

Inhaltsverzeichnis

Aus dem Präsidium

Neue Strukturen für neue Dialoge.....1

Aus den Arbeitsgruppen

W. Hofmann, J. Aufenanger , G. Hoffmann
Diagnostische Pfade – ein Ansatz zur Verbesserung klinischer Abläufe und
Reduktion der Kosten?.....4

Aus dem Mitgliederkreis

Beatrice Bachmeier, München
Untersuchungen zur Regulation von Matrix-Metalloproteinasen und deren
mögliche therapeutische Modulation in Karzinom-Zelllinien unterschiedlichen
biologischen Verhaltens8

Dorit Karin Nägler, München
Cathepsin X: Identifizierung und Charakterisierung einer neuartigen lysosoma-
len Cysteinprotease..... 10

Virginia Egea, München
The Role of Matrix Metalloproteinasen and Inflammatory Cytokines on Human
Mesenchymal Stem Cell Invasiveness and Differentiation Capacity 12

Marisa Karow, München
Der Wnt/ β -Catenin-Signaltransduktionsweg in humanen und murinen mesen-
chymalen Stammzellen: Analyse einzelner Signalkomponenten und deren
funktioneller Bedeutung bei Proliferation und Invasion 14

Annette Lechner, München
Regulation der Sekretion und Zelloberflächenassoziation von Cathepsin X
durch Interaktionen mit dem Integrin $\alpha v \beta 3$ und seinem Liganden Vitronektin..... 16

Birgit Profanter, München
Klonierung, rekombinante Expression und erste Charakterisierung des huma-
nen hodenspezifischen Serinprotease-ähnlichen Proteins T-GPI-SP1.....18

Buchbesprechung

Clinical Toxicological Analysis.....20

Nachrichten

Themenhefte „Klinische Chemie und molekulare Diagnostik“	22
--	----

Preisverleihung

FCC/NIST/CLSI ROBERT-SCHAFFER-Preis für außergewöhnliche Leistungen in der Entwicklung von Standards für den Einsatz in der Laboratoriumsmedizin	23
Verleihung des Lucie-Bolte-Preises (GASL)	24

Tagungs- und Kursankündigungen

Repetitorium Klinische Chemie 2009	25
Mikroskopische Blutzelldifferenzierung 2009	25

Positionen	27
------------------	----

Personalia



Neue Mitglieder	31
Adressenänderungen	31
Titeländerungen	33
„Verschollene Mitglieder“	33



Deutsche Vereinigte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V.

Präsidium

Präsident	Prof. Dr. K. Lackner, Mainz
Vizepräsident	Prof. Dr. R. Tauber, Berlin
Schriftführer	Prof. Dr. K.P. Kohse, Oldenburg
Schatzmeister	Prof. Dr. H. Patscheke, Karlsruhe
Weitere Präsidiumsmitglieder	Prof. Dr. B.H. Brandt, Hamburg Dr. B. Wiegel, Deggendorf

Geschäftsstelle

Geschäftsführer	Dr. Jens Klabunde Geschäftsstelle der DGKL Im Mühlenbach 52 b, D-53127 Bonn Telefon: 0228-92 68 95-22 Telefax: 0228-92 68 95-27 e-mail: geschaeftsstelle@dgkl.de
-----------------	---

Ständige Kommissionen

Kommission für die Weiterbildung und Anerkennung als Klinischer Chemiker	
Vorsitz	Prof. Dr. I. Schimke, Berlin
Kommission für die Ausbildung	
Vorsitz	Prof. Dr. Dr. N.R. Katz, Gießen

Referenzinstitut für Bioanalytik

Geschäftsstelle	Dr. R. Kruse Dr. W.-J. Geilenkeuser Im Mühlenbach 52 a, D-53127 Bonn Telefon: 0228-92 68 95 -0; Telefax: 0228-92 68 95 -29
-----------------	---

Wissenschaftlicher Beirat	
Vorsitz	Prof. Dr. L. Siekmann, Bonn

Mitteilungen

Schriftleitung	Prof. Dr. Dr. med. Thomas Demant Krankenhaus Dresden-Friedrichstadt Institut für Klinische Chemie und Labormedizin Friedrichstraße 41, D-01067 Dresden Telefon: 0351-480 3900; Telefax: 0351-480 3909 e-mail: demant-th@khdf.de
----------------	---

DGKL im Internet: <http://www.dgkl.de>

RfB im Internet: <http://www.dgkl-rfb.de>

Impressum:

Klinische Chemie - Mitteilungen

Herausgeber: Der Präsident der Deutschen Vereinten Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V., Prof. Dr. med. K. Lackner, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Johannes Gutenberg-Universität Mainz-Klinikum, Langenbeckstr. 1, D-55131 Mainz

Verantwortliche Schriftleitung und Redaktion: Prof. Dr. Dr. med. Thomas Demant, Krankenhaus Dresden-Friedrichstadt, Institut für Klinische Chemie und Labormedizin, Friedrichstraße 41, D-01067 Dresden.

Manuskripte: erbeten an die Schriftleitung (möglichst Word-Datei per e-mail oder CD). Für die Zeitschrift werden nur unveröffentlichte und nicht anderweitig angebotene Manuskripte angenommen. Mit der Annahme des Manuskriptes geht das ausschließliche Recht des Nachdruckes, der Vervielfältigung und Übersetzung auf den Herausgeber über. Die veröffentlichten Beiträge sind urheberrechtlich geschützt. Alle Rechte, wie Nachdruck von Abbildungen, Vervielfältigungen jeder Art, Vortrag, Funk, Tonträger- und Fernsehsendungen in Datenverarbeitungsanlagen, auch auszugsweise, behält sich der Herausgeber vor. Bezugsbedingungen: Der Bezugspreis für Mitglieder ist durch den Beitrag abgegolten. Jahresabonnement: 6 Hefte zu € 46,- inkl. 7% MwSt. zuzüglich Versandkosten. Die Bezugsdauer verlängert sich jeweils um ein Jahr, wenn bis 30. September des Vorjahres keine Abbestellung erfolgt ist. Einzelheft: € 7,70 inkl. 7% MwSt. zuzüglich Versandkosten.

Konto: Deutsche Vereinte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V., Dresdner Bank Karlsruhe (BLZ 660 800 52) Nr. 572 616 500

Erscheinungsweise: zweimonatlich. Annoncenpreise auf Anfrage.

ISSN: 0173-6647

Layout: Büro-, Verlags- und Tagungsservice Dagmar Strebel, Belfortstraße 10, D-76133 Karlsruhe,
e-mail: bvt-dagmar-strebel@t-online.de

Druck: E & B print.ware Digital- und Schnelldruck Gesellschaft mbH, Kappelstraße 10, D-76131 Karlsruhe

Aus dem Präsidium

Neue Strukturen für neue Dialoge

Zukünftige Entwicklung von Sektionen und Arbeitsgruppen der DGKL

Das Präsidium der DGKL hat die **Einrichtung von Sektionen** beschlossen. Was sind die Intentionen, die zu diesem Beschluss geführt haben? Die Fachgesellschaft möchte auch für Ärzte und Wissenschaftler aus anderen Disziplinen Möglichkeiten zur Mitarbeit an Themen der Labordiagnostik innerhalb der DGKL eröffnen. Damit soll der interdisziplinäre Dialog gefördert oder überhaupt erst ermöglicht werden. Diese Sektionen sollen nicht die Arbeitsgruppen der DGKL ersetzen, sondern vielmehr allen Mitgliedern neue Plattformen bieten, um sich mit übergeordneten labordiagnostisch relevanten Themenkreisen zu befassen. Im Gegensatz zu den Arbeitsgruppen werden die Sektionen sich nicht auf spezifische, in der Regel auch zeitlich begrenzte Themen konzentrieren, sondern im Idealfall auf Dauer ganze Bereich der Labordiagnostik abbilden. Beispiele wären die endokrinologische Diagnostik, die Liquordiagnostik oder die onkologische Labordiagnostik. Die Fachgesellschaft möchte sich damit über den Bereich der Klinischen Chemie und Laboratoriumsmedizin im engeren Sinne hinaus auch explizit für alle an der Labordiagnostik Interessierten öffnen. Voraussetzung für die aktive Mitarbeit in einer Sektion ist aber immer die Aufnahme in die DGKL als ordentliches Mitglied.

Im Bereich endokrinologische Diagnostik gibt es bereits eine Initiative zur Gründung einer Sektion, ebenso wird für die immunologische und Autoimmundiagnostik die Möglichkeit einer Sektionsgründung geprüft. Auch aus den AGs *Bioinformatik*, *Diagnostische Pfade*, *LC-MS/MS* und *Molekularbiologische Diagnostik* wurde bereits Interesse und Unterstützung signalisiert, weil dort erkannt wurde, dass die

Mitarbeit von Bioinformatikern, Biometrikern, Chemikern oder anfordernden Klinikern die Arbeit dieser AGs erheblich bereichert. Diese Berufsgruppen in Sektionen auch formal stärker an die DGKL zu binden wird diese Zusammenarbeit weiter fördern.

Diese vielleicht schon überfällige Umstrukturierung der Fachgesellschaft wird ganz sicher dazu beitragen, den interdisziplinären Charakter der DGKL zu unterstreichen und den Dialog mit anderen Fachgesellschaften, Verbänden und der Industrie zu fördern bzw. zu initiieren oder gar zu reaktivieren.

Die DGKL-Arbeitsgruppen bleiben die Aushängeschilder der Fachgesellschaft

Auch nach der Einführung von Sektion bleiben die Arbeitsgruppen der DGKL ein wichtiges Instrument zur intensiveren Bearbeitung labordiagnostischer Themen. In diesen bewusst klein gehaltenen Gruppen finden sich ausgewiesene Experten aus der DGKL und bei Bedarf auch angrenzenden Fachgebieten zusammen, um spezifische Fragestellungen zu diskutieren, Konzepte auszuarbeiten und ihre Ergebnisse im Rahmen der DGKL-Öffentlichkeitsarbeit, z.B. auf den Jahrestagungen oder der Medica, einem breiten Publikum zu präsentieren.

