinogen-Werte (g/l) der AML Patienten – unterteilt in die einzelnen FAB-Klassen - zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und der Kontrollgruppe.

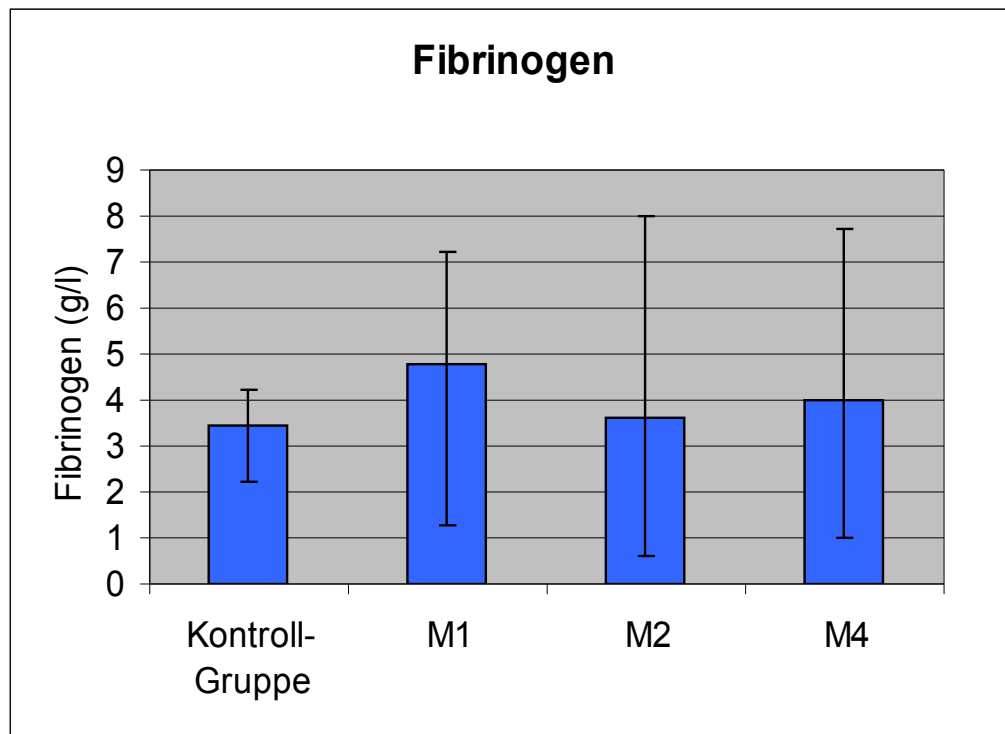


Abbildung 3.1.3: Median-Werte, Minimum und Maximum der Fibrinogen-Werte bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (dargestellt sind die FAB-Klassen M1, M2 und M4) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung im Vergleich zur Kontrollgruppe.

3.1.4 Antithrombin (AT)

Die Antithrombin-Werte zeigen keinen signifikanten Unterschied zwischen den einzelnen FAB-Gruppen der Patienten mit akuter myeloischer Leukämie im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p = 0,16$).

Die Median-Werte der einzelnen Gruppen liegen im Normalbereich.

Gruppe	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard-abweichung
Kontroll-Gruppe (n=10)	95,5	80,0	105,0	95,6	6,7
M1 (n=13)	86,0	56,0	107,0	84,3	15,8
M2 (n=16)	91,0	34,0	120,0	91,3	19,8
M3 (n=1)	143,0	143,0	143,0	143,0	0,0
M4 (n=18)	86,0	71,0	126,0	92,0	17,1
M5 (n=3)	87,0	82,0	95,0	88,0	6,56
M7 (n=1)	60,0	60,0	60,0	60,0	0,0

Tabelle 3.1.4: Antithrombin-Werte (% der Norm) der AML Patienten – unterteilt in die einzelnen FAB-Klassen - zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und der Kontrollgruppe.

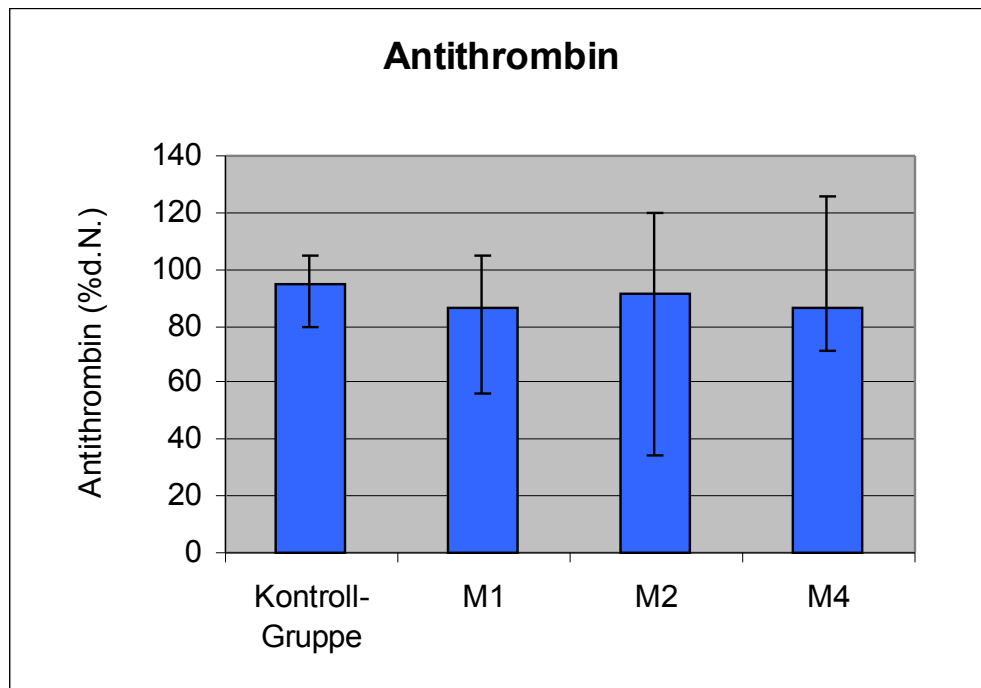


Abbildung 3.1.4: Median-Werte, Minimum und Maximum der Antithrombin-Werte (% der Norm) bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (dargestellt sind die FAB-Klassen M1, M2 und M4) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung im Vergleich zur Kontrollgruppe.

3.1.5 Prothrombinfragment F1+2

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,02 besteht zwischen den Patienten mit akuter myeloischer Leukämie und der Kontrollgruppe ein signifikanter Unterschied bezüglich der Prothrombinfragmente F1+2 Konzentration zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Die Median-Werte der F1+2-Konzentrationen der AML Patienten – unterteilt in die einzelnen FAB-Klassen - sind im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht und liegen alle oberhalb des Normalbereiches.

Gruppe	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard- abweichung
Kontroll- Gruppe (n=10)	0,75	0,30	3,10	1,34	1,13
M1 (n=13)	1,80	0,50	12,00	3,39	3,47
M2 (n=16)	2,10	0,60	12,5	4,34	3,99
M3 (n=1)	1,90	1,90	1,90	1,90	0,0
M4 (n=18)	2,00	0,70	9,40	3,22	2,74
M5 (n=3)	1,40	0,90	1,50	1,40	0,32
M7 (n=1)	9,50	9,50	9,50	9,50	0,0

Tabelle 3.1.5: Prothrombinfragment F1+2-Werte (nmol/l) bei AML Patienten – unterteilt in die einzelnen FAB-Klassen - zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und der Kontrollgruppe.

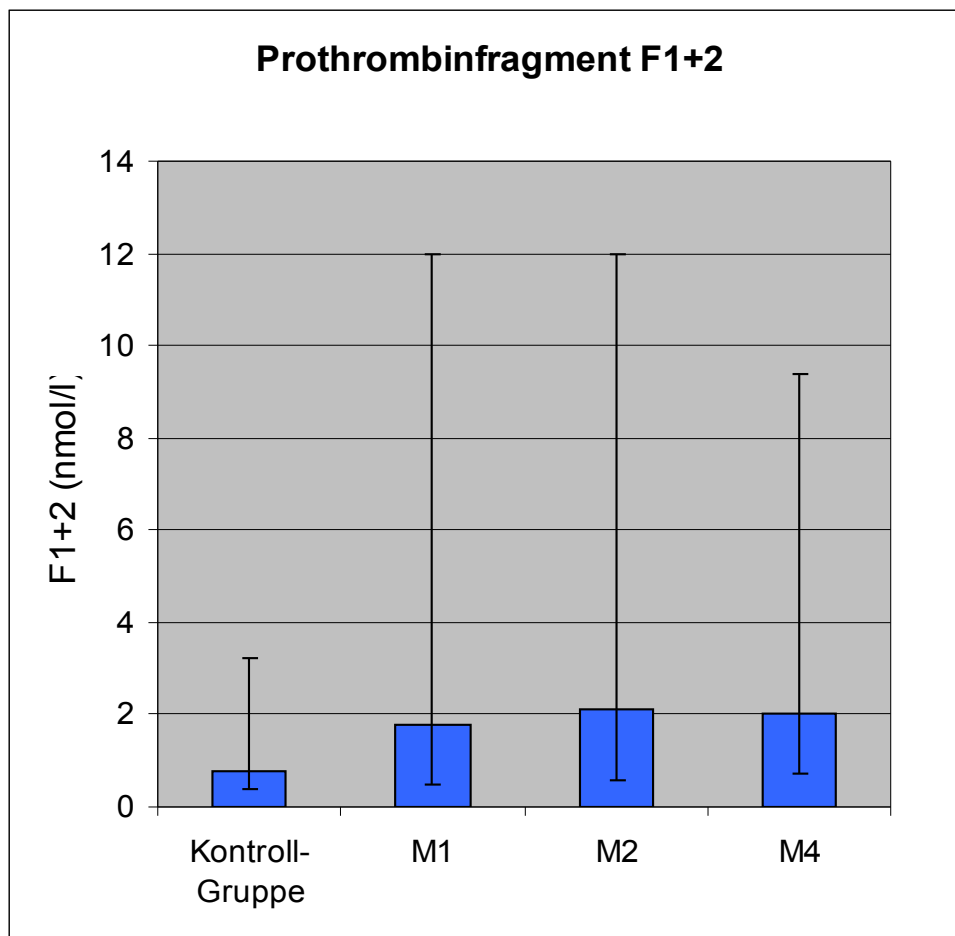


Abbildung 3.1.5: Median-Werte, Minimum und Maximum der Prothrombinfragment F1+2-Werte (nmol/l) der Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (dargestellt sind die FAB-Klassen M1, M2 und M4) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung im Vergleich zur Kontrollgruppe.

3.1.6 Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT)

Zwischen den einzelnen FAB-Klassen der Patienten mit akuter myeloischer Leukämie zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und der Kontrollgruppe findet sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der Thrombin-Antithrombin-Komplex Konzentration ($p = 0,5$).

Alle Median-Werte der einzelnen FAB-Klassen der AML Patienten und der Kontrollgruppe befinden sich oberhalb des Normalbereichs. Bei den FAB-Klassen M2 und M4 liegen die Median-Werte deutlich, d.h. bis um das drei- bis fünffache oberhalb des Normalbereiches.

Gruppe	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard-abweichung
Kontroll-Gruppe (n=10)	6,05	2,00	84,0	31,59	35,59
M1 (n=13)	6,80	1,80	148,0	21,25	40,13
M2 (n=16)	35,25	2,00	184,0	47,30	52,81
M3 (n=1)	5,40	5,40	5,40	5,40	0,0
M4 (n=18)	19,85	2,80	168,0	43,67	51,19
M5 (n=3)	7,80	3,40	44,0	18,4	22,28
M7 (n=1)	83,0	83,0	83,0	83,0	0,0

Tabelle 3.1.6: Thrombin-Antithrombin-Komplex-Werte ($\mu\text{g/l}$) bei AML Patienten – unterteilt in die einzelnen FAB-Klassen – zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und der Kontrollgruppe.

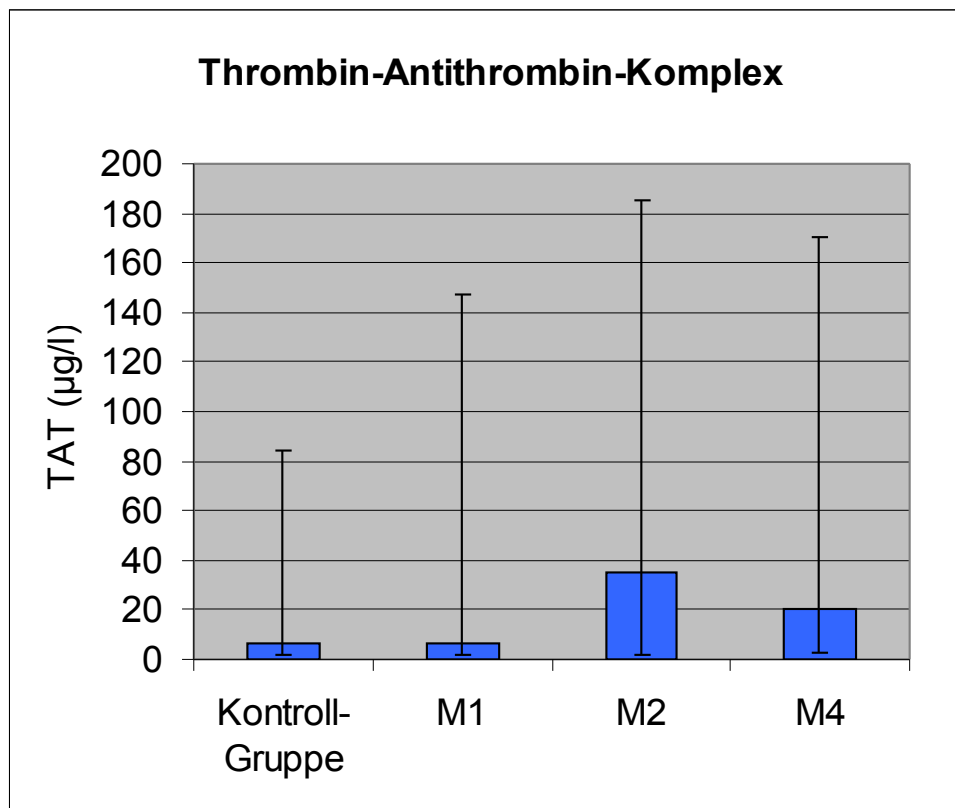


Abbildung 3.1.6: Median-Werte, Minimum und Maximum der Thrombin-Antithrombin-Komplex-Werte (µg/l) bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (dargestellt sind die FAB-Klassen M1, M2 und M4) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung im Vergleich zur Kontrollgruppe.

