

Beitrag zur Genese der Leberfibrose nach Leukämiebehandlung im Kindesalter und experimentelle Untersuchungen zur sogenannten Methotrexatfibrose

Von

J. JUSTUS

Abteilung für Päthopathologie des Pathologischen Instituts der Medizinischen
Akademie »Carl Gustav Carus« Dresden

(Eingegangen am 9. Mai 1970)

Es werden 41 kindliche Leukämiefälle im Hinblick auf ein Zusammentreffen von Leberfibrose und Leukämie untersucht; 4mal wurde bei Parablastenleukose eine Leberfibrose beobachtet, davon 3mal mit einem Umbau im Sinne einer Zirrhose. Eines der Kinder erhielt ausschließlich Methotrexat, die anderen alternierend Methotrexat und 6-Mercaptopurin. Voraussetzung für die Entstehung der Fibrose ist die leukotische Infiltration mit Zerstörung von Parenchym; die nachfolgende Bindegewebsbildung wird durch die methotrexatbedingte Unterdrückung der Leberzellregeneration begünstigt. Die Progredienz des Leberprozesses geht parallel mit dem Grad der leukotischen Infiltration der Periportalfelder. Von Bedeutung sind ferner Überlebenszeit bzw. Therapieerfolg.

Durch Methotrexat-Langzeitversuche an weißen Mäusen konnte die obengenannte Ansicht zur Entstehung der Fibrose gestützt werden. Bei einer Dosierung, die der Dosierung beim Menschen entspricht, wurden keine Fibrosen bzw. Leberschäden erzeugt.

Leberfibrosen und -zirrhosen wurden bereits in früheren Jahren bei Leukosekranken beobachtet. Seit Einführung der zytostatischen Therapie mehren sich jedoch die Mitteilungen über das Auftreten von Leberfibrose, besonders im Rahmen der Behandlung kindlicher Leukämien mittels Folsäureantagonisten. Der pathogenetische Zusammenhang zwischen den beobachteten Leberfibrosen und der Therapie wird unterschiedlich interpretiert. Einzelbeobachtungen von Leberfibrosen nach zytostatischer, insbesondere Methotrexat-Therapie veranlaßten uns zur gezielten Unter-

suchung unserer kindlichen Leukämiefälle und zu tierexperimentellen Untersuchungen zur sogenannten Methotrexatfibrose.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Mit der obengenannten Fragestellung wurden die 41 kindlichen Leukämiefälle der letzten 5½ Jahre unserer Abteilung untersucht. Aus Tab. I sind die wesentlichsten Befunde der im genannten Zeitraum an Leukämie verstorbenen Kinder zu ersehen. Eine Aufteilung in Gruppen nach der Über-

TABELLE I
Daten von 41 an Leukämie verstorbenen Kindern

Überlebenszeit v. Beginn d. Symptomatik	Zahl der Fälle	Zytostatische Therapie				Leukosetyp			Leberfibrose
		keine	Metho- trexat allein	Metho- trexat u. 6- Mercap- topurin	6-Mer- capto- purin allein und sonstige	Para- blasten- leukose	Myelo- ische	sonstige	
bis 6 Mon.	29	16	1	2	10	19	6	4	5×sehr geringgra- dig (Minimalbef- funde)
7—12 Mon.	2			1	1	2			1×sehr geringgra- dig (Minimalbef- fund)
13—18 Mon.	7		2	5		7			3×Leberfibrose mit Parenchym- umbau (Tab. 2)
19—24 Mon.	3		1	2		3			1×sehr gering- gradig (Minimal- befund) 1×mit- telgradig

lebenszeit von Beginn der Symptomatik erschien zweckmäßig, da der Zeitfaktor bei der Entstehung einer Leberfibrose von vornherein als bedeutungsvoll anzusehen war.