Ein weiterer ganz wichtiger Aspekt in der Arbeit der AGs ist die Kommunikation und Kooperation mit der Industrie. Als Beispiele für zielführendes Zusammenarbeiten mit unterschiedlichen Firmen seien hier stellvertretend die Sitzungen der AGs „Diagnostische Pfade“ und „Multimediale Lehre“ genannt. Beide Sitzungen fanden im Februar 2009 unter Einbindung von Firmenvertretern statt.

Auf der AG-Sitzung „**Diagnostische Pfade**“ in München hatten Vertreter der Labor-EDV-Firmen *Medat*, *Swisslab* und *Comed* die Gelegenheit ihre relevanten Software-Entwicklungen zu präsentieren und im fachkundigen Kreis zu diskutieren. Das Ziel ist ein beständiger konstruktiver Dialog, der dazu führen soll, dass Erfahrungen aus der alltäglichen Laborpraxis rechtzeitig in Software-Neuentwicklungen einfließen können und die Firmen nicht am Bedarf ihrer Kunden „vorbeentwickeln“.

Die Sitzung der Arbeitsgruppe „**Multimediale Lehre**“ fand in den Räumen des VDPH im Haus der Chemie in Frankfurt statt. In der Vormittagssitzung wurden AG-interne Themen, wie die Fortführung der online paper-cases im Lehrportal und die editorielle Arbeit für *labtestsonline.de* besprochen, während am Nachmittag unter Einbindung der VDPH-Vertreter Themen wie Ausweitung und Optimierung des Gemeinschaftsprojektes *labtestsonline.de* sowie eine konzertierte Öffentlichkeitsarbeit der DGKL und des VDPH mit Fokus auf das Gesundheitsportal *labtestsonline.de* besprochen wurden.

Kurze Berichte der Vorsitzenden beider Arbeitsgruppen, Frau Prof. Mariam Klouche und Herrn Prof. Walter Hofmann, sowie die Proto-

kolle zu den o.g. AG-Sitzungen finden Sie ebenfalls in diesem Heft.

Die DGKL wird in Zukunft die Resultate der Arbeitsgruppen wieder stärker für alle Mitglieder transparent machen und regelmäßig Veröffentlichungen aus den AGs oder kurze Berichte zu den Sitzungen in den „Klinische Chemie Mitteilungen“ zu publizieren.

Im Folgenden können Sie die Geschäftsordnung für die „Sektionen der DGKL“ lesen, wie Sie bereits vom Präsidium verabschiedet wurde. Bei Fragen zur Geschäftsordnung, zur Gründung einer Sektion oder zum Beitritt zu einer Sektion steht Ihnen Frau Dietrich von der DGKL-Geschäftsstelle in Bonn jederzeit per email (geschaeftsstelle@dgkl.de) oder vormittags telefonisch (+49-(0)228-926895-22) zur Verfügung.



Prof. Karl Lackner
Präsident DGKL



Dr. Jens Klabunde
Geschäftsführer DGKL

Geschäftsordnung für die Sektionen der DGKL

- (1) Um fachliche **Schwerpunkte** der Gesellschaft und die **Zusammenarbeit** mit anderen medizinischen Fächern zu fördern, richtet das Präsidium Sektionen ein. Aufgabe einer Sektion ist es, die an einem labordiagnostischen Teilgebiet besonders interessierten Mitglieder der Gesellschaft zusammen zu fassen und ihnen eine Plattform zu bieten, um die Arbeit auf diesem Gebiet zu intensivieren sowie Symposien und Tagungen, auch gemeinsam mit anderen Gesellschaften, abzuhalten.
- (2) Mitglieder der DGKL können die **Gründung** einer Sektion beantragen, wenn dieser Antrag von mindestens 15 Mitgliedern der Gesellschaft unterstützt wird. Der Antrag soll ein Konzept für die Arbeit der Sektion enthalten. Über Anträge auf Gründung einer Sektion muss das Präsidium innerhalb von 4 Monaten entscheiden.

- (3) Das Präsidium kann eine Sektion auflösen, z.B. wenn diese weniger als 15 Mitglieder hat oder wenn die Sektion über ein Jahr keine Aktivitäten gezeigt hat. Der Vorstand der betreffenden Sektion ist vor einem **Auflösungsbeschluss** zu hören.
- (4) Die Arbeit der Sektionen wird von der Gesellschaft finanziell unterstützt.
- (5) Jedes Mitglied der Gesellschaft, das an der Arbeit einer Sektion interessiert ist, kann deren Mitglied werden. **Anmeldungen** sind an die Geschäftsstelle der DGKL zu richten. Die Mitgliedschaft in einer Sektion wird im Mitgliederverzeichnis genannt.
- (6) Die **Mitgliedschaft** in bis zu zwei Sektionen ist kostenlos, ab der dritten wird ein von der Mitgliederversammlung festgesetzter Sektionsbeitrag erhoben, der mit dem DGKL-Mitgliedsbeitrag eingezogen wird.
- (7) Die in einer Sektion mitarbeitenden Mitglieder wählen einen Vorstand für die Dauer von zwei Jahren. Er besteht aus dem Vorsitzenden und einem stellvertretenden Vorsitzenden und Schriftführer. Der Vorsitzende muss vom Präsidium der Gesellschaft bestätigt werden.
- (8) Der Vorstand fasst **Protokolle** über die Aktivitäten der Sektion, von denen die Geschäftsstelle der DGKL ein Exemplar mindestens einmal pro Jahr erhält.
- (9) Eine Sektion kann sich eine **Geschäftsordnung** geben, die vom Präsidium bestätigt werden muss.
- (10) Der Vorstand einer Sektion kann **Mitteilungen und Stellungnahmen** nur für die jeweilige Sektion abgeben. Das Präsidium der DGKL ist jeweils im Voraus zu unterrichten. Mitteilungen und Stellungnahmen im Namen der DGKL müssen vom Präsidium beschlossen werden.
- (11) Die Vorsitzenden der Sektionen können dem Präsidenten Themen für die **Tagesordnung des Präsidiums** vorschlagen und werden zu den Sitzungen des Präsidiums eingeladen, wenn Themen aus ihrer Sektionsarbeit berührt werden.
- (12) Die Sektionen sollen sich aktiv an den **Veranstaltungen** der Gesellschaft beteiligen, insbesondere den Jahrestagungen, Fort- und Weiterbildungen und die nationalen und internationalen **Aktivitäten** der Gesellschaft auf ihrem jeweiligen Teilgebiet voran bringen.

Aus den Arbeitsgruppen

Diagnostische Pfade – ein Ansatz zur Verbesserung klinischer Abläufe und Reduktion der Kosten?

W. Hofmann, J. Aufenanger, G. Hoffmann

Mit der Einführung der DRG findet auch für die Laboratoriumsmedizin ein grundlegender Paradigmenwechsel statt. Da für eine DRG nur ein bestimmter Betrag vergütet wird d.h. nur ein kleiner Anteil ist für das Labor vorgesehen, bedeutet dies, dass der Kliniker sehr genau prüfen muss, welche Leistungen bei einer bestimmten Fragestellung noch möglich sind und wie ein strategisches Vorgehen aussehen könnte. Wenn man es auf den Punkt bringt: "Genormte Preise verlangen auch genormte Prozesse, um die Verweildauer möglichst kurz zu halten, andernfalls sind die Fallkosten kaum kontrollierbar" (Trillium Report 2008;6:131). Nach dem Start der Pauschalvergütung vor ca. 5 Jahren wird deshalb jetzt die Forderung nach klinischen Pfaden (clinical pathways) laut. Leider findet man bis zum jetzigen Zeitpunkt nur eine sehr kleine Zahl entsprechender Beispielen für klinische Pfade, die in die Praxis der Krankenversorgung Eingang gefunden haben. Andere Länder, die ebenfalls ein DRG-Vergütungssystem eingeführt haben, machen weltweit ähnliche Erfahrungen.

Die DGKL hat sich dieser Thematik durch die Gründung der Arbeitsgruppe „Diagnostische Pfade“ im Jahr 2006/2007 intensiv angenommen und ihr Anliegen im Internet sowie auf der Medica (2006 und 2008) einer breiten Öffentlichkeit dargelegt. Kernpunkt der Argumentation ist die Hervorhebung des diagnostischen Aspekts in der Diskussion um klinische

Pfade. Die Diagnostik steht im Krankheitsverlauf ganz am Anfang und beeinflusst sowohl Zeitbedarf als auch Kosten aller nachfolgenden Prozesse. Eine systematische Untersuchung aus dem Jahr 2004 ergab, dass 62% aller rund 3000 vergütungsrelevanten Diagnosen im deutschen DRG-System mit Hilfe von Laboruntersuchungen gestellt werden. Somit kommt speziell der Labordiagnostik in diesem Kontext hohe Bedeutung zu.

Trotz der oft dominierenden wirtschaftlichen Komponente in der Pfaddiskussion will sich die Arbeitsgruppe aber vor allem der medizinischen Herausforderung einer effektiven Diagnostik stellen. Aus diesem Grunde wurden Unterarbeitsgruppen für verschiedene Themenbereiche wie z.B. Aufnahmediagnostik, Immunologie oder Toxikologie gegründet, denen neben mindestens einem Mitglied der DGKL auch autorisierte Vertreter anderer Fächer bzw. Fachgesellschaften angehören.

Ziel der Arbeitsgruppen ist die Entwicklung gemeinsamer Strategien (Pfade), erarbeitet von Klinikern und Labormedizinern und deren Umsetzung in eine EDV-gestützte Umgebung (LIS, KIS).

Bisher wurden acht Arbeitsgruppen ins Leben gerufen, zwei davon für die Themengebiete Stoffwechsel und Endokrinologie erst 2009 (Tab.1).