3.1.7 D-Dimer

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,00001 besteht ein deutlicher Unterschied bezüglich der D-Dimer-Konzentration bei AML Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Alle Median-Werte der einzelnen FAB-Klassen der AML Patienten liegen deutlich, d.h. bis über das sechsfache oberhalb des Normalbereiches.

Gruppe	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard-abweichung
Kontroll-Gruppe (n=10)	181	63	275	182	68
M1 (n=13)	1860	110	4020	2111	1321
M2 (n=16)	1670	510	4220	2033	1155
M3 (n=1)	1320	1320	1320	1320	0,0
M4 (n=18)	1450	342	5820	1832	1513
M5 (n=3)	791	549	1820	1053	675
M7 (n=19)	3820	3820	3820	3820	0,0

Tabelle 3.1.7: D-Dimer-Werte (ng/ml) der AML Patienten – unterteilt in die einzelnen FAB-Klassen - zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und der Kontrollgruppe.

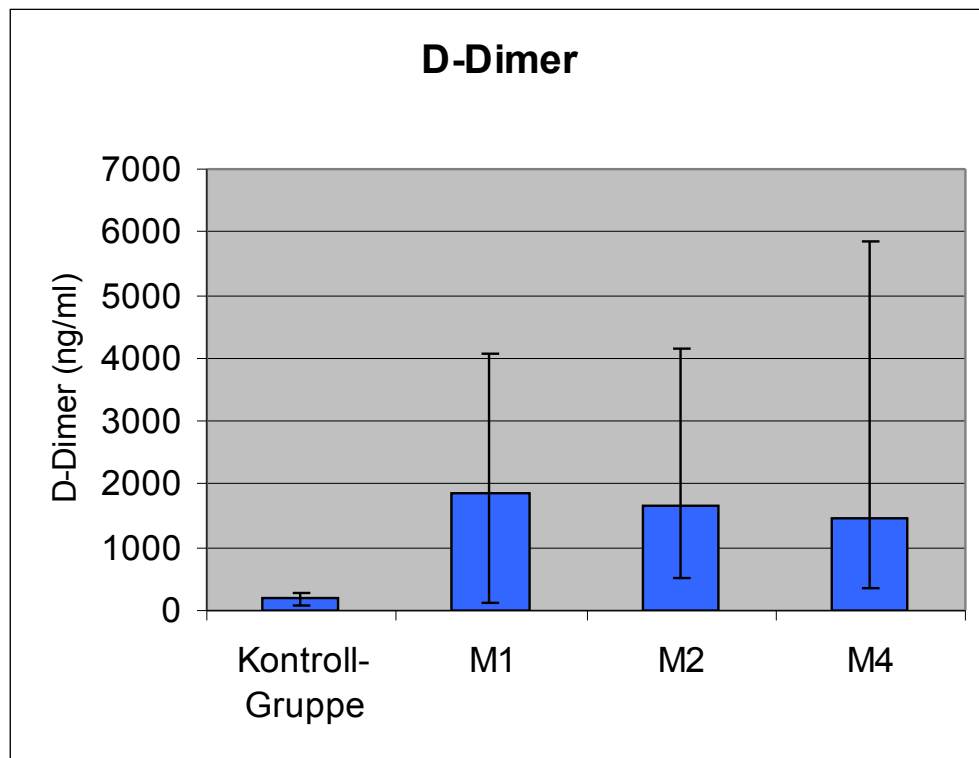


Abbildung 3.1.7: Median-Werte, Minimum und Maximum der D-Dimer-Werte (ng/ml) der Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (dargestellt sind die FAB-Klassen M1, M2 und M4) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung im Vergleich zur Kontrollgruppe.

3.1.8 Tissue factor (TF)

Bei den Tissue factor-Werten findet sich kein signifikanter Unterschied zwischen den AML Patienten – unterteilt in die einzelnen FAB-Klassen – zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und der Kontrollgruppe ($p = 0,18$).

Ein definierter Normalbereich existiert für den Parameter Tissue factor (TF) bis dato noch nicht.

Gruppe	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard-abweichung
Kontroll-Gruppe (n=10)	37,0	0	87	37,6	29,3
M1 (n=13)	55,0	0	115	55,5	36,3
M2 (n=16)	69,5	10	320	92,4	87,9
M3 (n=1)	3,0	3,0	3,0	3,0	0,0
M4 (n=18)	50,5	0	183	67,0	62,9
M5 (n=3)	15,0	10,0	60,0	28,3	29,3
M7 (n=1)	33,0	33,0	33,0	33,0	0,0

Tabelle 3.1.8: Tissue factor-Werte (pg/ml) der AML Patienten – unterteilt in die einzelnen FAB-Klassen - zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und der Kontrollgruppe.

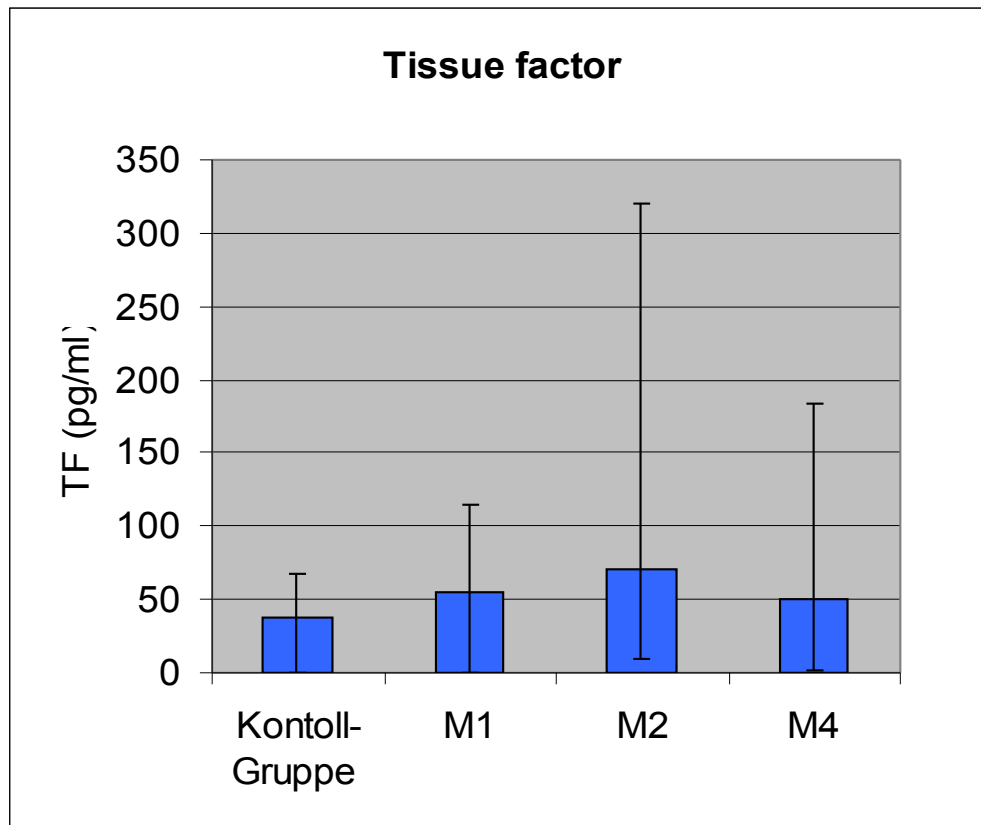


Abbildung 3.1.8: Median-Werte, Minimum und Maximum der Tissue factor-Werte (pg/ml) der Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (dargestellt sind die FAB-Klassen M1, M2 und M4) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung im Vergleich zur Kontrollgruppe.

3.2 Ergebnisse der Verlaufsbeobachtung

Im Weiteren erfolgt die Auswertung der Ergebnisse von 20 der 52 AML Patienten, bei denen eine Verlaufskontrolle erfolgen konnte.

Die erhobenen Werte zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme bei Diagnosestellung und zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme nach erfolgter Induktionstherapie wurde gegenübergestellt und auf einen möglichen Unterschied hin untersucht.

Die Patienten werden dem Verlauf ihrer Erkrankung entsprechend, d.h. Erreichen einer Remission bzw. Progression der Erkrankung nach erfolgtem Induktionszyklus, in zwei Gruppen unterteilt.

In einer Tabelle werden zunächst Median, Minimal- und Maximal-Werte der zwei Gruppen angegeben.

In der folgenden Abbildung werden die Median-Werte der zwei Gruppen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und nach erfolgter Induktionstherapie gegenübergestellt.

Die einzelnen Patientenverläufe der erhobenen Gerinnungsaktivierungsmarker kommen in zwei weiteren Abbildungen - entsprechend der Gruppeneinteilung - zur Darstellung.

Bei den globalen Gerinnungsparametern Quick-Wert, aPTT, Fibrinogen und Antithrombin zeigt sich keine statistisch signifikante Differenz der Werte im Verlauf. Auf eine ausführliche Darstellung der Ergebnisse wird daher verzichtet.

Dargestellt werden die Ergebnisse der Parameter Prothrombinfragment F1+2, Thrombin-Antithrombin-Komplex, D-Dimer und Tissue factor zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und nach erfolgtem Induktionszyklus.

3.2.1 Prothrombinfragment F1+2 (F1+2)

Die Prothrombinfragment F1+2 (F1+2) Konzentration fällt bei den AML Patienten, die nach erfolgtem Induktionszyklus eine komplette Remission erreichten, von 2,1 nmol/l auf 1,3 nmol/l ab.

Diese Differenz ist mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,05 statistisch signifikant.

Bei der Gruppe der AML Patienten, die keine Remission der Erkrankung erreichten, ist zum Zeitpunkt der zweiten Abnahme eher die gegenteilige Tendenz zu beobachten. So steigen hier die F1+2 Konzentrationen von 1,7 nmol/l bei Diagnosestellung im weiteren Verlauf auf 2,1 nmol/l an. Statistische Signifikanz erreicht dieser Verlauf jedoch nicht ($p = 0,4$).

Gruppe	Median	Minimum	Maximum
<u>AML Patienten mit Remission (n=11)</u>			
1. BE	2,1	0,8	12,0
2. BE	1,3	0,2	4,9
<u>AML Patienten ohne Remission (n=9)</u>			
1. BE	1,7	0,9	8,9
2. BE	2,1	0,7	6,4

Tabelle 3.2.1: Prothrombinfragment F1+2 Median-Werte (nmol/l) der AML Patienten, die im Verlauf beobachtet werden konnten (n=20).

Darunter 11 Patienten mit kompletter Remission bzw. 9 Patienten ohne Erreichen einer kompletten Remission nach Induktionstherapie. (BE Blutentnahme)

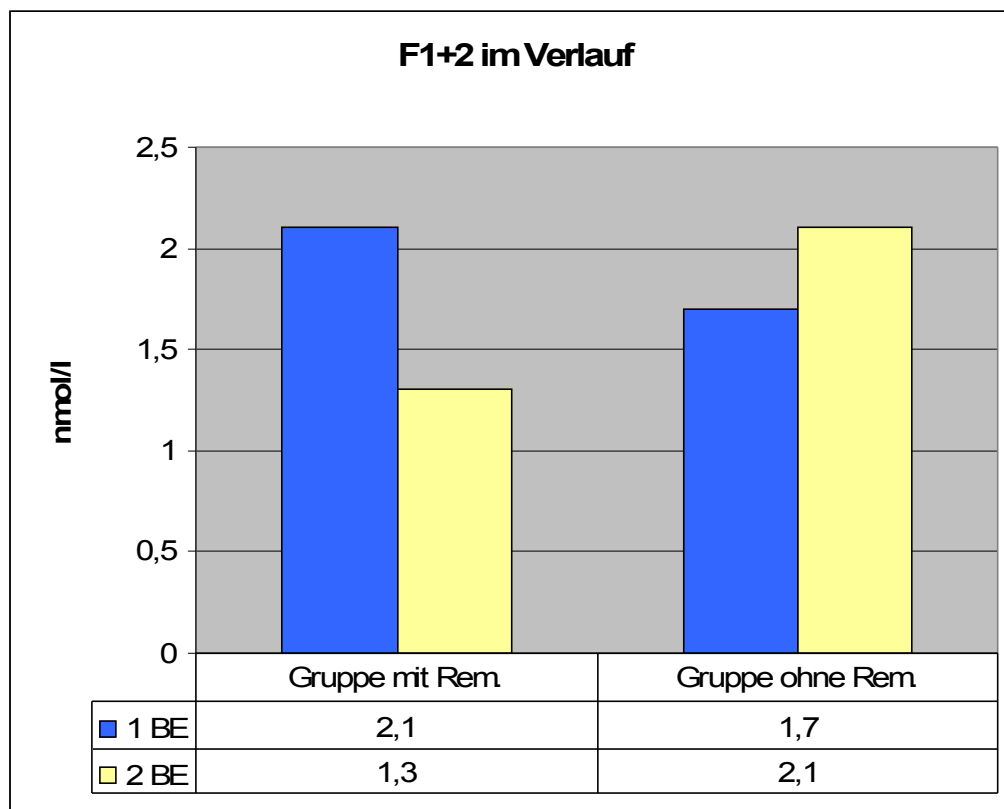


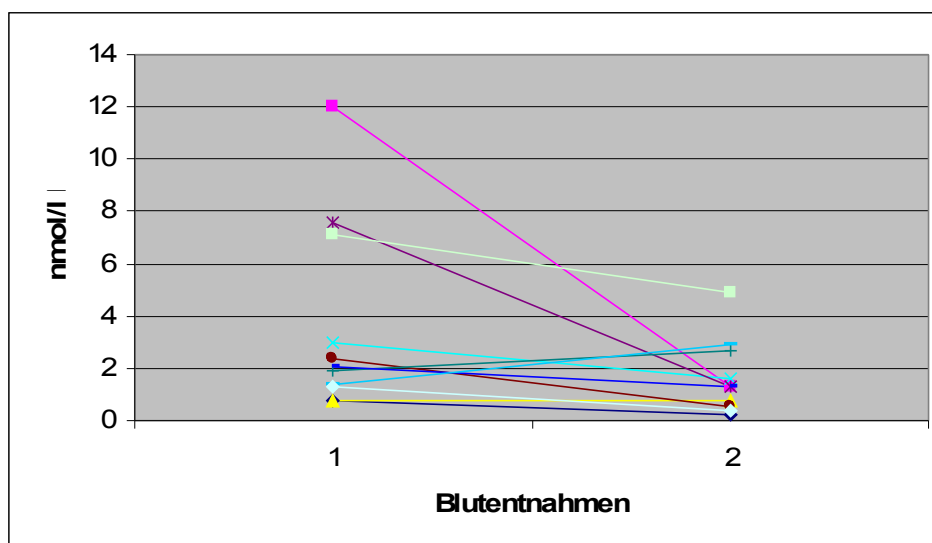
Abbildung 3.2.1: Prothrombinfragment F1+2 Median-Werte der AML Patienten mit Remission (n = 11) bzw. ohne Erreichen einer kompletten Remission (n = 9) nach erfolgtem Induktionszyklus.