In unserem Untersuchungsgut ist 23mal das männliche und 18mal das weibliche Geschlecht vertreten. Insbesondere bei den Kindern mit längerer Überlebenszeit wurde im Rahmen der zytostatischen Kombinationstherapie stets Methotrexat verabfolgt. Am häufigsten erhielten die Kinder alternierend alle 3 Monate Methotrexat (durchschnittlich $1\frac{1}{2}$ Tabl. täglich zu 2,5 mg) und 6-Mercaptopurin (ebenfalls durchschnittlich

$1\frac{1}{2}$ Tabl. zu 50 mg pro Tag). Eine stärkere Leberfibrose mit Parenchymumbau fand sich in drei Fällen, die im folgenden näher besprochen werden sollen. Tabelle II gibt einen Überblick über die wichtigsten klinischen* und pathologisch-anatomischen Daten der Kinder. Eine Hepatitis infectiosa oder sonstige Lebererkrankungen lagen in der Anamnese nicht vor. Im Fall 1 wurde keine völlige Remission erzielt; zur Zeit der Obduktion fanden sich eine leukotische Umwandlung der blutbildenden Organe sowie leukotische Infiltrate in den parenchymatösen Organen, besonders der Nieren. Als Kom-

* Für die Überlassung der klinischen Befunde danken wir Herrn Professor Dr. med. habil. Dietzsch, Direktor der hiesigen

Kinderklinik sowie Herrn Dr. Kahleyss, Chefarzt der Kinderklinik des Kreiskrankenhauses Meißen, sehr herzlich.

TABELLE II

Befunde von 3 Kindern mit Leberfibrose nach zytostatischer Leukämiebehandlung

1) Sch. E. weibl. 2) H. R. männl. 3) T. R. männl.

Diagnose	Parablastenleukose	Parablastenleukose	Parablastenleukose
Alter bei Beginn d. Symptomatik, Jahre	4 $\frac{1}{12}$	2 $\frac{4}{12}$	5 $\frac{8}{12}$
Überlebenszeit in Jahren	1 $\frac{4}{12}$	1 $\frac{10}{12}$	1 $\frac{5}{12}$
Therapie	Methotrexat (Gesamtdosis 385,0 mg) und Prednison	Methotrexat u. 6-Mercaptopurin alternierend im Wechsel aller 3 Monate Prednison	Methotrexat u. 6-Mercaptopurin alternierend im Wechsel alle 3 Monate Prednison
Autoptischer Leberbefund	Stärkere Fibrose mit herdförmigem Parenchyumbau. Schütterle leukotische Infiltrate in Periportalfeldern mit geringer Progredienz des Parenchyumbaus	Fibrose mit herdförmigem Parenchyumbau im Sinne einer feinknotigen portalen Zirrhose. Spärliche leukotische Restinfiltrate in den Periportalfeldern. Keine nennenswerte Progredienz des Umbauprozesses	Interstitielle Fibrose mit kleinknotigem Parenchyumbau. Stärkere leukotische Infiltration der Periportalfelder mit Zeichen der Progredienz des Umbauprozesses

plikation der zytostatischen und Prednisontherapie traten terminal eine pseudomembranös-nekrotisierende Laryngo-Pharyngitis und Oesophagitis mit Soorbefall sowie eine Soorsepsis auf.

Im Fall 2 wurde eine Remission erzielt; zur Zeit der Obduktion fanden sich nur leukotische Restinfiltrate in den blutbildenden Organen. Im Vordergrund standen jetzt die therapiebedingten Komplikationen, insbesondere die Leberfibrose mit Übergang in eine Zirrhose und die massive Aszitesbildung.

Bei dem 3. Kind bestanden zum Zeitpunkt der Sektion eine unreif-zellig-leukotische Umwandlung des

blutbildenden Markes, leukotische Infiltrate in Leber, Milz, Niere, Nebenniere sowie perivasale leukotische Infiltrate des Gehirns und eine Meningeosis leucaemica. Unmittelbare Todesursache war eine Septicopyämie.

Histologischer Leberbefund

In den genannten drei Fällen sind die Periportalfelder bindegewebig verbreitert und ihre zipfligen Ausläufer oft netzartig miteinander verbunden, dabei bleibt die Läppchenstruktur teils erhalten, teils wird sie zerstört, indem die Grenzlamelle durchbrochen und die Läppchen in kleine Areale und Pseudoazini gegliedert werden.