Tab. 1 Arbeitsgruppen: Themenstellung, verantwortliche Kerngruppenmitglieder

Arbeitsgruppe/Themenstellung	Kerngruppenmitglieder DGKL
Internistische-Chirurgische Aufnahmeprofile, Aufnahmeprofil Hausarzt	Prof. Dr. J. Aufenanger, Klinikum Ingolstadt GmbH, Institut für Laboratoriumsmedizin, Johannes.Aufenanger@klinikum-ingolstadt.de Dr. M. Müller, Medizinisches Labor Oldenburg, MVZ Dr. Müller & Kollegen, m.mueller@medlab-oldenburg.de
Nephrologie	Prof. Dr. W. Hofmann, Städtische Klinikum München GmbH, Institut für Klinische Chemie, walter.hofmann@klinikum-muenchen.de
Immunologie	Prof. Dr. H. Renz, Universitätsklinikum Marburg, Institut für Klinische Chemie
Hämatologie	Prof. Dr. Dr. P. Sinha, Klagenfurt, Landeskrankenhaus, Institut für medizinische und chemische Labordiagnostik Pranav.Sinha@lkh-klu.at
Neurologie	Dr. M. Wick, München, Universitätsklinikum Großhadern, Institut für Klinische Chemie, Manfred.Wick@med.uni-muenchen.de
Toxikologie	Dr. J. Hallbach, Städtische Klinikum München GmbH, Institut für Klinische Chemie juergen.Hallbach@klinikum-muenchen.de
Stoffwechsel (neue Arbeitsgruppe 2009)	Prof. Dr. A. v. Eckardstein, Universitätsklinikum, Zürich arnold.voneckardstein@usz.ch
Endokrinologie (neue Arbeitsgruppe 2009)	PD Dr. A. Stachon, Institut für Klinische Chemie, Transfusions- und Laboratoriumsmedizin Universitätsklinikum Bergmannsheil, Bochum, axel.stachon@ruhr-uni-bochum.de

In den ersten vier Arbeitsgruppensitzungen in den Jahren 2006 bis 2008 wurden die Themenstellungen der Arbeitsgruppen, die Struktur der Unterarbeitsgruppen und erste Pfadvorschläge diskutiert. Am 05.02.09 fand die fünfte Arbeitsgruppensitzung in München statt.

Gemeinsam mit Vertretern von EDV-Firmen (Medat, Swisslab, Comed) wurden die folgenden Fragen erörtert: welche Daten und Informationen liegen für einen diagnostischen Pfad vor, wie werden diese Daten verarbeitet und wie sollen die Ergebnisse präsentiert werden?

Beispielhaft sei dies an einem **Diagnostischen Pfad bei der Krankenhausaufnahme**

mit dem Leitsymptom **"Akuter Thoraxschmerz"** gezeigt (Abb. 1).

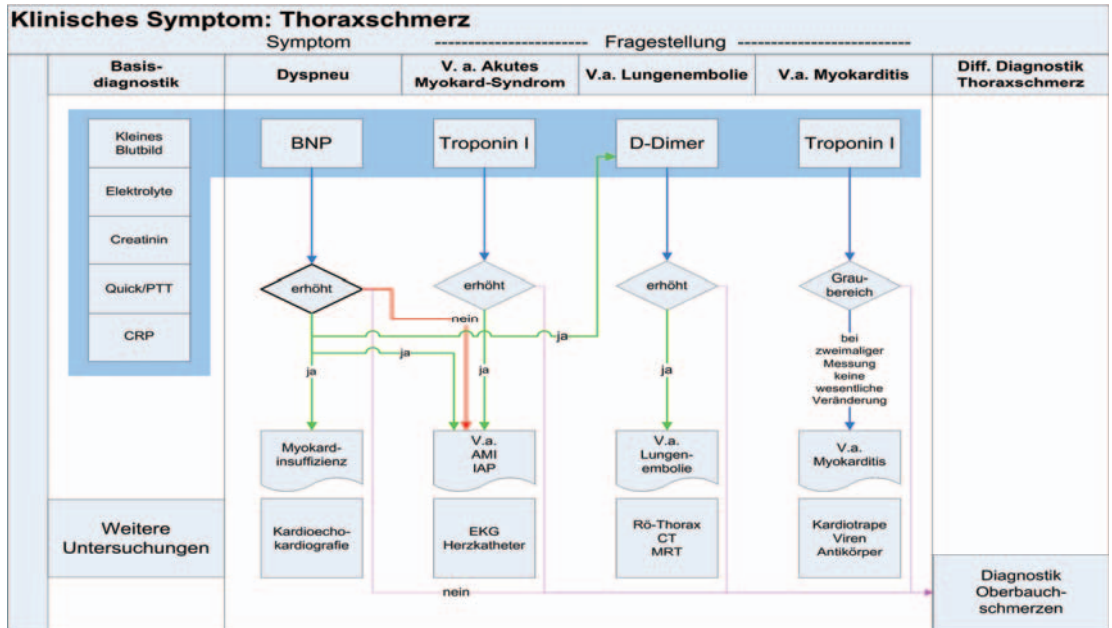


Abb. 1 Eingangslaborprofil zur Abklärung thorakaler Schmerzen

Das Anforderungsprofil könnte aus einem Basisprofil bestehen, dass in Abhängigkeit von der Fragestellung/Symptomen (Dyspneu, V. a. akutes Myokardsyndrom, V. a. Lungenembolie) erweitert wird um BNP, Troponin I oder D-Dimer. Die Untersuchungen werden über order-entry aus der Maske heraus durch Anklicken von Thoraxschmerz und z. B. Dyspneu gestartet. Der Kliniker erhält entsprechend beklebte Etiketten, gewinnt bei dem Patienten Blut und schickt dies an das Labor. Ist bei der Eingangsfragestellung "Dyspneu" das Ergebnis von BNP unauffällig, so wird Troponin I zur weiteren Abklärung angefordert. Ist Troponin I erhöht, so ist die Diagnose V. a. AMI sehr wahrscheinlich. Jetzt folgen weitere Untersu-

chungen wie Kontrolle des TNI in zwei Stunden (Anstieg?) bzw. technische Untersuchungen wie das EKG.

Die Überlegungen der Teilnehmer gingen nun dahin, neben dem Pfad "Akuter Thoraxschmerz" weitere Beispielimplementierungen für nachfolgende Pfade in einer ersten Phase zu testen:

1. Ausschluss Nierenerkrankung
2. Abklärung Anämie
3. Abklärung unklare Vergiftung
4. Abklärung Meningitis

Die EDV-Firmen versuchen in Zusammenarbeit mit einzelnen Kerngruppenmitgliedern diese Pfade in Pilotkrankenhäusern einzuführen und die Akzeptanz zu testen.

Parallel hierzu wird in einem Klinikum die Implementierung des Klinischen Pfades „Akutes Myokardsyndrom“ mit Laboruntersuchungen abgebildet. Hierbei ist die Herausforderung die zeitliche Umsetzung im Sinne eines Ablaufplanes.

Zusammenfassung und Ausblick

Ausgehend von einer früher formulierten Definition der Arbeitsgruppe sind diagnostische Pfade medizinische und organisatorische Empfehlungen einer Expertengruppe oder Fachgesellschaft, die das aktuelle algorithmische Wissen zu einer Fragestellung oder einem Prozess zusammenfassen. Dieses Wissen ist möglichst IT-gerecht aufbereitet, damit es den Kliniker bei der Diagnosefindung durch einen Entscheidungsbaum oder Ablaufplan, integriert in eine KIS- oder LIS-Umgebung, unterstützen kann. Diese Unterstützung darf den anfordernden Arzt allerdings unter keinen Umständen bevormunden.

Die standardisierte Testanforderung und die raschere Diagnosefindung stellen das medizinische Postulat eines diagnostischen Pfades dar, daneben können aber auch kürzere Verweildauer und korrekte Erlöse im DRG-System ein wichtiges Ergebnis von Pfadstrategien sein.

Beides sind wesentliche Triebfedern, dieses Hilfsmittel in die Praxis einzubeziehen. Erste Pilotprojekte sollen die Machbarkeit testen und die Basis für weitere Fragestellungen darstellen. Eine erste Präsentation der Ergebnisse ist auf der Jahrestagung der DGKL 2009 in Leipzig geplant.

Weitere Informationen können Sie unserer Website entnehmen:
(www.dgkl.de/DiagnostischePfade)

Kontaktadressen:

Prof. Dr. med. Walter Hofmann, Department Klinische Chemie der StKM-GmbH, Kölner Platz 1, D-80804 München, Telefon: 089-3068-2670, Telefax: 089-3068-3911, e-mail: walter.hofmann@klinikum-muenchen.de

Prof. Dr. med. Johannes Aufenanger, Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinikum Ingolstadt, Krumenauerstraße 25, 85049 Ingolstadt, Telefon: 0841-880-2901, Telefax: 0841-880-2909, e-mail: johannes.aufenanger@klinikum-ingolstadt.de

Prof. Dr. med. Georg Hoffmann, Herausgeber: Trillium Report, Innovationsmanagement in der Medizin. Telefon und Telefax: 08144-9111/-98169, <http://www.trillium.de>, <http://www.trillium-report.de>

Aus dem Mitgliederkreis

Untersuchungen zur Regulation von Matrix-Metalloproteinasen und deren mögliche therapeutische Modulation in Karzinom-Zelllinien unterschiedlichen biologischen Verhaltens

Habilitation (PD Dr. med. habil.) aus der Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie, Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München (Leiterin: Prof. Dr. Marianne Jochum), 2008

Beatrice Bachmeier, München

Die in der kumulativen Habilitationsschrift zusammengefassten Untersuchungen verfolgen das Ziel, die funktionale Bedeutung von Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) anhand von Tumorzellmodellen aufzudecken, deren Regulationswege zu identifizieren und neue therapeutische Eingriffsmöglichkeiten aufzuzeigen. Dem Forschungsprojekt liegt das weithin akzeptierte Konzept zugrunde, dass MMPs bei der Progression maligner Tumoren, die sich durch Invasion und Metastasenbildung aus einer lokalen zu einer progressiven systemischen Erkrankung entwickeln, eine maßgebliche Rolle spielen.