Blau: F1+2-Mediane zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme (BE) bei Diagnosestellung.

Gelb: F1+2-Mediane zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme (n = 9) nach erfolgter Induktionstherapie.

Einzelverläufe der F 1+2-Werte

a) Gruppe mit Remission



b) Gruppe ohne Remission

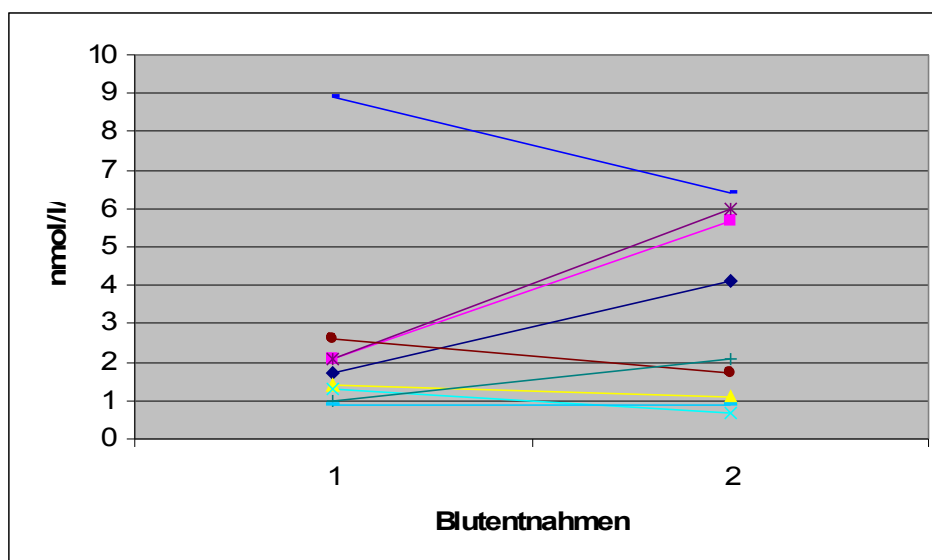


Abbildung 3.2.2: Einzelverläufe der Prothrombinfragment F1+2 Konzentrationen der 20 AML Patienten zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme bei Diagnosestellung (1) und zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme nach Induktionstherapie (2).

Obere Abbildung a): Verläufe der Patienten mit kompletter Remission (n=11).

Untere Abbildung b): Patienten ohne Erreichen einer kompletten Remission (n=9).

3.2.2 Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT)

Bei den Thrombin-Antithrombin-Komplex Konzentrationen der AML Patienten ist mit Erreichen einer Remission ebenfalls ein deutlicher Abfall der Werte im Verlauf zu beobachten.

Die Werte fallen von 40,3µg/l zum Zeitpunkt der Diagnosestellung auf 7,5µg/l nach erfolgter Induktionstherapie ab. Diese Differenz erreicht statistische Signifikanz ($p=0,04$).

Bei den AML Patienten, die keine Remission erreichten, steigen die Werte von 3,8µg/l zum Zeitpunkt der Diagnosestellung auf 9,2µg/l zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme nach erfolgter Induktionstherapie an. Dieser Verlauf bleibt mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,33 unter dem geforderten Signifikanzniveau.

Gruppe	Median	Minimum	Maximum
<u>AML Patienten mit Remission (n=11)</u>			
1. BE	40,3	2,1	148
2. BE	7,5	1,4	86
<u>AML Patienten ohne Remission (n=9)</u>			
1. BE	3,8	2,0	142
2. BE	9,2	2,4	117

Tabelle 3.2.2: Thrombin-Antithrombin-Komplex-Werte (µg/l) der AML Patienten, die im Verlauf beobachtet werden konnten.

Darunter 11 Patienten mit kompletter Remission bzw. 9 Patienten ohne Erreichen einer kompletten Remission nach Induktionstherapie. (BE Blutentnahme)

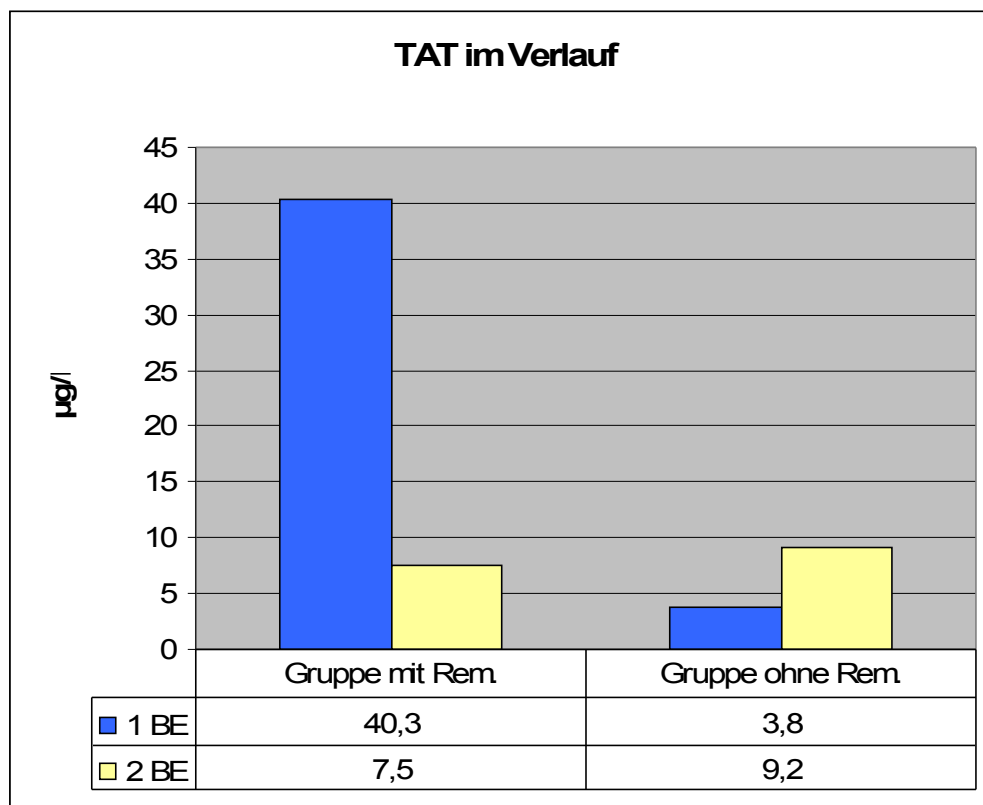


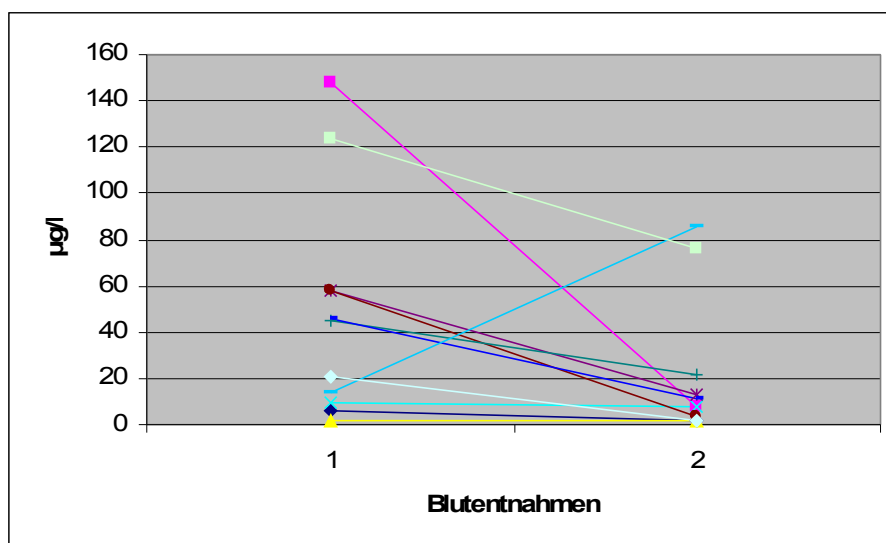
Abbildung 3.2.3: Thrombin-Antithrombin-Komplex Median-Werte der AML Patienten mit Remission (n = 11) bzw. ohne Erreichen einer kompletten Remission (n = 9) nach erfolgter Induktionstherapie.

Blau: TAT-Mediane zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme (BE) bei Diagnosestellung.

Gelb: TAT-Mediane zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme (BE) nach erfolgter Induktionstherapie.

Einzelverläufe der TAT-Werte

a) Gruppe mit Remission



b) Gruppe ohne Remission

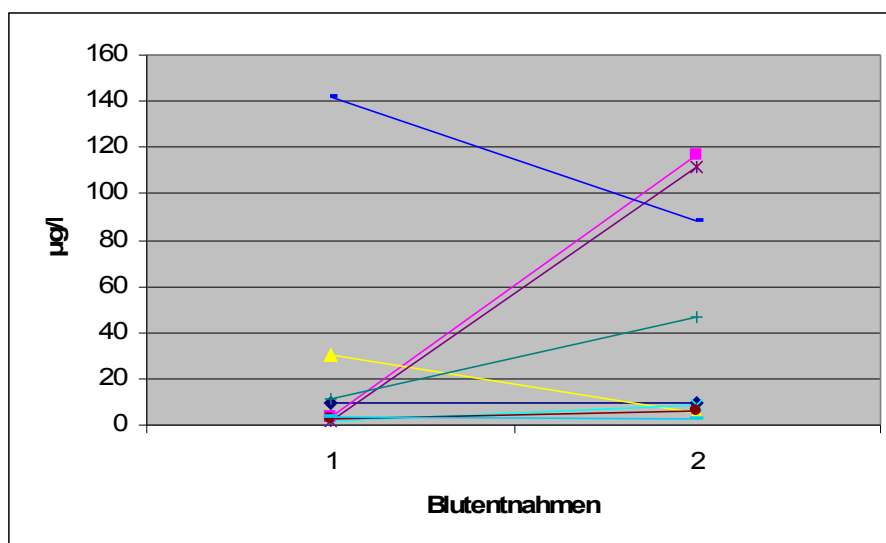


Abbildung 3.2.4: Einzelverläufe der Thrombin-Antithrombin-Komplex Konzentrationen der 20 AML Patienten zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme bei Diagnosestellung (1) und zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme nach Induktionstherapie (2).

Obere Abbildung a): Verläufe der Patienten mit kompletter Remission (n=11).

Untere Abbildung b): Verläufe der Patienten ohne Erreichen einer kompletten Remission (n=9).

3.3 D-Dimer

Ein deutlicher Unterschied in den Verlaufswerten der D-Dimere zeigt sich bei den AML Patienten mit Erreichen einer kompletten Remission. Hier fällt der Median der D-Dimer Konzentration von 1760 ng/ml bei Diagnosestellung auf einen Wert von 615 ng/ml zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme ab. Diese Differenz erreicht mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,01 statistische Signifikanz.

Bei AML Patienten ohne komplette Remission nach Induktionstherapie zeigt sich kein signifikanter Unterschied der Verlaufswerte ($p = 0,93$). Die D-Dimer-Mediane bleiben mit 1260ng/ml zum Zeitpunkt der Diagnosestellung gegenüber 1280ng/ml nach Induktionstherapie nahezu identisch.