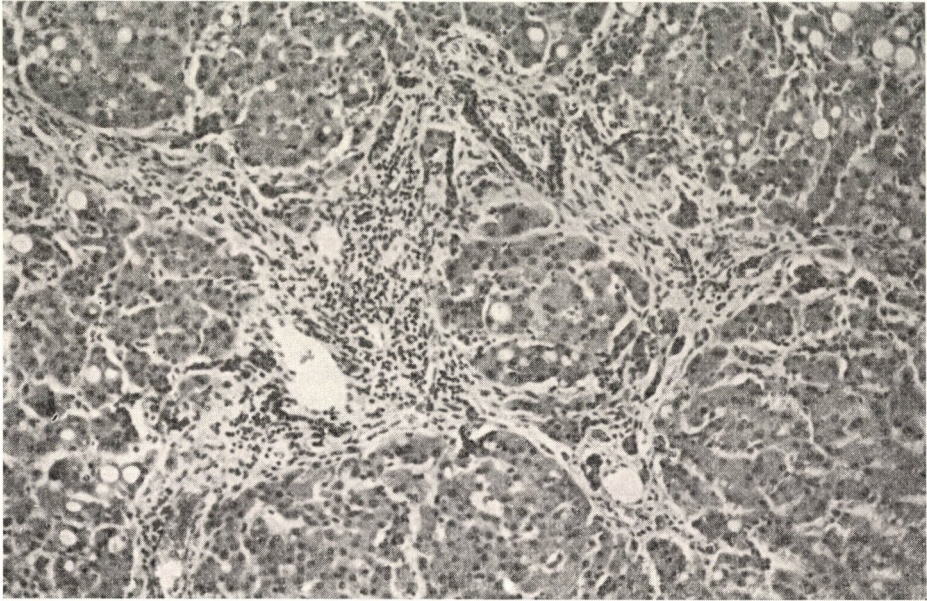


ABB. 1. Fall 1 HE 90 fach. Periportale Fibrose mit Parenchymbau. Mäßiggradige leukotische Infiltration der Periportalfelder

In dem Grenzgebiet zwischen Periportalfeld und Parenchym der Fälle 1 und 3 (Abb. 1 und 3) zeigen sich degenerative Leberzellveränderungen sowie riesenzellige Transformationen von Leberepithelien; diese Veränderungen fehlen weitgehend in Fall 2, hier bestehen die verbreiterten Periportalfelder im Gegensatz zu den Fällen 1 und 3 aus überwiegend derbfaserigem kollagenem Bindegewebe und sind schärfer abgegrenzt (Abb. 2).

Gallengangswucherungen fanden sich in allen drei Fällen. Die Infiltration der Periportalfelder durch leukämische Zellen geht etwa parallel mit dem Gehalt des hämatopoetischen Systems an leukämischen Zellen. So ist im Fall 2 (Abb. 2) mit weitgehender Remission der Gehalt der Periportal-

felder an leukämischen Zellen am geringsten. In allen Schnitten findet man Kollagenisierungen der Gitterfasern der Sinusoide sowie herdförmige grobtropfige Verfettungen der Leberepithelien, keine nennenswerte Cholostase oder Siderose der Leberepithelien bzw. der Sternzellen.

Bei den in Tabelle I als sehr geringgradig bezeichneten Fibrosen handelt es sich um eine teils diffuse und teils herdförmige Kollagenisierung von Gitterfasern der Sinusoide ohne sichtbare Beeinträchtigung der Leberepithelien. In der Leber des Kindes aus der Gruppe mit einer Überlebenszeit von 14 bis 24 Monaten (Tab. I, mittelgradige Fibrose) fanden sich einzelne mäßig verbreiterte Periportalfelder, von denen kurze bindegewebige Ausläufer in die Leberläpp-