In einem ersten Schritt wurde dabei anhand von 2 verschiedenen Modellen von Tumorzelltypen (Keratinocyten klonalen Ursprungs und aus Patientengewebe abgeleitete Mammakarzinom-Zelllinien) versucht, ein hinsichtlich der Malignität und Metastasierungsfähigkeit unterschiedliches biologisches Verhalten der Tumorzellen mit dem Expressions- und Aktivitätsmuster zahlreicher MMPs zu korrelieren. Dabei zeigte sich grundsätzlich in beiden Modellen, dass eine solche Korrelation durchaus existiert, wobei allerdings die diversen MMPs in verschiedenem Maße involviert sind.

Auf der Suche nach Regulationsmechanismen war eine Abhängigkeit der Expression von MMPs von der Zelldichte der Tumorzellen im experimentellen Ansatz zu erkennen. Zellen in subkonfluenten Kulturen produzierten signi-

fikant mehr MMPs als solche in konfluenten Kulturen, wobei die mRNA-Synthese sowie die Protein-Expression und Aktivität der MMPs näherungsweise mit der Zelldichte korrelierten. Dies betraf in den verschiedenen Zellen allerdings unterschiedliche MMPs in variablem Ausmaß. Dass diese Beobachtung nicht nur für das 2-dimensionale *in vitro*-Modell gilt, sondern auch im 3-dimensionalen Tumorzell-Sphäroid-Modell und in *ex vivo*-Mammakarzinom-Geweben nachweisbar ist, konnte in Folgeuntersuchungen gezeigt werden. Analog unterschied sich das *in vitro*-Invasionsverhalten im dynamischen Matrigel-Invasionsassay zwischen subkonfluenten, „stark invasiven“ und konfluenten, „wenig invasiven“ Tumorzellen.

Die zugrunde liegenden Regulationswege konnten durch Unterschiede in der Aktivität verschiedener Transkriptionsfaktoren identifiziert werden. So waren insbesondere die Faktoren AP-1 und NF κ B bei nichtkonfluenten und konfluenten Tumorzellkulturen unterschiedlich reguliert. Um die funktionelle Bedeutung von AP-1 bei der Zelldichte-abhängigen Regulation der MMPs besser zu verstehen, wurden die Untereinheiten *c-jun* und *c-fos* dieses Faktors selektiv entweder durch Transfektion überexprimiert (in konfluenten Zellen, die ohne Transfektion ein niedriges Expressions-Niveau aufweisen) oder durch *gene silencing* mittels siRNA inhibiert (in subkonfluenten Zellen, die

ohne Blockade ein hohes Expressions-Niveau zeigen). Hierbei konnte wechselseitig der Effekt hoher vs. niedriger Zelldichte auf die Synthese von MMPs aufgehoben bzw. umgekehrt werden. Dies kann als Beleg für eine Zelldichte-abhängige MMP-Regulation durch AP-1-Induktion oder -Hemmung gewertet werden.

Als pathophysiologische Konsequenz ergibt sich aus der Beobachtung einer Zelldichte-abhängigen MMP-Synthese, dass vermutlich einzelne Tumorzellen oder kleine Zell-Gruppen aggressiver wachsen als kompaktere Zellverbände, wie dies auch morphologische Gewebeerhebungen vermuten ließen. Die hohe Expression der Matrix-degradierenden Enzyme (MMPs) in den in geringer Zelldichte wachsenden Tumorzellen könnte die frühzeitig stattfindende Disseminierung von potenziell metastasierenden Zellen erklären. Die Regulation von MMPs durch onkogene Transkriptionsfaktoren zeigt eine Möglichkeit auf, wie eine Tumorzelle ohne genomische Mutationen zu einer rasch invasiven, „aggressiveren“ Zelle werden kann.

In einem weiteren Schritt wurde schließlich einer möglichen therapeutischen Beeinflussung der MMP-Regulation durch eine chemopräventiv wirkende Substanz nachgegangen. Hierbei wurde das natürlich vorkommende Polyphenol Curcumin ausgewählt, da es nicht toxisch ist, in epidemiologischen Studien Hinweise auf gute Wirksamkeit bei zahlreichen Karzinomen (insbesondere auch beim Mammakarzinom) existieren und ein Einfluss auf das Invasionsverhalten der Tumorzellen durch Modulation von MMPs vermutet werden konnte.

Die dargestellten Untersuchungen lassen den molekularen Wirkmechanismus von Curcumin durch Induktion der Apoptose und Inhibition der Expression spezifischer MMPs gut nachvollziehen. Die detaillierte Aufklärung des Mechanismus ergab eine Hemmung der Untereinheit p65 des Transkriptionsfaktors NFκB, so dass dieser nicht mehr in den Nukleus transloziert wird. Eine zentrale Rolle spielt dabei IκBα, das als Inhibitor von p65 fungiert und – durch Curcumin in seiner Phosphorylierung gehemmt – mit p65 komplexiert im Zytoplasma

verbleibt. Da somit p65 nicht mehr in den Zellkern transloziert wird, unterbleibt die vom Transkriptionsfaktor NFκB abhängige Expression von Genprodukten wie etwa die von MMPs. Neben der Wirkung auf NFκB konnten wir zeigen, dass auch andere Transkriptionsfaktoren, so v.a. AP-1, durch Curcumin-Gabe moduliert werden, teils als indirekter Effekt der NFκB-Blockade, teils unabhängig hiervon.

Schließlich ließ sich belegen, dass p65 zudem eine zentrale Bedeutung für die Regulation der proinflammatorischen Zytokine CXCL1 und -2 aufweist. Eine Applikation von Curcumin kann daher (sekundär) auch in Entzündungs-assoziierte Signaltransduktionswege eingreifen.

Da infolge der NFκB-Inhibition eine Stimulation der Synthese von MMPs unterbleibt, ergab sich sowohl in *in vitro*-Invasionsassays eine signifikant reduzierte Invasivität als auch im *in vivo*-Nacktmausmodell eine entsprechend verringerte Metastasenbildung der injizierten Tumorzellen. Somit lieferten unsere Untersuchungen einen ersten Beleg für die im „Stand der Forschung“ diskutierten Hinweise auf einen Tumor-hemmenden Effekt des Curcumins.

Publikationen zum Thema

- B.E. Bachmeier, A.G. Nerlich, R. Lichtinghagen, C.P. Sommerhoff. Matrix metalloproteinases in breast cancer cell lines of different tumorigenicity. *Anticancer Res.* 21: 3821-3828 (2001)
- B.E. Bachmeier, R. Vené, C. M. Iancu, U. Pfeffer, B. Mayer, D. Noonan, A. Albini, M. Jochum, A.G. Nerlich. Transcriptional control of cell density dependent regulation of matrix metalloproteinase and TIMP expression in breast cancer cell lines. *Throm. Haemostas.* 93: 761-9 (2005)
- B.E. Bachmeier, A. Nerlich, C. M. Iancu, M. Cilli, S. Koehler, R. Dell'Eva, M. Jochum, A. Albini, U. Pfeffer. The chemopreventive polyphenol curcumin prevents hematogenous cancer metastases in immunodeficient mice. *Cell Physiol. Biochem.* 19: 137-52 (2007)

Anschrift der Verfasserin

PD Dr. rer. biol. hum., Dr. med. habil. Beatrice Bachmeier, Abteilung für Klinische Chemie

und Klinische Biochemie, Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München, Nussbaumstr. 20, D-80336 München, E-mail: bachmeier@med.uni-muenchen.de

Cathepsin X: Identifizierung und Charakterisierung einer neuartigen lysosomalen Cysteinprotease

Habilitation (PD Dr. med. habil.) aus der Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie, Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München (Leiterin: Prof. Dr. Marianne Jochum), 2008

Dorit Karin Nägler, München

Zielsetzung

Cysteinproteasen, zu denen zahlreiche Cathepsine zählen, spielen eine wichtige Rolle in (patho)physiologischen Prozessen, die u. a. mit Zellmigration und Gewebedestruktion, insbesondere mit dem Abbau der extrazellulären Matrix (EZM), verbunden sind. Bislang wurde vorrangig dem Cathepsin B eine extrazelluläre Funktion bei der Tumordinvasion und –metastasierung zugeschrieben. Es häufen sich jedoch Hinweise darauf, dass auch Cathepsin X, eine von uns 1998 entdeckte neuartige lysosomale Cysteinprotease, an pathologischen Prozessen beteiligt ist.

Schwerpunkte des Habilitationsprojektes waren daher:

- Identifizierung und Klonierung des humanen Cathepsin X
- Rekombinante Expression und enzymatische Charakterisierung von Cathepsin X
- Aufklärung der Kristallstruktur des humanen Procathepsin X
- Entwicklung eines Enzym-gekoppelten Immunoassays zur quantitativen Detektion von (Pro)Cathepsin X

- Bestimmung der Cathepsin X-Expressionsmuster in Normal- und Tumorgewebe
- Evaluierung des Cathepsin X als potentieller Entzündungsmarker
- Nachweis der Beteiligung des Procathepsin X an Adhäsions- und Migrationsprozessen

Wesentliche Ergebnisse

Nach der Identifizierung und Klonierung wurde das humane Cathepsin X zur näheren Charakterisierung in der Hefe *Pichia pastoris* gentechnisch hergestellt und strukturell mittels Röntgenstrukturanalyse sowie hinsichtlich seiner Substratspezifität untersucht. Als besonders interessant erwies sich dabei die kovalente Bindung der sehr kurzen Proregion an den Cysteinrest des aktiven Zentrums. Cathepsin X ist somit die erste bekannte Protease, bei der die Inhibition der proteolytischen Aktivität durch die Proregion auf einer reversiblen kovalenten Modifikation des "active-site"-Nukleophils basiert. Eine weitere Besonderheit von Cathepsin X ist dessen Carboxypeptidase-Aktivität, die Spekulationen auf eine spezifische Funktion zulässt.