Gruppe	Median	Minimum	Maximum
<u>AML Patienten mit Remission (n=11)</u>			
1. BE	1760	1120	4220
2. BE	615	123	1660
<u>AML Patienten ohne Remission (n=9)</u>			
1. BE	1260	475	5820
2. BE	1280	327	3680

Tabelle 3.2.3: D-Dimer-Werte (ng/ml) der AML Patienten, die im Verlauf beobachtet werden konnten. Darunter 11 Patienten mit kompletter Remission und 9 Patienten ohne Erreichen einer kompletten Remission nach Induktionstherapie. (BE Blutentnahme)

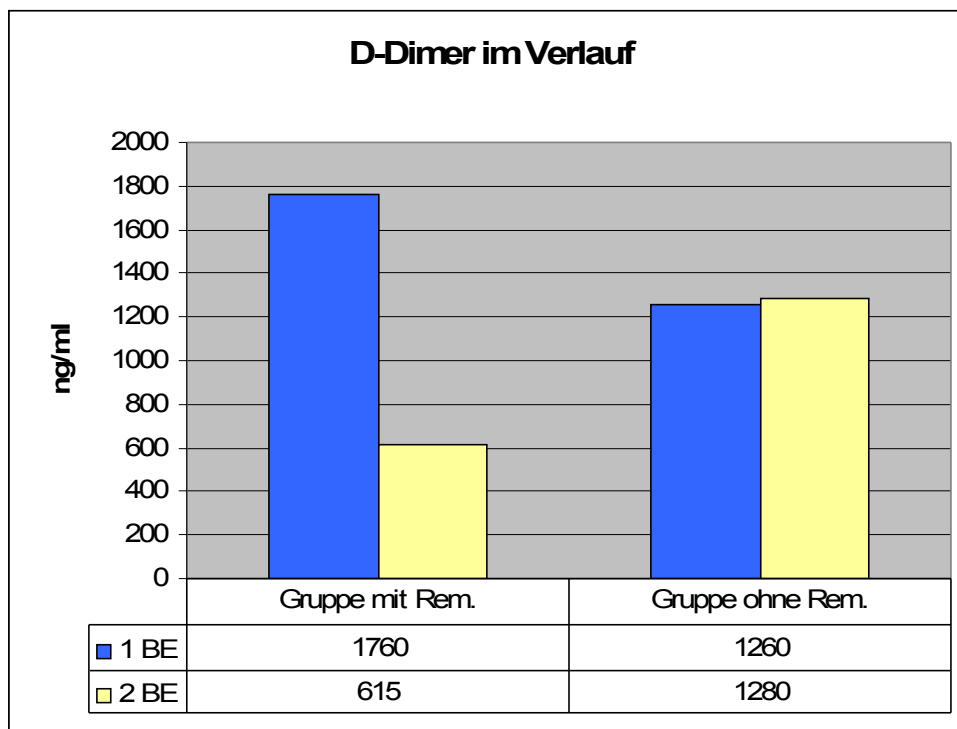


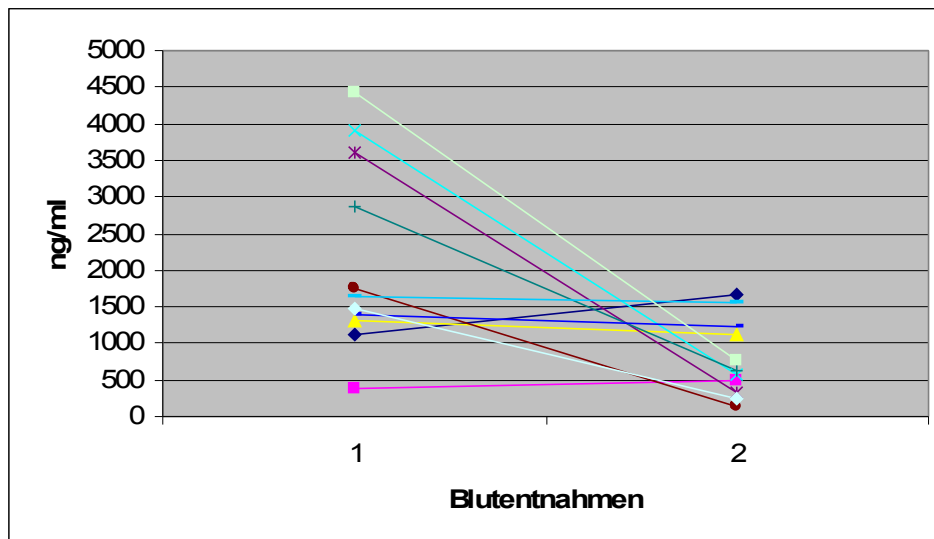
Abbildung 3.2.5: D-Dimer-Median-Werte der AML Patienten mit Remission (n = 11) bzw. ohne Erreichen einer kompletten Remission (n = 9) nach erfolgter Induktionstherapie.

Blau: D-Dimer-Mediane zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme (BE) bei Diagnosestellung.

Gelb: D-Dimer-Mediane zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme (BE) nach erfolgter Induktionstherapie.

Einzelverläufe der D-Dimer-Werte

a) Gruppe mit Remission



b) Gruppe ohne Remission

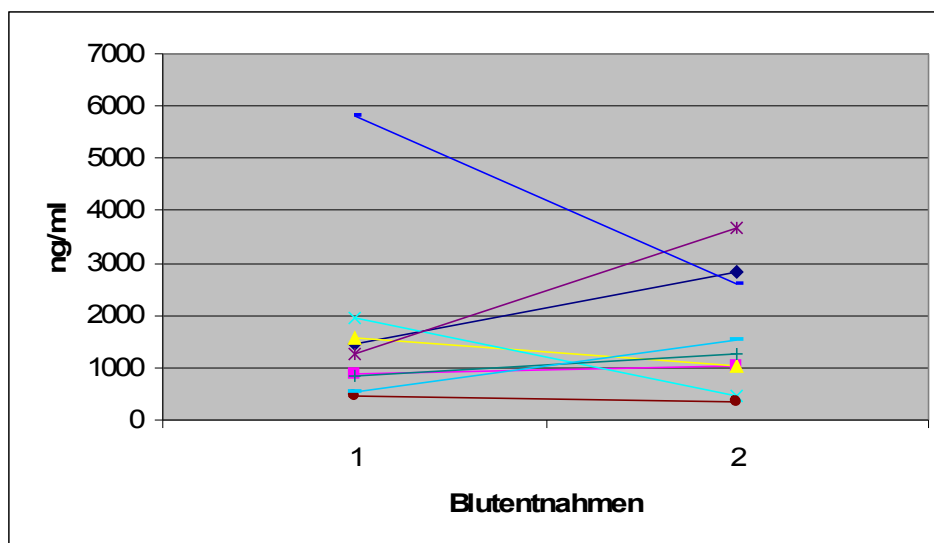


Abbildung 3.2.6: Einzelverläufe der D-Dimer Konzentrationen der 20 AML Patienten zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme bei Diagnosestellung (1) und zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme nach Induktionstherapie (2).

Obere Abbildung a): Verläufe der Patienten mit kompletter Remission (n=11).

Untere Abbildung b): Verläufe der Patienten ohne Erreichen einer kompletten Remission (n=9).

3.4. Tissue factor (TF)

Tissue factor zeigt im Verlauf bei der Gruppe der AML Patienten mit Remission ($p = 0,08$) und der Gruppe der Patienten ohne Remission ($p = 0,6$) keinen signifikanten Unterschied zwischen erster Blutentnahme zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und zweiter Blutentnahme nach erfolgter Induktionstherapie. In beiden Gruppen zeigt sich eine fallende Tendenz der Verlaufswerte, die aber unter dem geforderten Signifikanzniveau bleibt.

Gruppe	Median	Minimum	Maximum
<u>Patienten mit Remission (n=11)</u>			
1. BE	95	0	268
2. BE	41	0	124
<u>Patienten ohne Remission (n=9)</u>			
1. BE	59	10	145
2. BE	43	0	348

Tabelle 3.2.4: Tissue factor-Werte (pg/ml) der AML Patienten, die im Verlauf beobachtet werden konnten. Darunter 11 Patienten mit kompletter Remission bzw. 9 Patienten ohne Erreichen einer kompletten Remission nach Induktionstherapie. (BE Blutentnahme)

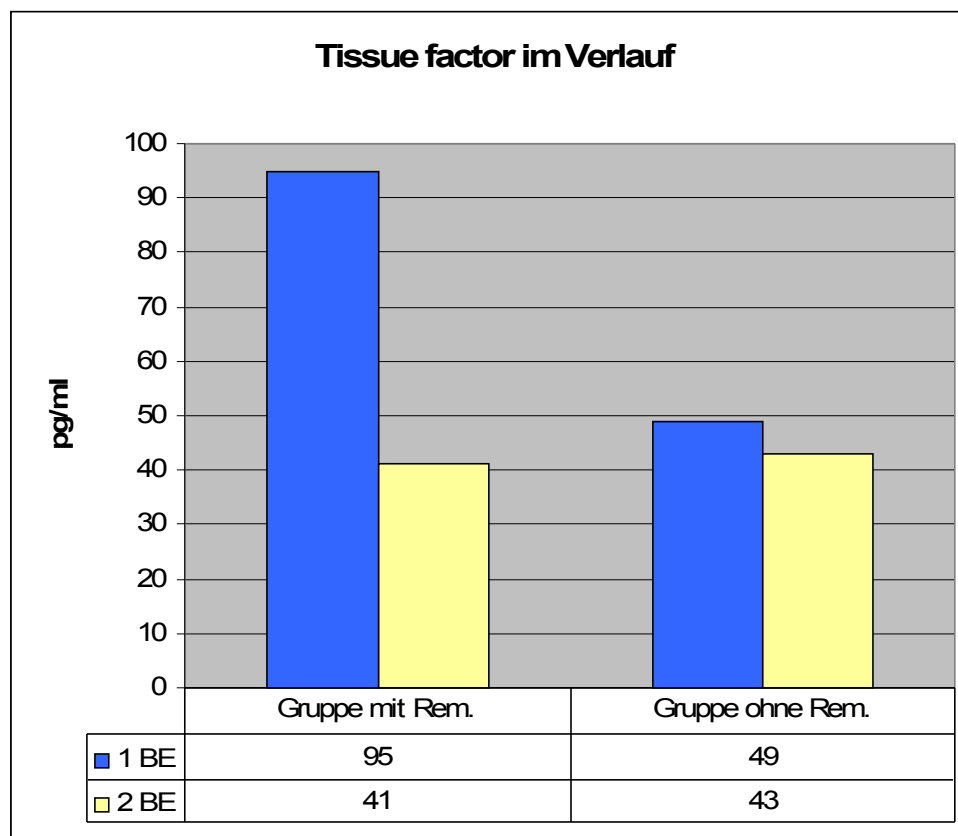


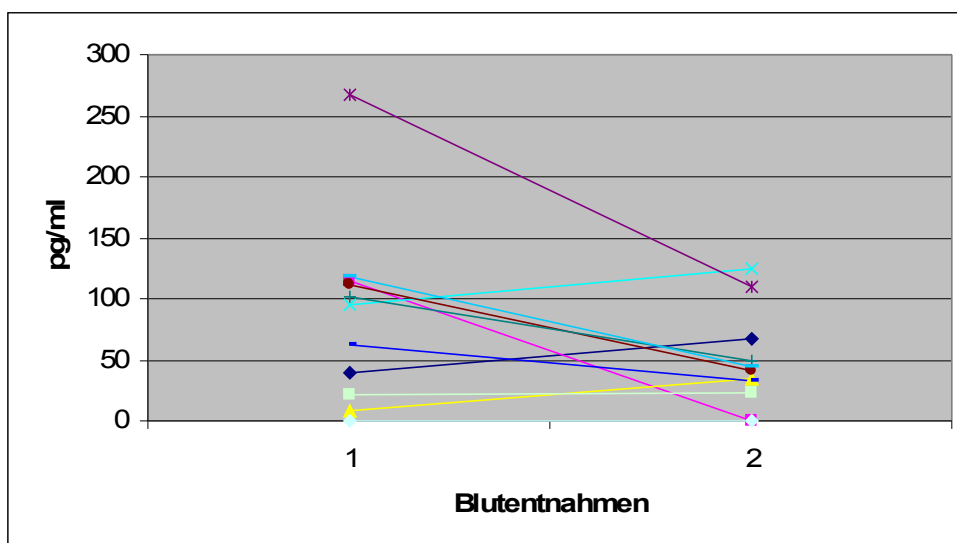
Abbildung 3.2.7: Tissue factor-Median-Werte der AML Patienten mit Remission (n = 11) bzw. ohne Erreichen einer kompletten Remission (n = 9) nach Induktionstherapie.

Blau: TF-Mediane zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme (BE) bei Diagnosestellung.

Gelb: TF-Mediane zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme (BE) nach erfolgter Induktionstherapie.

Einzelverläufe der TF-Konzentrationen

a) Gruppe mit Remission



c) Gruppe ohne Remission

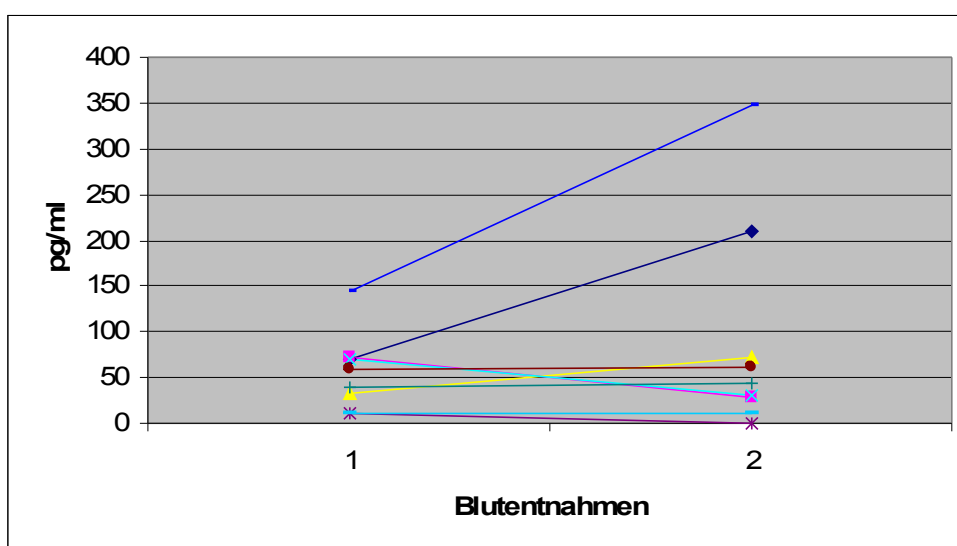


Abbildung 3.2.8: Einzelverläufe der Tissue factor Konzentrationen der AML Patienten zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme bei Diagnosestellung (1) und zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme nach erfolgter Induktionstherapie (2).

Obere Abbildung a): Verläufe der Patienten mit kompletter Remission (n=11).

Untere Abbildung b): Verläufe der Patienten ohne Erreichen einer kompletten Remission (n=9).

3.3 Tissue factor Expression der Monozyten

Im Verlauf unserer Studie wurde bei 22 von den bereits dargestellten 52 Patienten mit Erstdiagnose akute myeloische Leukämie zusätzlich eine durchflußzytometrische Untersuchung durchgeführt.

Hierbei wurden die im Blut befindlichen Monozyten auf ihre Tissue-factor Expression hin untersucht.

Aufgrund der geringen Fallzahl werden diese 22 AML Patienten nicht in die einzelnen FAB-Klassen unterteilt, sondern als eine Gruppe von AML Patienten der Kontrollgruppe gegenübergestellt.

Bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie besteht zum Zeitpunkt der Diagnosestellung eine erhöhte Tissue-factor Expression auf Monozyten. Der Median-Wert der mittleren Fluoreszenzintensität (MFI) der AML Patienten liegt bei 0,27 im Gegensatz zu 0,1 der Kontrollgruppe. Diese Differenz ist mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,015 signifikant.

Gruppe	Median	Minimum	Maximum
Kontrollgruppe (n=10)	0,1	0,04	0,23
AML-Patienten (n=22)	0,27	0,01	536

Tabelle 3.3.1: Werte der mittleren Fluoreszenzintensität (MFI) der TF Expression auf Monozyten der AML Patienten (n = 22) und der Kontrollgruppe (n = 10).

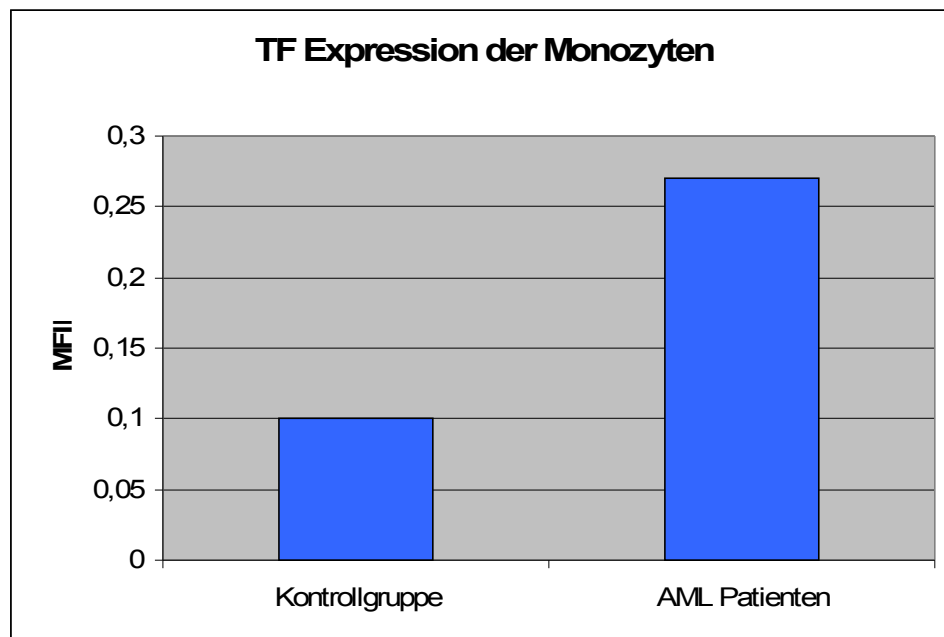


Abbildung 3.3.1: Mediane der mittleren Fluoreszenzintensität (MFI) der Tissue factor Expression auf Monozyten. Dargestellt ist der Median der AML Patienten (n = 22) und der Kontrollgruppe (n = 10).

3.4 Korrelationen zwischen Gerinnungsaktivierungsmarkern, TF Expression auf Monozyten und Outcome der AML Patienten.

- Tissue factor - Tissue factor Expression auf Monozyten

Zwischen Tissue factor im Plasma und dem membrangebundenen Tissue factor auf Monozyten bei AML Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung (n=22) besteht keine Korrelation.

($r = 0,25$; $p = 0,29$).

- Tissue factor - D-Dimer

Zwischen den beiden Gerinnungsaktivierungsmarkern Tissue factor und D-Dimer besteht bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie zum Zeitpunkt der Diagnosestellung (n=52) keine Korrelation.

($r = 0,11$; $p = 0,46$).

- Tissue factor Expression auf Monozyten - D-Dimer

Zwischen dem Parameter D-Dimer und der TF Expression auf Monozyten besteht bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie zum Zeitpunkt der Diagnosestellung (n = 22) eine Korrelation.

($r = 0,53$; $p = 0,02$).

Gerinnungsaktivierungsmarker - Outcome des Patienten

Um das Outcome der AML Patienten klassifizieren zu können, definierten wir diesen Parameter in zwei verschiedene Kategorien.

Zunächst wurde das Outcome der AML Patienten entsprechend dem Therapieergebnis nach erfolgter Induktionstherapie beurteilt, d.h. erreichte der Patient nach erfolgter Induktionstherapie eine komplette Remission oder war eine weitere Progression des malignen Geschehens zu verzeichnen (n=20).

Zusätzlich wurde das Outcome der Patienten anhand der Überlebenszeiten der Patienten mit akuter myeloischer Leukämie beurteilt.

Hierzu wurden die Überlebenszeiten der einzelnen Patienten ab Diagnosestellung bis zum Versterben bzw. Studienende in Monaten angegeben (n=52).

- D-Dimer - Outcome

Bei der Betrachtung der D-Dimer Konzentrationen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und dem Outcome der Patienten besteht keine Korrelation bezüglich des Therapieerfolges bei AML Patienten ($p = 0,7$).

Auch in Bezug auf die Überlebenszeiten kann keine Korrelation zu den D-Dimer Konzentrationen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung der Patienten mit akuter myeloischer Leukämie gezeigt werden ($p = 0,9$).

- Tissue factor - Outcome

Zwischen den Tissue factor-Werten der Patienten mit akuter myeloischer Leukämie zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und dem Therapieerfolg nach Induktionstherapie, kann kein Zusammenhang hergestellt werden ($p=0,13$).

Bei der Betrachtung eines möglichen Zusammenhangs zwischen der Überlebenszeit bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie und Tissue factor Konzentration bei Diagnosestellung findet sich eine positive Korrelation ($p = 0,02$).

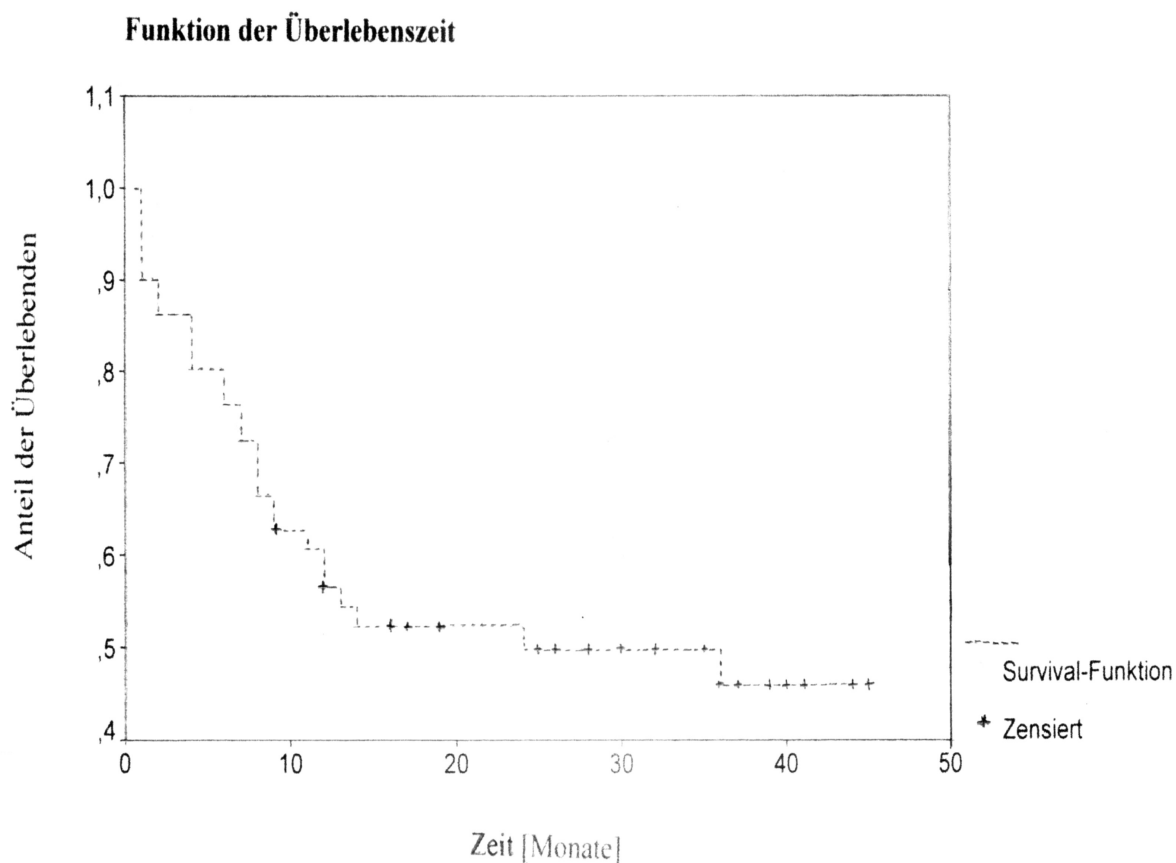


Abbildung 3.4: Graphische Darstellung der Überlebenszeit (Monate) der AML Patienten ($n = 52$), die im Zeitraum April 1998 bis Dezember 2000 in unserer Studie untersucht wurden.

+ Zensiert: Patienten bei denen innerhalb des Beobachtungszeitraumes das kritische Ereignis – hier versterben – nicht eingetreten ist.

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,02 besteht zwischen der Überlebenszeit der AML Patienten und der TF Konzentration zum Zeitpunkt der Diagnosestellung ein signifikanter Zusammenhang.

4 Diskussion

Das Trousseau'sche Phänomen – die Thrombosegefährdung von Patienten mit Malignomen - ist schon lange bekannt [Trousseau 1865]. Nach klinischen Studien liegt die Häufigkeit thromboembolischer Komplikationen im Rahmen maligner Erkrankungen bei ca. 11% [Ambrus et al. 1975, Weess et al. 1981, Rickles et al. 1983]. So konnte bereits in früheren Studien gezeigt werden, dass es bei Patienten mit Malignomen zu Veränderungen im Gerinnungssystem kommt. Meist sind diese Ausdruck einer gesteigerten Gerinnungsaktivierung [Miller et al. 1967, Rickles et al. 1983, Edwards et al. 1987].

Bei Patienten mit Lungenkarzinomen ließen sich als Ausdruck der subklinischen Gerinnungsaktivierung in mehreren Studien Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT), D-Dimer und Tissue factor erhöht nachweisen [Phillips et al. 1959, Slickter und Harker 1974, Yodo und Abe 1981, Rickles et al. 1983].

Auch bei Patienten mit Colorectalen-, Mamma- bzw. Pankreastumoren fanden sich erhöhte Tissue factor Konzentrationen und Aktivierungsmarker der plasmatischen Gerinnung [Kakkar et al. 1995].

Bei Patienten mit Promyelozytenleukämie (FAB M3) kommt es ebenfalls zu Veränderungen der Aktivierungsmarker der Blutgerinnung [Tallman et al. 1992, Koyama et al. 1994]. Klinisch zeigt sich häufig das Bild einer lebensbedrohlichen Blutung. Ob diesem Ereignis initial eine Gerinnungsaktivierung mit anschließendem Faktorenverbrauch und/oder eine Steigerung des fibrinolytischen Systems zugrunde liegt, bleibt derzeit noch offen [Tallman et al. 1993, Grignani et al. 1994, Hair et al. 1996].

Vor diesem Hintergrund untersuchten wir in der vorliegenden Studie Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML) in Bezug auf Veränderungen des prokoagulatorischen bzw. profibrinolytischen Potentials. Bestimmt wurden dazu die Parameter Quick-Wert, aPTT, Fibrinogen, Antithrombin, die Gerinnungsaktivierungsmarker D-Dimer, Thrombin-Antithrombin-Komplex und Prothrombinfragment F1+2 sowie Tissue factor.

Aufgenommen wurden in diese prospektive Studie Patienten mit akuter myeloischer Leukämie zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Nach dem ersten Induktionszyklus

bestimmen wir erneut die Gerinnungsparameter, um eventuelle Veränderungen – in Abhängigkeit vom Verlauf der Erkrankung - zu dokumentieren.

Im Weiteren sollten die Gerinnungsparameter als potentielle Marker für den Verlauf bzw. das Outcome der Erkrankung untersucht werden.

4.1 Quick-Wert, aPTT, Fibrinogen und Antithrombin

1984 untersuchte von Kries et al. Gerinnungsveränderungen bei Kindern mit akuter myeloischer Leukämie unter der Fragestellung, ob Veränderungen auf einen Thrombineffekt oder eher auf eine gesteigerte Proteolyse zurückzuführen seien. Zusammenfassend fand er "a variety of coagulation changes... resembling classical DIC" [von Kries et al. 1984].

Die Ergebnisse unserer Studie ergeben keine statistisch signifikante Veränderung der Globaltests Quick-Wert, aPTT, Fibrinogen und Antithrombin bei Patienten mit AML gegenüber der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der Diagnosestellung (vgl. Tab. 3.1.1-3.1.4 und Abb. 3.1.1-3.1.4). Auch während des Krankheitsverlaufs sind keine signifikanten Veränderungen der globalen Gerinnungsparameter zu beobachten.

Tendenziell liegen die Mediane der Quick-Werte und der Antithrombin Konzentrationen der einzelnen FAB-Klassen jeweils niedriger als die Mediane der Kontrollgruppe (vgl. Tab. 3.1.1 u. 3.1.4). Die aPTT- und Fibrinogen-Mediane der AML Patienten tendieren hingegen zu erhöhten Werten im Vergleich zur Kontrollgruppe (vgl. Tab. 3.1.2 u. 3.1.3).

Diese Daten decken sich ansatzweise mit den Ergebnissen einer Studie von Nakasaki et al., die Gerinnungsveränderungen von Patienten mit akuter promyelozytärer Leukämie (FAB M3) bei Diagnosestellung und einer zweiten Gruppe - mit einem Rezidiv der Erkrankung - im Vergleich zu Normalprobanden untersuchte.

Bei Patienten mit Erstdiagnose einer akuten promyelozytären Leukämie fand er signifikant erniedrigte Quick-Werte, verlängerte aPTT-Zeiten und leicht erniedrigte

Antithrombin Konzentrationen [Nakasaki et al. 2000]. Tendentiell sind unsere Ergebnisse entsprechend.