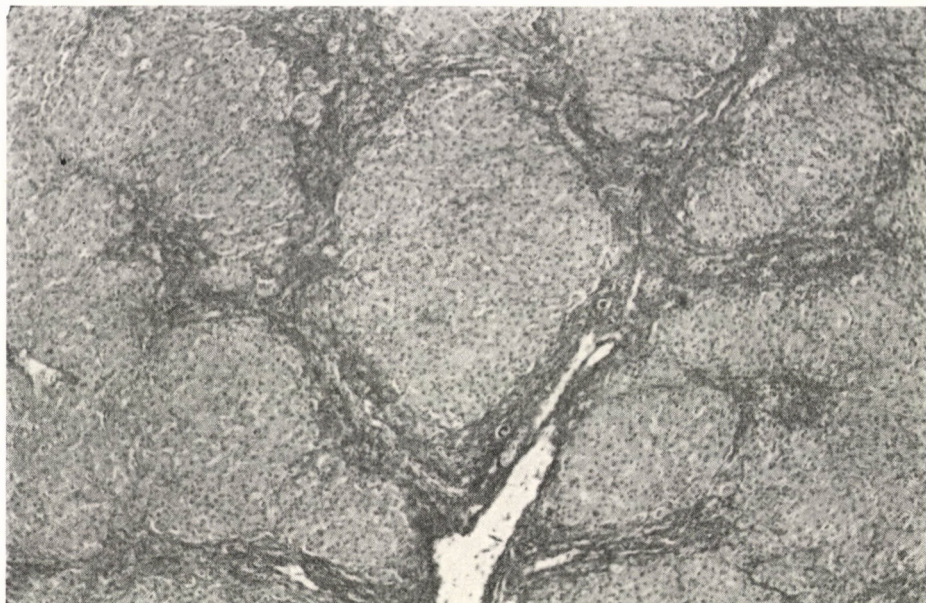


ABB. 2. Fall 2. van Gieson, 61 fach. Leberfibrose mit Parenchymbau. Verbreiterte Periportalfelder herdförmig wieder scharf vom Parenchym abgegrenzt. Spärliche leukotische Infiltrate

chen ausstrahlten, ohne das Parenchym in Pseudoazini zu zergliedern. Die Glissonschen Zwickel enthielten nur schütterere leukotische Restinfiltrate (Parablastenleukose) und keine Gallengangswucherungen.

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN

Zur Frage der methotrexatbedingten, d. h. der direkten zytostatisch bedingten Leberfibrose führten wir Langzeitversuche an männlichen weißen Mäusen (Stamm XVII) durch. 50 Tiere bekamen etwa ab 6. Lebenswoche mit dem Trinkwasser Methotrexat in der Dosierung 0,1 mg/kg Körpergewicht pro Tag. Nach 1 Jahr und 7 Monaten wurden die Versuche

durch Tötung der Tiere abgebrochen. Zur histologischen Untersuchung wurden nach makroskopischer Inspektion die gesamte Leber und die gesamte Lunge entnommen. Von der Leber fertigten wir außer Gefrierschnitten zur Sudanfärbung im üblichen Einbettungsverfahren Schnitte an mit folgenden Färbungen bzw. Reaktionen: HE, van Gieson, Trichrom nach Goldner, und PAS. Die Lungen wurden teilweise in Stufen aufgearbeitet, die Schnitte mittels HE gefärbt.

ERGEBNISSE

32 Tiere lebten bis zum Ende der Versuche. Bei keinem Tier, auch nicht bei den während der Versuche ad

exitum gekommenen, konnten Leberparenchymschäden oder Fibrose bzw. Zirrhose festgestellt werden. Bei 21 Tieren fanden sich jedoch Lungenadenome, wobei in einigen Fällen schon ein infiltratives Wachstum im Sinne eines Karzinoms zu verzeichnen war.