Zur extra- und intrazellulären Detektion und Quantifizierung des humanen Cathepsin X haben wir einen sensitiven, spezifischen Enzymgekoppelten Immunoassay (ELISA) etabliert. Mit diesem ELISA und weiteren biochemischen Techniken konnten wir nachweisen, dass Cathepsin X verstärkt in phagozytierenden Entzündungszellen, d. h. vor allem in Monozyten/Makrophagen, exprimiert wird. Ebenso wurde eine Überexpression von Cathepsin X in entarteten Zellen, beispielsweise bei Tumoren epithelialen Ursprungs wie dem Prostatakarzinom oder dem Magenkarzinom (vom intestinalen Typ), beobachtet.

Bereits die erhöhte Expression des Cathepsin X in Monozyten/Makrophagen deutete auf eine mögliche Funktion dieses Enzyms bei Entzündungen hin. Einen weiteren Hinweis lieferte die Abhängigkeit der Expression von einer *H. pylori*-Infektion im Falle einer entzündeten Magenschleimhaut bei Patienten mit Gastritis. Zudem wurde Cathepsin X als möglicher Entzündungsmarker in einer Pilotstudie mit Patienten, die an einem multiplen Trauma litten, identifiziert.

Weitere Untersuchungen zeigten, dass Cathepsin X in gereifter Form hauptsächlich intrazellulär in Lysosomen lokalisiert ist, während das Enzym überwiegend als Zymogen (Procathepsin X) von Tumor- bzw. Entzündungszellen freigesetzt wird. Unsere Ergebnisse deuten zudem darauf hin, dass extrazelluläres Procathepsin X mit Integrin-vermittelten Signalwegen interagiert.

Im Rahmen der Aufklärung dieser Interaktion mit Integrin-vermittelten Signalwegen haben wir die Regulation von Cathepsin X durch EZM-Komponenten näher untersucht. Die Freisetzung dieser Protease wird durch Bindung von Vitronektin an seinen Rezeptor, das Integrin $\alpha_v\beta_3$, initiiert. Andererseits wird auch das Adhäsions-/Migrationsverhalten von Zellen durch Procathepsin X vor allem über dessen Wechselwirkung mit Adhäsionsmolekülen (Integrinen) beeinflusst. Entsprechend weisen z. B. Tumorzellen, bei denen wir die Expression von Cathepsin X mittels der RNA-Interferenz-

Technologie inhibiert haben, ein deutlich vermindertes Migrationspotential auf. Insgesamt deuten somit unsere Ergebnisse darauf hin, dass extrazelluläres (Pro)Cathepsin X neben seiner Rolle als Protease auch nicht proteolytische Funktionen, beispielsweise als Ligand bestimmter Zelloberflächenstrukturen ausüben kann.

Einen Schwerpunkt unserer weiterführenden Forschungsprojekte wird die Aufklärung der Regulation lysosomaler Cysteinproteasen im Kontext der Integrin-vermittelten Signaltransduktionswege in Tumorzellen (z. B. Prostatakarzinom) und mesenchymalen Stammzellen sowie die Bedeutung dieser Proteasen bei der Adhäsion, Migration/Invasion und Differenzierung darstellen. Hiervon erwarten wir Hinweise auf innovative Proteolyse-assoziierte Therapieoptionen zur Steuerung von Migration/Invasion und Differenzierung bei neoplastischen Prozessen, ohne dass dabei die regenerative Aktivität von Stammzellen beeinträchtigt wird.

Publikationen zum Thema

- Nägler, D.K. & Ménard, R. (1998) Human cathepsin X: A novel cysteine protease of the papain family with a very short proregion and unique insertions. *FEBS Lett.* 434, 135-139.
- Nägler, D. K., Zhang, R., Tam, W., Sulea, T., Purisima, E. O. & Ménard, R. (1999) Human cathepsin X: A cysteine protease with unique carboxypeptidase activity. *Biochemistry* 38, 12648-12654.
- Sivaraman, J., Nägler, D. K., Zhang, R., Ménard, R., Sulea, T. & Cygler, M. (2000) Crystal structure of human procathepsin X: A cysteine protease with the proregion covalently linked to the active site cysteine. *J. Mol. Biol.* 295, 939-951.
- Nägler, D. K., Lechner, A. M., Oettl, A., Kozaczynska, K., Scheuber, H. P., Gippner-Steppert, C., Bogner, V., Biberthaler, P. & Jochum, M. (2006) An enzyme-linked immunosorbent assay for human cathepsin X, a potential new inflammatory marker. *J. Immunol. Methods* 308, 241-250.
- Nägler, D. K., Krüger, S., Kellner, A., Ziomek, E., Ménard, R., Buhtz, P., Krams, M., Roessner, A. & Kellner, U (2004). Up-regulation of cathepsin X in prostate cancer and prostatic intraepithelial neoplasia. *Prostate* 60 (2), 109-119.

- Krueger, S., Kalinski, T., Hundertmark, T., Wex, T., Küster, D., Peitz, U., Ebert, M., Nögler, D. K., Kellner, U., Malfertheiner, P., Naumann, M., Röcken, C. & Roessner, A. (2005) Up-regulation of cathepsin X in *Helicobacter pylori* gastritis and gastric cancer. J. Pathol. 207, 32-42.
- Lechner, A.M., Assfalg-Machleidt, I., Zahler, S., Stoeckelhuber, M., Machleidt, W., Jochum, M. & Nögler, D. K. (2006) RGD-dependent binding of procathepsin X to integrin $\alpha_v\beta_3$ mediates cell-adhesive properties. J. Biol. Chem. 281, 39588-39597.

Anschrift der Verfasserin

PD Dr. rer. nat. Dr. med. habil. Dorit Karin Nögler, Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie, Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München, Nussbaumstr. 20, D-80336 München, E-mail: dorit.naegler@med.uni-muenchen.de

The Role of Matrix Metalloproteinases and Inflammatory Cytokines on Human Mesenchymal Stem Cell Invasiveness and Differentiation Capacity

Dissertation (Dr. rer. nat.) aus der Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie, Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München (Leiterin: Prof. Dr. Marianne Jochum), 2008

Virginia Egea, München

Tissue repair requires a well orchestrated integration of various cellular and molecular events such as cell migration, proliferation, differentiation, and remodelling of extracellular matrix. Recent studies provide evidence that bone marrow-derived stem cells including human mesenchymal stem cells (hMSC) may be involved in these processes. Endogenous hMSC are thought to be mobilized from bone marrow to migrate to sites of injury and inflammation, where they participate in the repair of damaged areas. Furthermore, transplantation of hMSC into injured tissues was shown to improve the regeneration process through differentiation of hMSC into tissue types such as bone, fat, and cartilage involving the release of various paracrine factors from these cells. Therefore, an enhanced understanding of the mechanisms controlling hMSC functions is required for the development of novel cell-based therapies.

At the beginning of this study almost nothing was known about the molecular requirements that direct hMSC movement through extracellular matrix (ECM) barriers such as basement membranes finally enabling tissue repair at the impaired body site. Since degradation of ECM mediated by specific proteolytic enzymes, in particular by matrix metalloproteinases (MMPs), is an important prerequisite for cell migration, we were primarily interested to study the role of MMPs and related factors for hMSC migration.

Consequently, the first aim of this study was to analyze the expression and functional role of MMPs and the endogenous tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in the capacity of hMSC for transmigration through human reconstituted basement membranes. This was achieved by use of various molecular biological, biochemical and cellular methods

including qRT-PCR, RNA interference (RNAi), Western blotting, and the establishment of a modified Transwell-invasion assay solely applying human components.

Thereby, we were able to demonstrate that hMSC exhibit a strong constitutive expression and synthesis of MMP-2 and membrane type 1 (MT1)-MMP as well as of their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2. hMSC were shown to traverse reconstituted human extracellular matrix (hECM) which was effectively blocked by addition of synthetic MMP inhibitors. Detailed studies applying RNAi revealed that gene knock-down of MMP-2, MT1-MMP, or TIMP-2 substantially impaired hMSC invasion capacity, whereas silencing of TIMP-1 enhanced cell migration, indicating opposing roles of both TIMPs in this process.

Moreover, for the first time preliminary data provide evidence for the existence of a novel crosslink between the endogenous TIMP-1 and the Wnt signalling pathway, repressing hMSC proliferation, differentiation, and invasion capacity.

Since inflammatory cytokines and chemokines are known to mobilize immune cells and leukocytes to tissue sites of injury, a potential importance of these factors in MMP/TIMP-mediated invasiveness of hMSC was investigated. The inflammatory cytokines TGF- β 1, IL-1 β , and TNF- α were found to upregulate MMP-2, MT1-MMP, and/or MMP-9 production in hMSC which resulted in a strong stimulation of chemotactic migration through ECM, whereas the chemokine SDF-1 α exhibited minor effects on MMP/TIMP expression and cell invasiveness.

One interesting feature of hMSC is their capacity to transdifferentiate across the mesodermal lineages into non-mesodermal cell types including glial- and neuronal-like cells. This plasticity renders hMSC as a valuable candidate for autologous replacement of damaged tissues in neurodegenerative disorders. However, little is known about the molecular mechanisms which regulate the hMSC plasticity.

In this context, we were able to demonstrate for the first time that the inflammatory cytokine TNF- α induces neural properties in hMSC. After incubation of hMSC for 14-28 days with TNF- α , the cells acquired neuroglial-like morphology without change in cell proliferation. In particular, they gained the ability to form neurosphere-like structures as an attribute characteristic of neural progenitor cells. In addition, TNF- α significantly upregulated the expression of numerous genes such as *LIF*, *BMP2*, *SOX2*, *GFAP* and *MAP2* which are important to neural cell growth and function, whereas NES transcription ceased, suggesting a neuroglial-like character in these cells.