Unterschiedlich zu unserer Studie ist die von Nakasaki et al. gefundene signifikante Erniedrigung der Fibrinogenwerte bei Patienten mit akuter promyelozytärer Leukämie im Vergleich zu Normalprobanden. Hier zeigen unsere Werte der AML Patienten eher eine Tendenz zu erhöhten Konzentrationen.

Nakasaki et al. deuteten diese Hypofibrinogenämie - in Kombination mit der Erhöhung der globalen Gerinnungsparameter - als eventuell vorkommende Hyperfibrinolyse in frühen Stadien der Erkrankung. Da sich die angegebene Studie von Nakasaki et al. ausschließlich auf Patienten mit einer akuten promyelozytären Leukämie (FAB-Klasse M3) bezieht, welche klinisch sehr häufig mit dem fulminanten Bild einer disseminierten intravasalen Gerinnung einhergeht, könnte eine Hypofibrinogenämie durch gesteigerten Verbrauch bedingt sein.

4.2 Prothrombinfragment F1+2 und Thrombin-Antithrombin-Komplex

Higuchi et al. und Nakasaki et al. fanden bei ihren Studien signifikant erhöhte Thrombin-Antithrombin-Komplex Konzentrationen bei Patienten mit akuter promyelozytärer Leukämie und werteten dies als Ausdruck einer gesteigerten Gerinnungsaktivierung im Initialstadium der Erkrankung [Higuchi et al. 1997, Nakasaki et al. 2000].

Unsere Ergebnisse zeigen ebenfalls, dass es bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie zu Veränderungen im Hämostasesystem im Sinne einer Gerinnungsaktivierung kommt.

Prothrombinfragment F1+2 ist in unserer Studie bei AML Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung - im Vergleich zu Normalprobanden - signifikant erhöht.

Thrombin-Antithrombin-Komplex ist nicht signifikant erhöht. Ein Trend zu erhöhten TAT-Werten ist in allen FAB-Klassen der AML Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe zu beobachten (vgl. Tab. 3.1.5 u. 3.1.6).

Deutlicher zeigt sich die initiale Erhöhung der Parameter Prothrombinfragment F1+2 und Thrombin-Antithrombin-Komplex in der Verlaufsbeobachtung bei AML Patienten mit kompletter Remission. Hier fallen die Werte von F1+2 und TAT zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme auf signifikant niedrigere Werte - im Vergleich zu den Ausgangswerten - ab. Bei Patienten, die nach dem ersten Induktionszyklus keine komplette Remission erlangten, bleiben die Werte annähernd gleich oder steigen tendentiell an (vgl. Tab. 3.2.1 u. 3.2.2; Abb. 3.2.1, 3.2.2 bzw. 3.2.3, 3.2.4).

Bauer und Rosenberg untersuchten im Jahr 1984 Patienten mit akuter promyelozytärer Leukämie (APL) und akuter nonlymphozytärer Leukämie (ANLL) hinsichtlich Veränderungen ihrer Gerinnungsaktivität vor und während zytotoxischer Therapie.

In beiden Patientengruppen konnten erhöhte Prothrombinfragment F1+2 und Thrombin-Antithrombin-Komplex-Werte zu Beginn der Erkrankung beobachtet werden.

In der APL-Gruppe "...the magnitude of the elevations was considerably greater..." als in der ANLL-Gruppe [Bauer und Rosenberg 1984].

Bauer und Rosenberg deuteten dies als Hinweis dafür, dass bei Patienten mit akuter promyelozytärer Leukämie (APL) und akuter nonlymphozytärer Leukämie (ANLL) große Mengen von Thrombin generiert werden.

Während zytotoxischer Therapie zeigte sich in der Studie von Bauer und Rosenberg eine Zunahme der Gerinnungsaktivierungsmarker im Vergleich zu den Ausgangswerten.

In unserer Studie zeigen die Verlaufswerte bei AML Patienten mit Remission - im Vergleich zu den Ausgangswerten - signifikant niedrigere Prothrombinfragment F1+2 und Thrombin-Antithrombin-Komplex Konzentrationen.

Patienten, die nach erfolgter Induktionstherapie keine Remission erlangten, zeigen dagegen ebenfalls tendentiell erhöhte F1+2- und TAT-Werte (vgl. Tab. 3.2.1 u. 3.2.2; Abb. 3.2.1, 3.2.2 und 3.2.3, 3.2.4).

Dieser Verlauf erreicht keine statistische Signifikanz, deckt sich jedoch mit den Ergebnissen von Bauer und Rosenberg. In deren Studie wurden die Verlaufswerte unter laufender Zytostase erhoben. Der Krankheits- bzw. Remissionsstatus, in dem sich die Patienten von Bauer und Rosenberg zu den Abnahmezeitpunkten befanden, entspricht

in unserer Studie den AML-Patienten ohne Remission. Dies deutet darauf hin, dass die Krankheitsaktivität eng mit gesteigerter Gerinnungsaktivität vergesellschaftet ist.

4.3 D-Dimer

D-Dimere sind Marker des fibrinolytischen Systems und entstehen, wenn quervernetztes Fibrin durch Plasmin abgebaut wird.

Klinische Relevanz erlangte D-Dimer als Marker in Zusammenhang mit der Diagnostik von tiefen Beinvenenthrombosen und Lungenembolien [Chapman et al. 1990, D'Angelo et al. 1996].

Auch andere Erkrankungen werden mit erhöhten D-Dimer-Werten in Verbindung gebracht, so z.B. akute Pankreatitis [Salomone et al. 2003], maligne Tumore [Nijziel et al. 2000], akute Leukämie [Valesco et al. 1992, Watanabe et al. 1997, Weltermann et al. 1998, Chojnowski et al. 1999].

Bei akuten Leukämien - die mit Gerinnungs- und Fibrinolyseaktivierung einhergehen - stellt sich die Frage, ob die initiale Veränderung eine Aktivierung des plasmatischen Gerinnungssystems oder des fibrinolytischen Systems ist.

Valesco et al. fanden 1992 in seiner Studie bei Patienten mit akuter nonlymphoblastischer Leukämie (ANLL) signifikant erhöhte Thrombin-Antithrombin-Komplex- und D-Dimer Werte vor Therapiebeginn. Patienten mit klinischen Zeichen einer disseminierten intravasalen Gerinnung im Initialstadium der Leukämie zeigten höhere TAT- und D-Dimer-Werte als Patienten ohne Zeichen einer DIC.

Desweiteren konnte bei Patienten mit DIC eine positive Korrelation zwischen Thrombin-Antithrombin-Komplex- und D-Dimer-Werten beobachtet werden.

Die Verlaufswerte von TAT und D-Dimer, abgenommen am zweiten Tag der Chemotherapie, zeigten eine deutliche Zunahme.

Valesco deutete die Ergebnisse als "...strongly suggest a hypercoagulable state with secondary activation of fibrinolysis..." [Valesco et al. 1992].

Chojnowski et al. stellten bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML) und akuter lymphozytärer Leukämie (ALL) ebenfalls deutlich erhöhte Thrombin-

Antithrombin-Komplex- und D-Dimer-Werte fest. Die höchsten Werte fanden sie bei Patienten mit AML FAB-Klasse M3.

Unter Therapie zeigten sich ebenfalls erhöhte Werte. Nach Chemotherapie waren bei Patienten mit kompletter Remission TAT- und D-Dimer-Werte wieder im Normalbereich. Bei neun der zwölf Patienten ohne komplette Remission waren weiterhin erhöhte Werte festzustellen. Drei der zwölf Patienten ohne Remission zeigten - ohne erkennbare Ursache - ebenfalls wieder Normalwerte [Chojnowski et al. 1999].

Unsere Ergebnisse decken sich weitgehend mit der Studie von Chojnowski et al..

Wir können - wie bereits aufgeführt - hinsichtlich der TAT Konzentrationen bei Diagnosestellung lediglich tendentiell erhöhte Werte beobachten (vgl. Tab. 3.1.5 und Abb. 3.1.5).

In Bezug auf D-Dimer sind in allen FAB-Klassen der AML Patienten - zum Zeitpunkt der Diagnosestellung - signifikant erhöhte Werte im Vergleich zur Kontrollgruppe nachzuweisen. Die Mediane der FAB-Klassen M1, M2 und M4 liegen dabei bis um das Sechsfache über dem Median der Kontrollgruppe (vgl. Tab. 3.1.7 und Abb. 3.1.7).

Entsprechend unseren Ergebnissen besteht im Verlauf ein Zusammenhang zwischen Krankheitsaktivität und Gerinnungsaktivität.

Bei Patienten mit kompletter Remission fallen die D-Dimer Konzentrationen zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme signifikant unter die der Ausgangswerte ab. Bei Patienten ohne Remission nach erfolgter Induktionstherapie bleiben die Verlaufswerte von D-Dimer nahezu identisch (vgl. Tab. 3.2.3 und Abb. 3.2.5, 3.2.6).

Unsere Ergebnisse decken sich weitgehend mit den Studien von Chojnowski et al. und Cielinska et al. [Chojnowski et al. 1999, Cielinska et al. 2000].

In beiden Studien konnte ein deutlicher Abfall der D-Dimer Konzentrationen im Zustand kompletter Remission beobachtet werden. Bei Progression der Erkrankung oder Rückfall bzw. Rezidiv fanden Cielinska et al. in ihrer Studie wieder steigende D-Dimer-Werte [Cielinska et al. 2000].

Ein enger Zusammenhang zwischen D-Dimer und der Krankheitsaktivität einer akuten Leukämie scheint somit zu bestehen.

Nach unseren Ergebnissen zeigt sich keine Korrelation zwischen D-Dimer und dem Outcome bzw. der Überlebenszeit der AML Patienten.

Einen direkten Zusammenhang zwischen D-Dimer und Überlebenszeiten fanden Taguchi et al. bei Patienten mit Bronchialkarzinom.

Patienten mit geringeren D-Dimer-Ausgangswerten hatten laut ihrer Studie eine deutlich längere Überlebenswahrscheinlichkeit als Patienten mit höheren D-Dimer-Ausgangswerten, unabhängig von dem klinischen Stadium der Erkrankung, dem histologischen Typ, performance status und Tumorgröße [Taguchi et al. 1997].

4.4 Tissue factor

Da Tissue factor (TF) als Hauptaktivator des plasmatischen Gerinnungssystems gilt, kommt ihm bei der Untersuchung gesteigerter Gerinnungsaktivierung bzw. disseminierter intravasaler Gerinnung eine bedeutende Rolle zu.

Diverse Studien zeigen erhöhte Tissue factor Konzentrationen bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie [Naitoh et al. 1994, Andoh et al. 1987, Tanaka und Yamanishi 1993, Nakasaki et al. 2000].

Im Jahre 1993 untersuchten Tanaka et al. Tissue factor-Aktivität auf intakten Zellen und Zelllysaten, sowie Tissue factor-Antigen auf intakten Zelloberflächen. Sie fanden bei Patienten mit akuter myeloischer und akuter lymphatischer Leukämie deutlich erhöhte Werte [Tanaka et al. 1993].

Ebenso fanden Nakasaki et al. erhöhte Tissue factor-Antigenmengen und Tissue factor-Aktivität bei AML Patienten FAB-Klasse M3 im Gegensatz zu gesunden Probanden [Nakasaki et al. 2000].

In unserer Studie zeigt sich keine signifikant erhöhte TF-Plasmakonzentration bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die TF-Mediane der Ausgangswerte sind – im Vergleich zur Kontrollgruppe – tendentiell erhöht (vgl. Tab. 3.1.8 und Abb. 3.1.8).

Ebenfalls keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Tissue factor Konzentration bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie fand Radziwon et al..

In ihrer Studie wurde Tissue factor (TF) und Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML), chronisch myeloischer Leukämie (CML), chronisch lymphatischer Leukämie (CLL) sowie bei Patienten mit malignen Melanomen untersucht.

Keine der Patientengruppen zeigte eine signifikant erhöhte Tissue factor Konzentration bzw. TF Aktivität [Radziwon et al. 2002].

Die differierenden Ergebnisse in den einzelnen Studien resultieren möglicherweise aus den unterschiedlichen Verfahren, mit denen die Tissue factor Konzentration bzw. die Tissue factor Aktivität bestimmt wurde.

Direkte Vergleiche der einzelnen Studien sind aufgrund unterschiedlicher Meßgrößen und -methoden für Tissue factor schwierig. Ebenfalls existiert bis dato kein standardisierter Referenzbereich für Tissue factor.

In unserer Verlaufsbeobachtung zeigt sich bei Patienten mit kompletter Remission zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme ein Trend zu niedrigeren Tissue factor-Werten im Vergleich zu den Ausgangswerten (vgl. Tab. 3.2.4 und Abb. 3.2.7, 3.2.8).

Auch wenn dieser Trend keine statistische Signifikanz erreicht, so läßt er doch einen möglichen Zusammenhang zwischen Tissue factor Konzentration und Erkrankungsaktivität vermuten.

Tissue factor Expression auf Monozyten

Bei der durchflußzytometrischen Untersuchung der Tissue factor Expression von Monozyten (CD 14) finden wir bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie zum Zeitpunkt der Diagnosestellung signifikant erhöhte Werte im Vergleich zu Normalprobanden.

Der Median der mittleren Fluoreszenzintensität (MFI) als Ausdruck der TF-Expression liegt deutlich über dem MFI-Median der Kontrollgruppe (vgl. Tab. 3.3.1 und Abb. 3.3.1).

Wie zuvor erwähnt, sind Monozyten unter bestimmten Bedingungen in der Lage, Tissue factor auf ihrer Zelloberfläche zu exprimieren.

Potentielle Auslöser dieser transienten Expression sind u.a. Endotoxine, verschiedene Cytokine, C-reaktives Protein und maligne Zellen [Bevilacqua et al. 1986, Cermak et al. 1993, Lorenzet et al. 1998].

Bereits 1991 fanden Kubota et al. auf leukämischen Kulturzellen deutlich erhöhte Tissue factor-Antigen Konzentration und Tissue factor-Aktivität [Kubota et al. 1991].