DISKUSSION

Über das gleichzeitige Auftreten von Leberfibrose bzw. -zirrhose und Leukämie vor der zytostatischen Therapie der Leukose liegen nur relativ wenige Mitteilungen vor [10, 11, usw.]. In den letzten Jahren mehren sich besonders im anglo-amerikanischen Schrifttum die Berichte über das Zusammentreffen beider Erkrankungen. So berichten TALERMAN und THOMPSON [16] über ein 7jähriges Kind, bei dem sich nach einer 12 Monate dauernden Methotrexattherapie eine Leberfibrose entwickelte. HITZIG u. SCHÄRER [6] beobachteten 3, COLSKY u. M. [3] 5 Kinder, bei denen sich nach erfolgreicher Leukämiebehandlung mittels Folsäureantagonisten Leberfibrose bzw. -zirrhose bildete. AMROMIN u. M. [1] fanden unter 139 Autopsien an Leukämie bzw. Lymphom Verstorbener insgesamt 4mal eine Leberfibrose mit herdförmigem Parenchymbau im Sinne einer postnekrotischen Zirrhose; die Behandlung erfolgte in diesen Fällen mit Chlorambucil und Uracil. Über einen hohen Prozentsatz von Leberzirrhose bei 146 Kindern mit akuter Leukämie nach Behandlung mit 6-Mercaptopurin und Methotrexat be-

richtete SOMM [15]. All die genannten Autoren sprechen den Zytostatika, besonders den Folsäureantagonisten eine ursächliche Bedeutung bei der Entstehung der Leberfibrose zu. Wir fanden eine nennenswerte Fibrose ebenfalls nur bei zytostatisch behandelten Kindern, wobei in der Kombinations-therapie stets Methotrexat vertreten war und in einem Fall ausschließlich Methotrexat verabfolgt wurde. Besonders eindrucksvoll wurde von HUTTER u. Mitarb. [7] gezeigt, daß Leberfibrosen nach zytostatischer Therapie weit häufiger auftreten; von 273 leukämischen Kindern ohne bzw. vor der Chemotherapie hatten 31% eine Leberfibrose, nach der Chemotherapie 80%. Lediglich WETHERLEY-MEIN und COTTON [18] sehen zwischen Fibroshäufigkeit, Art der Therapie, Alter der Patienten oder Leukosetyp keinen Zusammenhang. Ihre Aussage stützt sich auf 21 Leukämiefälle verschiedener Altersstufen, die nachträglich untersucht wurden, nachdem die Verfasser bei einem 4jährigen Kind eine stärkere Leberfibrose nach Methotrexattherapie sahen.

In unserem Untersuchungsgut fanden wir nennenswerte Fibrosen nur bei lymphatischen bzw. Parablastenleukosen (3mal Fibrose mit Parenchymbau und 1mal eine mittelgradige Fibrose).

Die Ansichten darüber, ob die Leberfibrose Folge einer direkten Parenchymschädigung ist oder ob andere Faktoren eine Rolle spielen, gehen auseinander. Nach HUTTER u. Mitarb. [7] sind grundsätzlich die Möglichkeit der therapiebedingten Paren-

chymsschädigung und Hemmung der Regeneration, die Stimulierung der Mesenchymproliferation sowie die sekundäre Bindegewebsbildung nach Zerstörung der leukotischen Zellen zu diskutieren. BOCK u. M. [2] messen der letztgenannten Möglichkeit größere Bedeutung bei und sprechen

Leberumbaus mit dem Grad der leukotischen Infiltration der Periportalfelder parallel zu gehen scheint. So zeigten sich im Fall 3 (Tab. II; Abb. 3) mit den stärksten leukotischen Infiltraten auch am deutlichsten die Zeichen des fortschreitenden Umbaus. Die Grenze zwischen schon