Moreover, studies on intracellular MAPK signalling revealed that inhibition of ERK1/2 activity but not of p38 and JNK abolished the TNF- α -mediated regulation of neural genes, indicating a pivotal role of ERK1/2 in neural transdifferentiation of hMSC. Strikingly, TNF- α significantly enhanced expression of the chemokine receptor CXCR4 in hMSC during 14 days of incubation which was shown to facilitate chemotactic migration of these cells towards SDF-1 α , a chemokine known to be augmented in injured brain tissues.

Taken together, in this dissertation it has been elucidated for the first time in detail that hMSC constitutively express particular MMPs and TIMPs which are upregulated by inflammatory cytokines promoting the directed migration of hMSC across human reconstituted basement membranes *in vitro*. Interestingly, endogenous TIMP-1 may act as a repressor of hMSC invasion, proliferation, and differentiation. Moreover, it has been demonstrated that *in vitro* incubation of hMSC with TNF- α triggers neuroglial gene expression and enhances CXCR4-mediated chemotactic invasiveness towards SDF-1. These results indicate a potential mechanism for the recruitment and extravasation of hMSC into injured tissues *in vivo* and may provide a base for the use of autologous hMSC for the treatment of neurological disorders.

Resultierende Publikationen:

Neth P, Ciccarella M, Egea V, Hoelters J, Jochum M, Ries C: Wnt signaling regulates the invasion capacity of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells*, 24:1892-1903, 2006.

Ries C, Egea V, Karow M, Kolb H, Jochum M, Neth P: MMP-2, MT1-MMP, and TIMP-2 are essential for the invasive capacity of human mesenchymal stem cells: differential regulation by inflammatory cytokines. *Blood*, 109:4055-4063, 2007.

Neth P, Ries C, Karow M, Egea V, Ilmer M, Jochum M: The Wnt signal transduction pathway in stem cells and cancer cells: influence on cellular invasion. *Stem Cell Rev.*, 3:18-29, 2007. REVIEW

Egea V, Schichor C, Popp T, Neth P, Karow M, Goldbrunner R, Berninger B, Jochum M, Ries C: TNF- α regulation of ERK1/2 respecifies human mesenchymal stem cells to a neural fate and promotes CXCR4/SDF-1 α mediated migration. *Cell Death & Differentiation*. (In Revision).

Anschrift der Verfasserin

Dr. Virginia Egea, Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie, Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München, Nussbaumstr. 20, D-80336 München, E-mail: egeavirginia@hotmail.com

Der Wnt/ β -Catenin-Signaltransduktionsweg in humanen und murinen mesenchymalen Stammzellen: Analyse einzelner Signalkomponenten und deren funktioneller Bedeutung bei Proliferation und Invasion

Dissertation (Dr. rer. nat.) aus der Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie, Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München (Leiterin: Prof. Dr. Marianne Jochum), 2008

Marisa Karow, München

Mesenchymale Stammzellen (MSC) stellen aufgrund ihres Differenzierungspotentials einen großen Hoffnungsträger in der regenerativen Medizin dar. Entsprechend zahlreicher zell- und tierexperimenteller Untersuchungen scheint die klinische Anwendung dieser adulten Stammzellpopulation im Rahmen einer Zelltherapie in greifbare Nähe zu rücken, wobei MSC als Basis für einen Patientenspezifischen Zell- und Gewebeersatz dienen könnten. In welcher Weise die regenerative Kapazität der MSC durch spezielle Signaltransduktionsmechanismen gesteuert wird, ist jedoch noch weitgehend unbekannt.

Vor diesem Hintergrund wurde in der Dissertationsarbeit der Wnt/ β -Catenin-Signalweg

sowohl in humanen (hMSC) als auch in murinen (mMSC) mesenchymalen Stammzellen untersucht. Diesem komparativen Ansatz lag das Ziel zugrunde, Gemeinsamkeiten und Unterschiede in diesen beiden Zellentitäten zu evaluieren, um damit langfristig den Grundstein für die Übertragbarkeit von Daten aus murinen *in vivo*-Modellen auf die klinische Situation legen zu können.

Hierzu wurden zunächst in beiden Zellpopulationen die Basis-Komponenten des Wnt/ β -Catenin-Signalweges vergleichend analysiert. Eine Aktivierung des Wnt-Signalweges wurde über Stimulation mit Wnt3a bzw. LiCl sowie in einem RNA-Interferenz (RNAi)-basierten Ansatz durch Knockdown der für den β -Catenin-

Abbaufunktion essentieller Proteine APC und Axin2 erreicht, während eine Inhibition durch die Transfektion von *small interfering RNAs* (siRNAs) gegen das transkriptionsaktivierende Protein β -Catenin bzw. den Wnt-Korezeptor LRP5 induziert wurde. Dabei zeigten sich neben zahlreichen Gemeinsamkeiten unter anderem hinsichtlich der Proliferation auch klare Unterschiede zwischen hMSC und mMSC. Dies betraf insbesondere die Steuerung von Matrix-Metalloproteinase (MMP)-medierten Invasionsprozessen, die im Falle von hMSC eine deutliche Wnt-Abhängigkeit aufwiesen, während die Invasionsfähigkeit von mMSC nicht durch den Wnt-Signalweg reguliert wurde. Diese Unterschiede in den zellulären Phänotypen spiegelten sich vorwiegend in einer Spezies-divergenten Regulation der Matrix-Metalloproteinase MT1-MMP wider, da nur in hMSC die Aktivierung der Wnt-Signaltransduktionskaskade mit einer vermehrten MT1-MMP-Expression einherging.

Darüber hinaus konnte das TOP-Reporter-System in mMSC etabliert werden, das die Quantifizierung β -Catenin-abhängiger Expression ermöglicht. Dies erfolgt mit Hilfe eines Reporterproteins (Gaussia Luciferase), dessen Expression nur nach Translokation von β -Catenin in den Zellkern induziert wird. Mit diesem System konnte unter anderem auch der Nachweis der funktionellen Plasmid-kodierten Wnt3a-Expression erbracht werden. Vor allen Dingen hinsichtlich einer Anwendung im *in vivo*-Mausmodell könnten derartig generierte Reporter-mMSC von großem Vorteil sein, da Wnt-aktive MSC mittels eines *in vivo*-Imaging-Systems visualisiert werden können, um ihre Rolle bei Geweberegenerationsprozessen zu untersuchen.

In einem weiteren Teilprojekt wurde die Wirkung von Dkk-1, einem Inhibitor des kanonischen Wnt-Signalweges, in hMSC eingehend untersucht. Dabei stand die Analyse der Wechselwirkungen zwischen Dkk-1 und seinem Rezeptor LRP6 im Vordergrund. Versuche zum LRP6-Knockdown brachten ein komplexes Regulationssystem zutage, das eine

feinjustierte Balance zwischen aktivierenden und inhibierenden Signalen impliziert. Die Ergebnisse zusätzlicher RNAi-basierter Experimente wiesen außerdem auf eine funktionelle Divergenz von LRP5 und LRP6 hin. So vermittelt der Wnt-Korezeptor LRP5 vornehmlich aktivierende Signale, wie sie z.B. durch Wnt3a ausgelöst werden, während LRP6 hauptsächlich eine repressive Funktion beispielsweise durch Bindung von Dkk-1 zuzuordnen ist.

Da neben den LRP-Rezeptoren auch Frizzled-Rezeptoren (Fzd) eine wesentliche Rolle bei der Wnt-Signalerfassung spielen, wurde zunächst das Fzd-Expressionsprofil in hMSC mittels semiquantitativer RT-PCR-Analysen näher untersucht. Dabei zeigte sich, dass alle bisher bekannten 10 Fzd auch in hMSC exprimiert werden, dieses jedoch in unterschiedlichem Ausmaß. Zudem ergaben Wnt3a-Stimulationsexperimente, dass die Expression von Fzd8 negativ durch Wnt3a beeinflusst wird. Um die Bedeutung von Fzd8 näher zu evaluieren, wurden daher Fzd8-Knockdown-Experimente durchgeführt. Diese ließen erkennen, dass die hMSC-Proliferation maßgeblich von der Fzd8-Expression abhängt, wobei allerdings Fzd8 keinen direkten Rezeptor für Wnt3a darstellt.

Zusammenfassend spiegeln die erhobenen Daten eindeutige Unterschiede zwischen basalen Wnt-regulierten Prozessen in hMSC und mMSC wider, denen insbesondere bei der präklinischen Validierung von therapeutischen Strategien in Mausmodellen eine tragende Rolle zukommt. Da der Wnt/ β -Catenin-Signalweg maßgeblich an der Steuerung des invasiven Verhaltens von hMSC beteiligt ist, wie dies in ähnlicher Weise von anderen Forschergruppen auch für die Metastasierung von Tumorzellen nachgewiesen werden konnte, erscheint es zukünftig von vorrangigem Interesse, die hier erhobenen *in vitro*-Daten in einem *in vivo*-Mausmodell zu evaluieren. Denn nur durch einen komparativen Ansatz, wie er dieser Arbeit zugrunde liegt, kann die Basis für ein Spezies-relevantes *drug design* bezüglich des Wnt-Signalweges entwickelt werden, um

schließlich aussagekräftige Stammzelltherapien bzw. Anti-Tumorstrategien entwickeln zu können.

Resultierende Publikation der Dissertation

- Neth P, Ries C, Karow M, Egea V, Ilmer M, Jochum M: The Wnt signal transduction pathway in stem cells and cancer cells: influence on cellular invasion. *Stem Cell Rev.*, 3:18-29, 2007.
- Ries C, Egea V, Karow M, Kolb H, Jochum M, Neth P: MMP-2, MT1-MMP, and TIMP-2 are essential for the invasive capacity of human mesenchymal stem cells: differential regulation by inflammatory cytokines. *Blood*, 109:4055-4063, 2007.