Studien von Lopez-Pedreria et al. und Oelschlägel et al. zeigen, dass bei AML Patienten erhöhte TF-Expression auf den unreifen Blasten (CD34) nachweisbar ist [Lopez-Pedreria et al. 2001, Oehlschlaegel et al. 2003].

Maligne Zellen, wie hier die transformierten Blasten, sind dementsprechend ebenfalls in der Lage, Tissue factor zu exprimieren.

Die Expression von Tissue factor auf Monozyten stellt somit nur einen Beitrag zur gesamten Tissue factor Aktivität im Rahmen maligner Erkrankungen dar. Um Einblick in die komplexen Interaktionen auf zellulärer Ebene im Rahmen der Gerinnungsaktivierung zu bekommen, müssten zusätzlich andere Zellreihen bezüglich der Tissue factor Expression untersucht werden.

TF als möglicher prognostischer Faktor

Unsere Studie zeigt eine positive Korrelation zwischen Tissue factor Konzentrationen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und der Überlebenszeit von Patienten mit akuter myeloischer Leukämie.

In einer Studie von Ueno et al., bei der Patientinnen mit Mammakarzinom bezüglich der Tissue factor Konzentration untersucht wurden, zeigte sich ebenfalls eine Korrelation zwischen Tissue factor Konzentration und der Überlebenswahrscheinlichkeit der Patientinnen.

Ueno beobachtete, dass Patientinnen, die als "TF-negativ" galten, im weiteren Krankheitsverlauf vorerst keine Lebermetastasen entwickelten [Ueno et al. 2000].

Lebermetastasen gelten im Zusammenhang mit Mammakarzinom als prognostisch ungünstiger Faktor für das Outcome der Patienten/innen [Yamamoto et al. 1998].

Wie bereits 1994 von Zhang beschrieben, kommt dem TF eine bedeutende Rolle in Bezug auf Tumorangiogenese und Metastasierung zu [Zhang et al. 1994].

Beide Prozesse - Tumorangiogenese und Metastasierung - beeinflussen die Progredienz der Erkrankung und somit das Outcome der Patienten mit soliden Tumoren sowie hämatologischen Neoplasien [Dammacco et al. 2000].

Ebenfalls wurde beschrieben, dass Tissue factor Expression auf Tumorzellen positiv mit dem Grad der Malignität in Gliom- und Pankreastumorzellen korreliert [Kakkar et al. 1995, Hamada et al. 1996].

Auch dieser Erklärungsansatz könnte, neben der gesteigerten Metastasierungsrate, für das schlechtere Outcome der Patienten mit höheren TF-Werten verantwortlich sein.

Vor diesem Hintergrund muss Tissue factor als prognostischer Marker für die Überlebenszeit von Patienten mit akuter myeloischer Leukämie diskutiert werden. Breiter angelegte Studien sollten hier weitere Ergebnisse liefern.

5 Zusammenfassung

Patienten mit akuter myeloischer Leukämie haben ein deutlich erhöhtes Risiko, lebensbedrohliche Blutungskomplikationen zu erleiden. Tiefgreifende Veränderungen des Gerinnungssystems im Rahmen akuter Leukämien sind beschrieben.

Auch wir konnten Gerinnungsveränderungen bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie nachweisen – insbesondere erhöhte Gerinnungsaktivierungsparameter.

Erhöhte D-Dimer Konzentrationen im Initialstadium der Erkrankung lassen auf eine gesteigerte fibrinolytische Aktivität im Gegensatz zu einer mäßig gesteigerten plasmatischen Gerinnungsaktivierung - bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie - schließen.

Bei AML Patienten mit kompletter Remission nach Induktionstherapie zeigt sich eine Normalisierung von Gerinnungsaktivierungsparametern, Tissue factor und D-Dimer im Vergleich zu AML Patienten, die keine komplette Remission erreichten.

Die Gerinnungs- und Fibrinolyseaktivität scheint somit eng mit der Aktivität der Erkrankung verknüpft zu sein.

Die positive Korrelation zwischen Tissue factor und Überlebenszeit der AML Patienten weist darauf hin, dass das Ausmaß der Tissue factor Erhöhung als prognostischer Faktor bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie verwendet werden kann.

6 Conclusion

Patients with acute myelogenous leukemia have a significant higher risk of suffering from life-threatening hemorrhagic diathesis. Fundamental hemostatic disorders are well known in the course of acute leukemias.

We also could prove changes in coagulation for patients with acute leukemia – especially enhanced parameters indicating activation of coagulation.

Increased D-Dimer levels in initial onset of the disease indicate an elevated fibrinolytic activation in the contrary of a moderate increased coagulation activation for patients with acute myelogenous leukemia.

After cytotoxic treatment patients with a complete remission show a normalization of coagulation activation markers, Tissue factor and D-Dimer in comparison to patients who did not reach complete remission.

It seems that activation of coagulation and activation of fibrinolysis are closely connected with the activity of the disease.

The positive correlation between plasma Tissue factor and survival time of AML patients point out, that the altitude of the Tissue factor level might be useful for predicting the clinical outcome in patients with acute myelogenous leukemia.

7 Ausblick

Als Hauptaktivator des Gerinnungssystems spielt Tissue factor eine wichtige Rolle bei Tumorpatienten und Patienten mit hämatologischen Neoplasien. Nach unseren Ergebnissen existieren Zusammenhänge zwischen Gerinnungs- und Krankheitsaktivität bzw. Remissionsstatus bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie. Dennoch hat sich bisher noch keine gerinnungsspezifische Therapie bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie etablieren können. Weitere Studien sind nötig, um die komplexen Interaktionen zwischen Gerinnungssystem und Tumor- bzw. Leukämiezelle zu beleuchten.

8 Abkürzungsverzeichnis

a	aktivierter Faktor
Abb.	Abbildung
AML	akute myeloische Leukämie
ANLL	akute nichtlymphozytäre Leukämie
APL	akute promyelozytäre Leukämie
aPTT	aktivierte Partielle Thromboplastinzeit
AT	Antithrombin
BE	Blutentnahmen
BP	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
Ca ⁺⁺	Calciumionen
CD	Cluster of differentiation
CLL	chronisch lymphatische Leukämie
CML	chronisch myeloische Leukämie
CR	komplette Remission
D	Dalton
d.h.	das heißt
DIC	disseminierte intravasale Gerinnung
et al.	et alii (und andere)
F	Faktor
FAB	French American British Group
FITC	Fluorescein
FSP/FDP	Fibrinospaltprodukte
F1+2	Prothrombinfragment F1+2
Hb	Hämoglobin
INR	Internationale Normalisierte Ratio
k	Kilo
m	männlich
MFI	Mittlere Fluoreszenzintensität
MG	Molekulargewicht
n	Anzahl
nm	Nanometer
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PC	Protein C
PE	Phycoerythrin
POD	Peroxidase
PS	Protein S
S	Standardabweichung
sec.	Sekunden
s.o.	siehe oben
Tab.	Tabelle
TAT	Thrombin-Antithrombin-Komplex
TF	Tissue factor
TFPI	Tissue factor pathway inhibitor
TPZ	Thromboplastinzeit
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
t-PA	tissue-Plasminogen-Aktivator
u.a.	unter anderem

u-PA	urokinase-Plasminogen-Aktivator
vgl.	vergleiche
w	weiblich
z.B.	zum Beispiel

9 Literaturverzeichnis

Al-Mondhiry H:

Disseminated intravascular coagulation. Experience in a major cancer center.
Thromb. Diath. Hemorrh. 34: 181-193 (1975).

Ambrus JL, Ambrus CM, Pickern J, Soldes S, Bross I:

Hematologic changes and Thromboembolic complications in neoplastic diseases and their relationship to metastasis.
J. Med. 6: 433-458 (1975).

Andoh K, Kubota T, Takada M, Tanaka H, Kobayashi N, Maekawa T:

Tissue factor activity in leukemia cells. Special reference to disseminated intravascular coagulation.
Cancer. 59(4): 748-754 (1987).

Barthels M, von Depka M:

Das Gerinnungskompandium.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York 2003.

Barthels M, Poliwoda H:

Gerinnungsanalyse.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York 1998⁶.

Bauer KA, Rosenberg RD:

Thrombin generation in acute promyelocytic leukemia.
Blood. 64(4): 791-796 (1984).

Bazan JF:

Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 87: 6934-6938 (1990).

Becker DM, Philbrick JT, Bachhuber TL, Humphries JE:

D-Dimer testing and acute venous thromboembolism.

Arch. Intern. Med. 156(9): 939-946 (1996).

Bevilacqua MP, Pober JS, Majeau GR, Fiers W, Cotran RS, Gimbrone MA Jr:

Recombinant tumor necrosis factor induces procoagulant activity in cultured human vascular endothelium: characterization and comparison with the action of interleukin-1.

1. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 83: 4533-4537 (1986).

Bierhaus A, Zhang Y, Ziegler R, Nawroth PP:

Does tissue factor participate in angiogenesis?

Atherosclerosis. XI: 763-767 (1998).

Carmeliet P, Mackman N, Moons L, Luther T, Gressens P, Van Vlaenderen I, Demunck H, Kasper M, Breier G, Evrard P, Muller M, Risau W, Edgington T, Collen T:

Role of tissue factor in embryonic blood vessel development.

Nature. 383(6595): 73-75 (1996).

Carson SD, Henry WM, Shows T:

Tissue Factor gene localised to human chromosome 1 (1pter-1p21).

Science. 229: 991-993 (1985).

Cermak J, Key NS, Bach RR, Balla J, Jacob HS, Vercellotti GM:

C-reactive protein induces human peripheral blood monocytes to synthesize tissue factor.

Blood. 82(2): 513-520 (1993).

Chapman CS, Akhtar N, Campbell S, Miles K, O'Connor J, Mitchell VE:

The use of D-Dimer assay by enzyme immunoassay and latex agglutination techniques in the diagnosis of deep vein thrombosis.

Clin. Lab. Haematol. 12: 37-42 (1990).

Chojnowski K, Wawrzyniak E, Trelinski J, Niewiarowka J, Cierniewski C:

Assessment of coagulation disorders in patients with acute leukemia before and after cytostatic treatment.

Leuk Lymphoma. 36(1-2): 77-84 (1999).

Cielinska S, Urbaniak-Kujda D, Kielbinski M, Milczarska J, Kuliczowski K:

Observation of D-Dimer levels in serum of patients with acute leukemia.

Pol. Arch. Med. Wewn. 103(1-2): 7-14 (2000).

Classen M, Diehl V, Kochsiek K:

Innere Medizin.

Urban & Schwarzenberg Verlag, München-Wien-Baltimore (1998).

Cunningham MA, Romas P, Hutchinson P, Holdsworth SR, Tipping PG:

Tissue Factor and Factor VIIa Receptor/Ligand Interactions Induce Proinflammatory Effects in Macrophages.

Blood. 94: 3413-3420 (1999).

Dammacco F, Vacca A, Ribatti D, Merchionne F:

Angiogenesis and Antiangiogenesis in Cancer.

Biomedical Progress. 13: 57-62 (2000).

D'Angelo A, D'Alessandro G, Tomassini L:

Evaluation of a new rapid quantitative D-dimer assay in patients with clinically suspected deep vein thrombosis.

Thromb. Haemost. 75: 412-416 (1996).

Dietel M, Dudenhausen J, Suttrop N:

Harrisons Innere Medizin 1.

ABW Wissenschaftsverlag Berlin 2003.

Drake TA, Morrissey JH, Edgington TS:

Selective cellular expression of tissue factor in human tissues. Implication for disorders of hemostasis and thrombosis.

Am. J. Pathol. 134(5): 1087-1097 (1989).

Edward RL, Rickles FR, Moritz TE, Henderson WG, Zacharski LR, Forman WB, Cornell CJ, Forcier RJ, O'Donnell JF, Headley E, Kim SH, O'Dell R, Torniyos K, Kwaan HC:

Abnormalities of Blood Coagulation Tests in Patients with Cancer.

Am. J. Clin. Path. 88: 596-602 (1987).

Edgington TS, Mackman N, Brand K, Ruf W:

The structural biology of expression and function of tissue factor.

Thromb. Haemost. 66: 67-79 (1991).

Falanga A, Gordon SG:

Isolation and characterization of cancer procoagulant A: A cysteine protease from malignant tissue.

Biochem. 24: 5558-5567 (1985).

Fischer EG, Ruf W, Mueller BM:

Tissue factor-initiated thrombin generation activates the signaling thrombin receptor on malignant melanoma cells.

Cancer Res. 55: 1629-1632 (1995).

Furie B, Furie BC:

Molecular and cellular biology of blood coagulation.

N. Engl. J. Med. 326: 800-806 (1992).

Gerok W, Huber C, Meinertz T, Zeidler H:

Die Innere Medizin.

Schattauer Verlag, Stuttgart 2000.

Gordon SG, Franks JJ, Lewis B:

Cancer procoagulant A: A factor X-activating procoagulant from malignant tissue.

Thromb. Res. 6: 127-137 (1975).

Gordon SG, Mielicki WP:

Cancer procoagulant: a factor X activator, tumor marker and growth factor from malignant tissue.

Blood Coagulation Fibrinolysis. 8: 73-86 (1997).

Gralnick HR, Marchesi S, Givelber H:

Intravascular coagulation in acute leukemia: clinical and subclinical abnormalities.

Blood. 40: 709-718 (1972).

Grignani F, Fagioli M, Alcalay M, Longo L, Pandolfi PP, Donti E, Biondi A, Lo Coco F, Grignani F, Pelicci PG:

Acute promyelocytic Leukemia: From genetics to treatment.

Blood. 83: 10-25 (1994).

Gustafsson C, Blomback M, Britton M:

Coagulation factors and the increased risk of stroke in nonvalvular atrial fibrillation.

Stroke. 21: 47-51 (1990).

Hair GA, Padula S, Zeff R, Schmeizl M, Contrino J, Kreutzer DL, de Moerloose P, Boyd AW, Stanley I, Burgess AW, Rickles FR:

Tissue Factor Expression in Human Leukemic Cells.

Leukemia Res. 20(1): 1-11 (1996).

Hamada K, Kuratsu J, Saitoh Y, Takeshima H, Nishi T, Ushio Y:

Expression of tissue Factor correlates with grade of malignancy in human glioma.