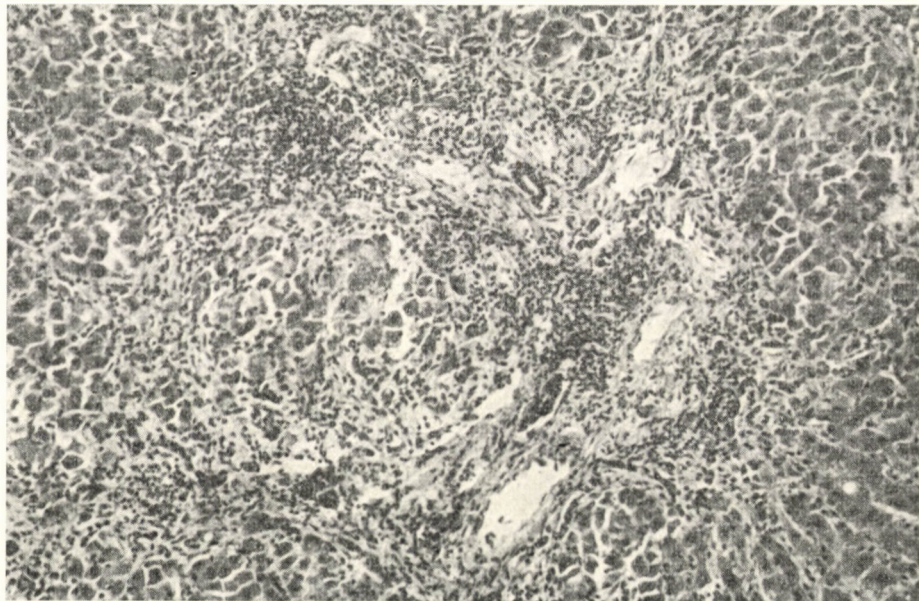


ABB. 3. Fall 3 HE 90 fach. Stärkere leukotische Infiltration der Periportalfelder mit bindegewebiger Verbreiterung derselben und fortschreitendem Parenchymumbau

von einer Bindegewebswucherung »e vacuo«; sie beobachteten bei 4 von 97 teils autoptisch und teils bioptisch untersuchten Leukosekranken Zeichen eines zirrhotischen Umbaus der Leber, aber in keinem Fall das Bild einer ausgeprägten echten Leberzirrhose und sprechen von einer Pseudozirrhose.

Nach unseren Beobachtungen erfüllen die Leberveränderungen abschnittsweise die Kriterien einer Zirrhose, wobei die Besonderheiten darin bestehen, daß die Progredienz des

verbreiterten Periportalfeldern und Parenchym ist unscharf. Das in alle Richtungen proliferierende Bindegewebe schließt atrophische Leberzellen ein; außerdem sind frischere Leberzelluntergänge zu beobachten.

In beiden anderen Fällen hingegen ist der Prozeß der Bindegewebsproliferation relativ stationär. Es zeichnet sich besonders im Fall 2 eine schärfere Begrenzung des Bindegewebes nach Art einer Grenzlamelle ab, das Bindegewebe enthält nur

spärliche leukotische Restinfiltrate. Der Leberumbau ist somit offenbar an die leukotische Infiltration der Periportalfelder mit Zerstörung des angrenzenden Parenchyms gebunden. Die nachfolgende Bindegewebsproliferation erfolgt durch eine azelluläre Faserbildung, da im Gegensatz zur echten portalen Zirrhose kein entzündlich-proliferativer Prozeß vorliegt. Wir finden uns damit in Übereinstimmung mit PRINZ [14], der schon vor bzw. zu Beginn der Möglichkeit der zytostatischen Therapie die oben beschriebenen pathogenetischen Unterschiede zwischen dem Parenchymumbau der Leber bei Leukose und der echten Zirrhose herausgestellt, andererseits aber darauf hingewiesen hat, daß der Parenchymuntergang und die Proliferation kollagener Fasern der leukotischen Leber Faktoren sind, die zur Zirrhose führen.

Der Grad des Umbaues sowie die Zahl der zu beobachtenden Fälle dürften damit hauptsächlich von den Therapieerfolgen bzw. der Überlebenszeit abhängen. Die Überlebenszeit der Kinder mit Leukämie ist durch die Therapie besonders mittels Folsäureantagonisten von 3 bis 4 Monaten auf durchschnittlich 1 1/2 bis 2 Jahre angestiegen [4, 8, 9, 13]. Die durchschnittliche Überlebenszeit von Beginn der Symptomatik der eingehender besprochenen drei Kinder beträgt 17 1/2 Monate.