- Karow M, Popp T, Egea V, Ries C, Jochum M, Neth P. Wnt signaling in mouse mesenchymal stem cells: impact on proliferation, invasion, and MMP expression. *J Cell. Mol. Med.* Accepted Article Online: 2008 Dec 24. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2008.00619.x

Anschrift der Verfasserin

Dr. Marisa Karow, Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie, Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München, Nussbaumstr. 20, D-80336 München, E-mail: marisa.karow@med.uni-muenchen.de

Regulation der Sekretion und Zelloberflächenassoziation von Cathepsin X durch Interaktionen mit dem Integrin $\alpha v \beta 3$ und seinem Liganden Vitronektin

Dissertation (Dr. rer. nat.) aus der Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie, Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München (Leiterin: Prof. Dr. Marianne Jochum), 2008

Annette Lechner, München

Cathepsine sind lysosomale Cysteinproteasen, die neben der allgemeinen Protein-degradation in Lysosomen auch spezifische Funktionen ausüben, die eine limitierte Proteolyse erfordern. Zudem werden Cathepsine sezerniert, weshalb man sie auch im Extrazellulärraum findet, wo sie ebenfalls an verschiedenen biologischen Vorgängen, wie etwa der Zellmigration/Invasion, teilnehmen.

Über Cathepsin X, einen relativ neu entdeckten Vertreter dieser Proteinklasse, war zu Beginn der Promotionsarbeit noch wenig bekannt. Die Struktur und das Aktivitätsprofil konnten zwar bereits gelöst werden, über mögliche (patho-)physiologische Funktionen gab es jedoch noch keine Erkenntnisse. Das Hauptziel der Promotionsarbeit war daher, mit-

tels geeigneter Methoden nähere Aufschlüsse über die Rolle von Cathepsin X oder seiner Proform innerhalb und außerhalb der Zelle zu erlangen. Dies sollte vorwiegend durch die Analyse der Expression und Sekretion dieser Protease, sowie durch das Auffinden von Interaktionspartnern erfolgen.

Wie sich in Vorversuchen zeigte, wird Cathepsin X in humanen Leukozyten unterschiedlich stark exprimiert. Da eine hohe Expression insbesondere in Monozyten vorlag, wurde für weitere Analysen das Zellmodell THP-1 eingesetzt, das auch für die Differenzierung zu Makrophagen-ähnlichen Zellen durch Stimulation mit Phorbol-12-Myristat-13-Acetat (PMA) oder all-trans Retinsäure (ATRA) verwendet werden kann. Interessanterweise zeigten diese

Agenzien unterschiedliche Auswirkungen auf die Expression und Sekretion von Cathepsin X. So wurde mit PMA eine starke intra- und extrazelluläre Erhöhung der Protease verzeichnet, während mit ATRA das Gegenteil der Fall war.

Da eine differenzielle Expression von Cathepsin X in Leukozyten auf eine mögliche Funktion in der Entzündungsantwort hindeutet, schien eine Untersuchung der Wirkung von proinflammatorischen Zytokinen und extrazellulären Matrix (EZM)-Proteinen sinnvoll, weil diese Faktoren ebenfalls die Sekretion von Proteasen beeinflussen können. Die untersuchten Zytokine hatten allerdings keinen Effekt auf die Sekretion von Cathepsin X aus THP-1-Zellen, wohingegen mit dem EZM-Protein Vitronektin eine Verdopplung der Cathepsin-X-Konzentration im Medium beobachtet wurde. In diesem Kontext konnte nachgewiesen werden, dass Vitronektin durch die Interaktion mit dem Zelloberflächenrezeptor Integrin $\alpha\beta3$ den Sekretionsapparat der Zelle beeinflusst, wobei offensichtlich das Sequenzmotiv Arginin-Glyzin-Aspartat (RGD), welches in Vitronektin enthalten ist, für diesen Vorgang entscheidend ist.

Neben Cathepsin X wurde auch für die Cathepsine B und L eine erhöhte Freisetzung nach Inkubation mit Vitronektin gemessen, was zeigt, dass dieser durch das EZM-Protein ausgelöste Mechanismus nicht auf Cathepsin X beschränkt ist. Umgekehrt ließ sich in einem weiteren Zellmodell (HUVEC) durch den Einsatz von „small-interfering RNA“ (siRNA) die Expression von Cathepsin X erniedrigen, was zu einer verminderten Migration der HUVEC in einem Invasionsversuch führte. Dies deutet auf eine Funktion von Cathepsin X in der Zellmotilität hin.

Weil Cathepsin X, ähnlich wie Vitronektin, ein exponiertes RGD-Motiv in seiner Proregion

aufweist, sollte nun eine mögliche Interaktion mit Integrinen untersucht werden. Tatsächlich ließ sich eine RGD-abhängige Interaktion von Procathepsin X mit dem Integrin $\alpha\beta3$ zeigen. Somit werden in dieser Arbeit zwei wesentliche neue Aspekte in der Regulation der Sekretion und seiner Beteiligung an Migrationsvorgängen gezeigt, wobei die Interaktion von Procathepsin X mit dem Integrin $\alpha\beta3$ eine besondere Rolle zu spielen scheint. Ob diese beiden Vorgänge miteinander gekoppelt sind, konnte mit den bisherigen Ergebnissen noch nicht bewiesen werden.

Insgesamt deuten die Ergebnisse jedoch darauf hin, dass extrazelluläres (Pro)Cathepsin X neben seiner Rolle als Protease auch nicht-proteolytische Funktionen, beispielsweise als Ligand bestimmter Zelloberflächenstrukturen ausüben kann. Dieser Aspekt könnte im Hinblick auf eine therapeutische Inhibition von Angiogenese und Metastasierung von Tumorzellen durch Antikörper gegen Cathepsin X und/oder Integrine von großem Nutzen sein.

Resultierende Publikation der Dissertation

- D.K. Nägler, A.M. Lechner, A. Oettl, K. Kozaczynska, H.-P. Scheuber, C. Gippner-Stieppert, V. Bogner, P. Biberthaler, M. Jochum: An enzyme-linked immunosorbent assay for human cathepsin X, a potential new inflammatory marker. *J. Immunol. Methods* 308, 241-250 (2006)
- A. M. Lechner, I. Assfalg-Machleidt, S. Zahler, M. Stöckelhuber, W. Machleidt, M. Jochum, D.K. Nägler: RGD-dependent binding of procathepsin X to integrin $\alpha\beta3$ mediates cell-adhesive properties. *J. Biol. Chem.* 281, 39588-39597 (2006)

Anschrift der Verfasserin

Dr. Annette Lechner, Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie, Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München, Nussbaumstr. 20, D-80336 München, E-mail: Annette.Lechner@gmx.de

Klonierung, rekombinante Expression und erste Charakterisierung des humanen hodenspezifischen Serinprotease-ähnlichen Proteins T-GPI-SP1

Dissertation (Dr. rer. nat.) aus der Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie, Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München (Leiterin Prof. Dr. Marianne Jochum), 2008

Birgit Profanter, München

Serinproteasen spielen eine wichtige Rolle in der Entwicklung und Aufrechterhaltung eines Organismus. Dazu gehören bedeutende Prozesse wie die Befruchtung, die Immunantwort, die Wundheilung, die Blutgerinnung und die Verdauung. Des Weiteren sind Serinproteasen an einer Vielzahl von Krankheiten beteiligt, wo sie beispielsweise in der Entzündung und in der Tumorprogression involviert sind.

Kürzlich wurde eine neue Gruppe von membranverankerten Chymotrypsin (S1)-ähnlichen Serinproteasen identifiziert, die möglicherweise eine Rolle in malignen Erkrankungen spielen. Ein Mitglied dieser Gruppe ist die von Netzel et al. (2003) erwähnte GPI-SP1 (Glykosyl-Phosphatidyl-Inositol-verankerte Serinprotease 1), die in der Datenbank NCBI auch als Tryptophan/Serinprotease (Accession Number NM_198464) gelistet ist. In der Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie der Ludwig-Maximilians-Universität München hat Herr Dr. P. Neth dieses Protein schließlich aufgrund seines primären Vorkommens in Testisgewebe als T-GPI-SP1 (Testis-Glykosyl-Phosphatidyl-Inositol-verankerte Serinprotease 1) benannt und herausgefunden, dass drei Spleißvarianten von T-GPI-SP1 existieren. T-GPI-SP1-1 besteht aus einem 18 Aminosäuren langen Signalpeptid, einem 49 Aminosäuren umspannenden Propeptid und einer 228 Aminosäuren umfassenden katalytischen Domäne. Letztere zeigt eine Aminosäuresequenzidentität von 91 % und 82 % mit denjenigen von T-GPI-SP1-2 bzw. T-GPI-SP1-3. Nur T-GPI-SP1-1 besitzt einen hydrophoben

Teil aus 17 Aminosäuren am C-Terminus, der eine mögliche Verankerung des Proteins in der Zellmembran darstellen könnte.

Ein Hauptziel der Dissertationsarbeit war es nun, mittels geeigneter molekularbiologischer, biochemischer und immunhistochemischer Methoden Beiträge zur näheren Charakterisierung dieser bisher weitgehend unaufgeklärten Serinprotease zu leisten, und zwar zunächst durch die Evaluierung des mRNA-Expressionsprofils von T-GPI-SP1 in diversen Geweben und danach insbesondere durch die rekombinante Herstellung des Proteins in verschiedenen Expressionssystemen, die weiterführende Untersuchungen ermöglichen sollte.

Zur Überprüfung des Transkriptprofils von T-GPI-SP1 wurden verschiedene humane Gewebe getestet, wobei die mRNA-Expression vornehmlich in Hodengewebe, in geringerem Ausmaße aber auch in Schilddrüsengewebe von Männern detektiert wurde. Bezüglich der quantitativen Ausprägung der drei Spleißvarianten in humanem Hodengewebe und in Spermien konnte gezeigt werden, dass die höchsten Transkriptmengen die Spleißvariante T-GPI-SP1-1 aufweist, während T-GPI-SP1-2 und T-GPI-SP1-3 in wesentlich niedrigeren Mengen exprimiert werden.