Cancer. 77: 1877-1883 (1996).

Heimburger N:

Gerinnung und Fibrinolyse.

Medizinische Verlagsgesellschaft Marburg 1989.

Higuchi T, Shimizu T, Mori H, Niikura H, Omine M:

Coagulation patterns of disseminated intravascular coagulation in acute promyelocytic leukemia.

Hematol. Oncol. 15(4): 209-217 (1997).

Kakkar AK, Lemoine NR, Scully MF, Tebbutt S, Williamson RC:

Tissue factor expression correlates with histological grade in human pancreatic cancer.

Br. J. Surg. 82: 1101-1104 (1995).

Kakkar AK, DeRuvo N, Chinswangwatanakul V, Tebbutt S, Williamson RCN:

Extrinsic-pathway activation in cancer with high factor VIIa and tissue factor.

Lancet. 346: 1004-1005 (1995).

Kemkes-Matthes B:

Untersuchungen zur klinischen Bedeutung des Protein C - Protein S - Systems.

Habilitationsschrift, Gießen 1991.

Kemkes-Matthes B, Oehler G:

Blutgerinnung und Thrombose.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart – New York 2001³.

Koyama T, Hirosawa S, Kawamata N, Tohada S, Aoki N:

All-trans-Retinoic Acid Upregulates Thrombomodulin and Downregulates Tissue-Factor Expression in Acute Promyelocytic leukemia Cells: Distinct Expression of Thrombomodulin and Tissue Factor in Human Leukemic Cells.

Blood. 84: 3001-3009 (1994).

Kruskal JB, Commerford PJ, Franks JJ, Kirsch RE:

Fibrin and fibrinogen related antigens in patients with stable and unstable coronary disease.

N. Engl. J. Med. 317: 1362-1365 (1987).

Kubota T, Andoh K, Sadakata H, Tanaka H, Kobayashi N:

Tissue factor released from leukemic cells.

Thromb. Haemost. 65(1): 59-63 (1991).

Lopez-Pedreria C, Dodado-Berrios PM, Ros R, Torres A, Garcia-Navarro S, Jardi M, Felez J, Valesco F:

Signal transduction pathways underlying the expression of tissue factor and thrombomodulin in promyelocytic cells induced to differentiate by retinoid acid and dibutyryl cAMP.

Thromb. Haemost. Jun;85(6): 1031-6 (2001).

Lorenzet R, Napoleone E, Celi A, Pelligrini G, Di Santo A:

Cell-cell interaction and tissue factor expression.

Blood Coagulation and Fibrinolysis. 9(suppl 1): 49-59 (1998).

Lorenzet R, Peri G, Locati D, Allavena P, Colucci M, Semeraro N, Mantovani A, Donati MB:

Gernation of procoagulant activity by mononuclear phagocytes: a possible mechanism contributing to blood clotting activation within malignant tissues.

Blood. 62: 271-273 (1983).

Miller SP, Sanchez-Avalos J, Stefanski T, Zuckerman L:

Coagulation disorders in cancer. I. Clinical and laboratory studies.

Cancer. 20: 1452-1465 (1967).

Morawitz P:

Die Chemie der Blutgerinnung.

Ergebnisse der Physiologie. 4: 307-422 (1905).

Morrison M:

An analysis of the blood picture in 100 cases of malignancy.

J.. Lab. Clin. Med. 17: 1071 (1932).

Müller-Berghaus G, Pötzsch B:

Hämostaseologie.

Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg 1999.

Naitoh M, Andoh K, Sadakata H, Tanaka H, Kobayashi N:

Prediction of disseminated intravascular coagulation in patients with leukemia.

Intern. Med. 33(3): 131-5 (1994).

Nakasaki T, Wada H, Mori Y, Okugawa Y, Watanabe R, Nishikawa M, Gabazza EC, Masuya M, Kageyama S, Kumeda K, Kato H, Shiku H:

Decreased Tissue factor and tissue-plasminogen activator antigen in relapsed acute promyelocytic leukemia.

American Journal of Hematology. 64(3): 145-50 (2000).

Nakasaki T, Wada H, Watanabe R, Mori Y, Gabazza EC, Kageyama S, Nishikawa M, Shiku H:

Elevated tissue factor levels in leukemic cell homogenate.

Clin. Appl. Thromb. Hemost. 6(1): 14-17 (2000).

Nemerson Y:

Tissue factor and hemostasis.

Blood. 71: 1-8 (1988).

Nijziel MR, van Oerle R, van Pampus ECM, de Vet HCW, Hillen HFP, Hamulyak K:

Increased D-Dimer Levels Correlate with binding of activated Protein C, but not Tissue factor Expression, on Peripheral Blood Monocytes in Cancer Patients.

Am. J. Hematol. 64: 282-286 (2000).

Oelschlaegel U, Luther T, Nowak R, Kotzsch M, Ehninger G:

Tissue factor Expression in acute myeloid leukemias.

Onkologie. 26(5): 98 (2003).

Phillips LI, Skodelis V, Furey CA:

The fibrinolytic enzyme system in prostatic cancer.

Cancer. 12: 721 (1959).

Pötzsch B, Madlener K:

Gerinnungskonsil.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart – New York 2002.

Radziwon P, Schenk JF, Mazgajska K, Boczkowska-Radziwon B, Galar M, Kloczko J, Wojtukiewicz MZ:

Tissue factor (TF) and inhibitor (TFPI) concentrations in patients with urinary tract tumors and haematological malignancies.

Pol. Merkuriusz Lek. Oct; 13(76): 308-11 (2002).

Raimondi P, Bongard O, de Moerloose P, Reber G, Waldvogel F, Bounameaux H:

D-Dimer plasma concentration in various clinical conditions: implication for the use of this test in the diagnostic approach of venous Thromboembilism.

Thromb. Res. 69: 125-130 (1993).

Rickles FR, Edward RL:

Activation of blood coagulation in Cancer: Trousseau's Syndrome revisted.

Blood. 62(1): 14-31 (1983).

Rickles FR, Edwards RL, Barb C:

Abnormalities of blood coagulation in patient with cancer. Fibrinopeptide A gernation and tumor growth.

Cancer. 51: 301 (1983).

Salomone T, Tosi P, Palareti G, Tomassetti P, Migliori M, Guariento A, Saieva C, Raiti C, Romboli M, Gullo L:

Coagulative Disorders in Human Acute Pancreatitis: Role for the D-Dimer.

Pancreas. 26(2): 111-116 (2003).

Sato Y, Asada Y, Marutsuka K, Hatakeyama K, Sumiyoshi A:

Tissue Factor induces Migration of Cultured Aortic Smooth muscle Cells.

Thromb. Haemost. 75: 389-92 (1996).

Sato Y, Asada Y, Marutsuka K, Hatakeyama K, Kamikubo Y, Sumiyoshi A:

Tissue factor pathway inhibitor inhibits aortic smooth muscle cell migration induced by tissue factor/factor VIIa complex.

Thromb. Haemost. 78: 1138-1141 (1997).

Schmidt A:

Zur Blutlehre.

Vogel, Leipzig 1892.

Slickter SJ, Harker LA:

Hemostasis in malignancy.

Ann. NY. Acad. Sci. 230: 252 (1974).

Taguchi O, Gabazza EC, Yasui H, Kobayashi T, Yoshida M, Kobayashi H:

Prognostic significance of plasma D-Dimer levels in patients with lung cancer.

Thorax. Jun;52(6): 536-5 (1997).

Tallman MS, Kwaan HC:

Reassessing the hemostatic disorder associated with acute promyelocytic leukemia.

Blood. 79: 543-53 (1992).

Tallman MS, Kwaan HC, Hakimian D, Rickles FR:

New insights into the pathogenesis of coagulation dysfunction in acute promyelocytic leukemia.

Leuk. Lymphoma. 11: 27-36 (1993).

Tanaka M, Yamanishi H:

The expression of tissue factor antigen and activity on the surface of leukemic cells.

Leuk. Res. 17(2): 103-11 (1993).

Trousseau A:

Phlegmasia alba dolens.

Clin. Med. de L'Hotel de Paris 3 :94 (1865).

Ueno T, Toi M, Koike M, Nakamura S, Tominaga T:

Tissue factor expression in breast cancer tissues: its correlation with prognosis and plasma concentration.

British Journal of Cancer. 83(2): 164-170 (2000).

Valesco F, Torres A, Rojas R, Alvarez MA, Gomez P, Castillo D:

Increase in the D-Dimer levels during treatment in patients with acute myelogenous leukemia.

Haemostasis. 22(3): 117-23 (1992).

Valesco F, Lopez-Pedreria C, Borrell M, Fontcuberta J, Torres A:

Elevated levels of tissue factor pathway inhibitor in acute non-lymphoblastic leukemia patients with disseminated intravascular coagulation.

Blood Coagulation and Fibrinolysis. 8: 70-72 (1996).

Von Kries R, Ebell W, Jurgens H, Gobel U:

Blood coagulation changes in children with acute myelogenous leukemia: thrombin effect or proteolysis.

Klin. Padiatr. 196(3): 174-177 (1984).

Watanabe R, Murata M, Takayama N, Tokuhira M, Kizaki M, Okamoto S, Kawai Y, Watanabe K, Murakami H, Kikuchi M, Nakamura S, Ikeda Y:

Long-term follow-up of hemostatic molecular markers during remission induction therapy with all-trans retinoic acid for acute promyelocytic leukemia. Keio Hematology-Oncology Cooperative Study Group (KHOCS).

Thromb. Haemost. 77(4): 641-645 (1997).

Weess RB, Tormey DC, Holland JF, Weinberg VE:

Venous thrombosis during multimodal treatment of primary breast carcinoma.

Cancer Treat. Rep. 65: 677-679 (1981).

Weltermann A, Pabinger I, Geissler K, Jager U, Gisslinger H, Knobl P, Eichinger S, Kyrle PA, Valent P, Speiser W, Schwarzingler I, Mannhalter C, Lechner K:
Hypofibrinogenemia in non-M3 acute myeloid leukemia. Incidence, clinical and laboratory characteristics and prognosis.
 Leukemia. 12(3): 1182-6 (1998).

Yale SA:
Thrombosis and cancer.
 Seminars in Oncology. 27(3): 362-374 (2000).

Yamamoto N, Watanabe T, Katsumata N, Omuro Y, Ando M, Fukuda H, Takue Y, Narabayashi M, Adachi I, Takashima S:
Construction and validation of practical prognostic index for patients with metastatic breast cancer.
 J. Clin. Oncol. 16: 2401-2408 (1998).

Yodo Y, Abe T:
Fibrinopeptide A (FPA) level and fibrinogen kinetics in patients with malignant disease.
 Thromb. Haemost 46: 706 (1981).

Zhang Y, Deng Y, Luther T, Muller M, Ziegler R, Waldherr R, Stern DM, Nawroth PP:
Tissue factor controls the balance of angiogenic and antiangiogenic properties of tumor cells in mice.
 J. Clin. Invest. 94: 1320-1327 (1994).

10 Anhang

Erklärung

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Danksagung

Bei allen, die mich bei der Durchführung dieser Dissertationsarbeit auf vielfältige Weise unterstützt haben, möchte ich mich ganz herzlich bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. B. Kemkes-Matthes und Herrn Dr. med. K. Fenchel für die freundliche Überlassung des Themas und die stets zuverlässige und engagierte Betreuung bei der Fertigstellung meiner Arbeit.

Ebenso gilt mein Dank Frau Nees, die mich durch ihre herzliche und freundliche Art bei der Messung der Proben unterstützt hat und mir stets mit Rat und Tat zur Seite stand. Sie trägt großen Anteil am Gelingen dieser Arbeit.

Für die fachliche und technische Unterstützung am Durchflußzytometer möchte ich Herrn Dr. med. A. Matzdorff und Frau Kühnel danken.

Danken möchte ich auch Herrn Pabst aus dem Institut für medizinische Informatik für seine umfassende und lehrreiche statistische Beratung.

Mein ganz persönlicher Dank gehört meiner Familie, die mich immer wieder ermutigt und angehalten hat, Begonnenes auch zu vollenden.

Für Emma

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Anja Frevel, geb. Görg
 Geburtsdatum: 18.10.1971
 Geburtsort: Siegen
 Familienstand: verheiratet, eine Tochter, Emma-Marie

Schulausbildung

1978 – 1982 Grundschole Hainchen
 1982 – 1988 Realschole Netphen
 1988 – 1991 Gymnasium Stift Keppel

Berufsausbildung/-tätigkeit

1993 – 1995 Ausbildung zur MTLA an der Universitätsklinik
 zu Köln
 1995 – 1996 Tätigkeit als MTLA im Zentrallabor der
 Universitätsklinik zu Köln

Hochschulstudium

1991 - 1993 Diplom Studiengang Heilpädagogik an der pädagogischen
 Fakultät der Universität Köln
 04/1996 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der
 Justus – Liebig – Universität Gießen
 04/1998 Ärztliche Vorprüfung
 04/1999 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

- 10/2000 Posterpräsentation auf der gemeinsamen Jahrestagung der Deutschen und Österreichischen Gesellschaften für Hämatologie und Onkologie in Graz/Österreich
 Titel:
 - *Quantifikation of Tissue-Factor Antigen Expression on Monocytes and Neutrophils.*
- 04/2001 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
- 10/2001 Beginn des Praktischen Jahres im Kreisklinikum Siegen
- 10/2002 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
- 11/2002 Ärztin im Praktikum in der anästhesiologischen Abteilung des Kreisklinikums Siegen bei Dr. med. U. Nordmeyer
- 10/2003 Präsentation der Ergebnisse der Promotion auf der gemeinsamen Jahrestagung der Deutschen, Österreichischen und Schweizerischen Gesellschaften für Hämatologie und Onkologie in Basel/Schweiz
 A.Frevel, K.Fenchel, H.Pralle, B.Kemkes-Matthes:
Tissue factor and D-Dimer in acute myeloid leukemia.
 Onkologie 26(S5):62 (2003).
- seit 05/2004 Assistenzärztin in der anästhesiologischen Abteilung des Kreisklinikums Siegen bei Dr. med. U. Nordmeyer