Eine Erklärung dafür, daß aber auch nur ein Teil der Kinder mit längerer Überlebenszeit eine Leberfibrose bekommt, läßt sich schwer erbringen. Möglicherweise ist in diesen

Fällen die Infiltration der Leber durch leukotische Zellen von Beginn des Krankheitsgeschehens sehr gering, so daß dadurch eine Parenchymschädigung ausbleibt. Zur Klärung dieser Frage könnten nur bioptische Verlaufskontrollen beitragen.

Die in Tab. I als Minimalbefunde bezeichneten Fibrosen wurden hauptsächlich in der Gruppe mit der kürzesten Überlebenszeit beobachtet. Darunter befanden sich auch zwei Kinder mit einer myeloischen Leukämie, die nicht zytostatisch behandelt wurden. Hier könnte die Anwesenheit der Infiltratzellen allein eine Kollagenisierung der Gitterfasern induziert haben; außerdem sei nochmals erwähnt, daß es sich um Minimalbefunde an der Grenze der Bewertbarkeit handelt.

Leberfibrosen nach zytostatischer Therapie nichtleukämischer Patienten (Karzinomkranke bzw. Psoriasis-therapie mit Folsäureantagonisten) wurden lediglich von HUTTER u. Mitarb. [7] und O'ROURKE u. ECKERT [12] beobachtet.

Von BOCK u. Mitarb. [2] wird darauf hingewiesen, daß die Abgrenzung von Zirrhosen nach interkurrenten Hepatitiden schwierig sein kann. In unseren Fällen fehlten als wesentliche Kriterien die Proliferation der Sternzellen und die bevorzugt zentrolobulären typischen Einzelzellveränderungen. Außerdem ging, wie schon erwähnt, der Umbauprozess parallel mit dem Grad der leukotischen Zellinfiltration.

Tierexperimentell konnten wir trotz langdauernder Behandlung weder eine

Leberfibrose noch einen Leberparenchymschaden erzeugen, obwohl unsere Dosierung mit 0,1 mg/kg Körpergewicht pro Tag in der Höhe der Methotrexatdosierung beim Menschen oder noch darüber liegt. TALERMAN und THOMPSON [16] verabreichten nur 0,05 mg/kg Körpergewicht bei dem schon erwähnten Kind. Es bietet sich daher die Deutung an, daß das Methotrexat über eine Hemmung der Leberzellregeneration zum Entstehen einer Leberfibrose beiträgt. Die Mitosehemmung des Methotrexats wurde von EDER u. Mitarb. [5] bei nicht wesentlich höherer Dosierung an den Zellen der Regenerationszone des Duodenums von Mäusen gezeigt. TRIER [17] stellte auch bei Patienten nach unterschiedlich langer Methotrexat-Therapie eine Abnahme der Mitosezahl in den Krypten des Dünndarmes fest.

Wandschäden oder Intimafibrosen der periportalen Gefäße, wie sie von NIEDOBITEK [10, 11] beschrieben wurden, konnten wir weder bei kindlicher Leukose noch tierexperimentell nachweisen.

Unseres Erachtens liegt es näher, diese Gefäßveränderungen nicht wie NIEDOBITEK als Folge eines direkten methotrexatbedingten Gefäßwandschadens sondern als organisierte Thrombosen zu deuten, da man nicht selten bei kindlichen Leukämien massive leukotische Gefäßwandinfiltrate der Leber mit Zerstörung des Wandgefüges sieht.

Abschließend kann somit festgestellt werden, daß einmal eine leukotische Infiltration der Periportalfeld-

der mit Zerstörung des angrenzenden Parenchyms Voraussetzung für das Auftreten einer Leberfibrose bzw. -zirrhose ist, daß aber zusätzlich die Unterdrückung der Leberzellregeneration besonders durch Folsäureantagonisten als weiterer formender Faktor gewertet werden muß. Ausmaß des Leberumbaus hängt vom Grad der leukotischen Infiltration der Leber und vom Therapieerfolg bzw. der Überlebensdauer ab. Das Endbild des Leberumbaus entspricht (auch klinisch) einer portalen Zirrhose, obwohl in pathogenetischer Hinsicht Unterschiede zur echten portalen Zirrhose bestehen. Eine rein zytostatisch bedingte Leberfibrose ist bei der üblichen Dosierung nicht wahrscheinlich.

LITERATUR

1. AMROMIN, G. D., DELIMAN, R. M., SHANBROM, E.: Liver damage after chemotherapy for leukemia and lymphoma. *Gastroenterology* **42**, 401 (1962).
2. BOCK, H. E., GROSS, R., LAMBERS, K., WULF, G.: Leukämie und Leber. *Medizinische* **29/30**, 1325 (1959).
3. COLSKY, J., GREENSPAN, E. M., WARREN, TH. N.: Hepatic fibrosis in children with acute leukemia after therapy with folic acid antagonists. *Arch. Path.* **59**, 198 (1955).
4. ECKHARDT, S.: Aktuelle Probleme der Leukämiebehandlung. *Ther. hung.* **9**, 1 (1961).
5. EDER, M., ROSTOCK, H., VOGEL, G.: Die Wirkung von Folsäureantagonisten (Methotrexat) auf die Regeneration der Darmschleimhaut. *Virchows Arch. path. Anat.* **341**, 164 (1966).
6. HITZIG, W. H., SCHÄRER, K.: Lebercirrhose bei Antifolsäurebehandlung akuter Parablastenleukämien. *Helv. paediat. Acta* **15**, 235 (1960).
7. HUTTER, R. V. P., SHIPKEY, F. H., TAN, CH. T. C., MURPHY, M. L., CHOWDHURY, M.: Hepatic fibrosis in children with acute leukemia. A complication of therapy. *Cancer* **13**, 288 (1960).

8. LIGHTWOOD, R., BARRIE, H., BUTLER, N.: Observation on 100 cases of leukaemia in childhood. *Brit. med. J.* **1**, 747 (1960).
9. MEIGHAN, S. S.: Leukemia in children (Incidence, Clinical manifestations and Survival in an unselected series). *J. Amer. med. Ass.* **190**, 578 (1964).
10. NIEDOBITEK, F.: Fibrose der Leber bei akuter Leukose im Kindesalter. *Verh. dtsh. Ges. Path.* **41**, 553 (1968).
11. NIEDOBITEK, F.: Fibrose der Leber bei akuter Leukose im Kindesalter. *Z. Gastroent.* **6**, 290 (1968).
12. O'ROURKE, R. A., ECKERT, G. E.: Methotrexate-induced hepatic injury in an adult. *Arch. intern. Med.* **113**, 191 (1964).
13. OEHME, J.: Die Therapie der akuten Leukämie bei Kindern. *Dtsch. med. Wschr.* **90**, 1630 (1965).
14. PRINZ, F.: Über Abbauvorgänge in der Leber bei Leukämie. *Virchows Arch. path. Anat.* **320**, 86 (1951).
15. SOMM, P.: Komplikationen der akuten Leukämie in Kindesalter unter kombinierter Steroid-Zytostatika-Therapie. *Helv. paediat. Acta* **20**, 75 (1965).
16. TALERMAN, A., THOMPSON, R. I.: Hepatic fibrosis in a child possibly due to prolonged methotrexate treatment. *J. Clin. Path.* **19**, 81 (1966).
17. TRIER, J. S.: Morphologic alterations induced by methotrexate in the mucosa of human proximal intestine. I. Serial observations by light microscopy. *Gastroenterology* **42**, 295 (1962).
18. WETHERLEY-MEIN, G., COTTOM, D. G.: Portal fibrosis in acute leukaemia. *Brit. J. Haemat.* **2**, 345 (1956).

Dr. J. JUSTUS
 8019 Dresden/DDR
 Fetscherstr. 74