Da wir auch an der Expression des T-GPI-SP1-Proteins und somit an dessen Lokalisation in humanen Geweben interessiert waren, war für immunhistochemische Untersuchungen die Herstellung von polyklonalen Antikörpern notwendig. Hierfür wurden die drei Spleißvarianten von T-GPI-SP1 in *E. coli* exprimiert und

T-GPI-SP1-3 wegen ihrer besten Ausbeute für die Immunisierung von Kaninchen eingesetzt. Der generierte polyklonale Antikörper erkennt aufgrund der hohen Aminosäuresequenzidentität des Antigens und der beiden weiteren Varianten alle drei Spleißformen aus *E. coli* ebenso wie rekombinant hergestellte T-GPI-SP1-1-Konstrukte aus anderen Expressionssystemen.

Mit Hilfe dieses Antikörpers konnte nun nachgewiesen werden, dass in Übereinstimmung mit dem mRNA-Profil die Expression von T-GPI-SP1 vornehmlich in humanem Hodengewebe, genauer gesagt in den Leydigischen Zellen, in den Sertoli-Zellen und in den Epithelzellen der *Ductuli efferentes* erfolgt. Zudem konnte T-GPI-SP1 auch in einigen humanen Ovarialtumoren und in Prostatakarzinomzellen detektiert werden.

Für funktionelle Studien wurde die *in vivo* am häufigsten vorkommende T-GPI-SP1-1 rekombinant in den Expressionssystemen *Pichia pastoris* und in der HEK293-Zelllinie hergestellt. Durch geeignete Genkonstruktwahl war es außerdem möglich, eine Membranverankerung von T-GPI-SP1-1 nachzuweisen, die einem hydrophoben Bereich am C-Terminus des Proteins zugeordnet werden konnte.

Die Aufreinigung dieses hoch instabilen Proteins stellte allerdings eine große Herausforderung dar. Möglicherweise liegt es gerade an dieser Instabilität, die durch computergestützte Analysen bestätigt wurde, dass keine enzymatische Aktivität von T-GPI-SP1 nachzuweisen war. Weder der Einsatz einer Vielzahl von synthetischen Substraten noch Aktivierungstudien mittels der Proteasen Furin und Trypsin erlaubten die Detektion einer proteolytischen Aktivität, weshalb die biologische Funktion dieses strukturell Protease-ähnlichen Proteins einer weiteren Aufklärung bedarf.

Resultierende Publikation der Dissertation

- Neth P, Profanter B, Geissler C, Nögler DK, Nerlich A, Sommerhoff CP, Jochum M. T-SP1: a novel serine protease-like protein predominantly expressed in testis. *Biol Chem.* 2008 Dec;389(12):1495-1504.

Anschrift der Verfasserin

Birgit Profanter, Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie, Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München, Nussbaumstr. 20, D-80336 München, E-mail: Birgit.Profanter@med.uni-muenchen.de

Buchbesprechung

Clinical Toxicological Analysis

von Wolf Rüdiger Külpmann (Hrsg.).

Wiley-VCH Weinheim 2009, 922 S. (2 Bände), 220 Abb., ISBN: 978-3-527-31890-2, Preis: 299,-0 € (Subskriptionspreis bis 30. 6 2009: 249,- €)

Mitglieder der Arbeitsgruppen „Klinische Toxikologie“ der DGKL und GTFCh haben mit Prof. Wolf Rüdiger Külpmann als Herausgeber eine völlig überarbeitete englischsprachige Ausgabe des bereits vor sieben Jahren erstmals erschienenen Handbuchs der Klinischen Toxikologie erstellt. Diese englischsprachige Ausgabe deckt in zwei Bänden mit insgesamt 922 Seiten (einschließlich Register), 38 Kapiteln (von 37 Autoren), 165 Tabellen, 220 Abbildungen (einschließlich Formelbildern) und insgesamt 1.015 Literaturzitaten erstmalig das gesamte Gebiet der modernen klinischen Toxikologie ab. Es werden einerseits die rasante methodische Entwicklung des Faches insbesondere auf dem Gebiet der Massenspektrometrie, aber auch die integrative Bedeutung des Faches zwischen Analytik und Klinik für den Leser deutlich sichtbar. „Clinical Toxicological Analysis“ beschäftigt sich mit der Untersuchungsplanung (Präanalytik und Strategie), mit der Durchführung der Analytik (Methoden und Bestimmungsverfahren), mit forensischen Aspekten und der Beurteilung und Befundung der Untersuchungsergebnisse. Hierbei kommt die Analytik keinesfalls zu kurz, was sich in einem state-of-the-art-Überblick über die heute verfügbaren Methoden sowie einer großen Zahl von Analysenvorschriften zeigt.

Besonders bemerkenswert sind außerdem Kapitel über Pestizide, chemische Kampfstoffe und Giftstoffe aus Pflanzen, Pilzen und Tieren. Im Anhang finden sich u. a. ausführliche Angaben zu therapeutischen und toxischen Kon-

zentrationenbereichen und eine Zusammenstellung von Antidota.

Alle Kapitel, die spezifisch einzelne Substanzen behandeln, sind klar strukturiert. Schwerpunkte sind dabei die Analytik, medizinische/toxikologische Beurteilung und die klinische Interpretation der Analysenergebnisse.

Ganz allgemein ist zu beobachten, dass wie beim therapeutischen Drug Monitoring auch in der Drogenanalytik und Vergiftungsanalytik quantitative Bestimmung der Giftstoffe im Blut immer öfter nachgefragt werden. Für ca. 150 Substanzen (s. Anlage) finden sich detaillierte methodische und substanzspezifische Angaben im vorliegenden Handbuch.

Trotz einerseits genereller Zweifel, ob im Zeitalter des Internet ein so umfangreiches Werk noch zeitgemäß ist und andererseits der Voreingenommenheit eines Mitautors, komme ich nach dem ersten Querlesen zu der Überzeugung, dass sich das Buchprojekt gelohnt hat. Herausgeber, die Autorengemeinschaft, Verlag und die DGKL als Förderer des Projekts dürfen sich jetzt auf ein hoffentlich reges und breites Interesse an diesem Werk freuen.

Anschrift des Verfassers:

Dr. Jürgen Hallbach, Department Klinische Chemie, Klinikum-München, Kölner Platz 1, D-80804 München

Anlage zur Buchbesprechung „Clinical Tixicological Analysis“: Verzeichnis der behandelten Einzelsubstanzen

Aceton	Flecainid	Oxycodon
Aldicarb	Flunitrazepam	Paracetamol
Aldrin	Fluorid	Paraquat
Amfetamine	Gabapentin	Pentazocin
Amiodaron	GHB	Perazin
Amitriptylin	Glutethimid	Phenazon
Atenolol	Glykolether	Phencyclidin
Benzen	Haloperidol	Phenobarbital
Bromide	Hexachlorobenzen	Phenytol
Buprenorphin	Ibuprofen	Pipamperon
Butyrophenon	Imipramin	Primidon
Cannabinoide	Insulin	Procainamid
Carbamazepin	Isopropanol	Proinsulin
Carbofuran	Ketamin	Promethazin
Carboryl	Lamotrigin	Propafenon
Carbomal	Levomepromazin	Propofol
Chemische Kampfstoffe	Lidocain	Propoxur
Chloralhydrat	Lindan	Propranolol
Chlordan	Lorazepam	Psilocin
Chloroquin	Lormetazepam	Psilocybin
Chlorprothixen	LSD	Pyrethroide
Citalopram	Maprotilin	Quetiapin
Clomethiazol	Melperon	Quinidin
Clomethiazol	Meperidin	Salicylat
Clomipramin	Meprobamat	Sertralin
Clonazepam	Mescaline	Sotalol
Clozapin	Metamizol	Strychnin
Cocain	Methadon	Sulfhämoglobin
Coffein	Methanol	Talinolol
CO-Hb	Methaqualon	Tetrachloroethen
Coumarine	Methaqualon	Tetrachloromethan
C-Peptid	Met-Hb	Thallium
Cyanid	Methohexital	Theophyllin
DDT	Methomyl	Thiopental
Desipramin	Methoxychlor	Thioridazin
Dextropropoxyphen	Methylphenidat	Tilidin
Dichlormethan	Metoprolol	Toluol
Diclofenac	Mexiletin	Toxaphen
Diethylenglykol	Midazolam	Tramadol
Digitoxin	Mirtazapin	Trichlorethan
Digoxin	Moclobemid	Trichlormethan
Diphenhydramin	Morphin und Derivate	Trichloroethen
Disopyramid	Nifedipin	Trimipramin
Doxepin	Nikotin	Valproinsäure
Doxylamin	Nortriptylin	Venlafaxin
Erythrozyten-Acetylcholinesterase	Olanzapin	Verapamil
Ethanol	Opipramol	Xylol
Ethosuximid	Orale Antidiabetika	Zaleplon
Ethylbenzen	Organophosphate	Zolpidem
Ethylenglykol	Oxcarbazepin	Zopiclon
Fentanyl	Oxprenolol	

Nachrichten

Themenhefte „Klinische Chemie und molekulare Diagnostik“

Heft 1: Leistungsverzeichnis des Medizinischen Laboratoriums

W. Vogt, Herausgeber; 62 Seiten, 1997, brosch., € 10,90 (für DGKL-Mitglieder € 8,00)

Heft 2: Sicherung der Qualität molekularbiologischer Methoden in der Klinischen Chemie

M. Neumaier, A. Braun, Th. Deufel, A. Roscher und Ch. Wagener, 62 Seiten, 1997, brosch., € 17,90 (für DGKL-Mitglieder € 15,00)

Heft 3: Die Vergütung ärztlicher Leistungen im medizinischen Laboratorium

S. Appel, Herausgeber, 58 Seiten, 1997, brosch., € 12,90 (für DGKL-Mitglieder € 10,00)

Heft 4: Total Quality Management und die Bewertung nach dem Modell der European Foundation for Quality Management - Anwendung auf das Medizinische Laboratorium

W. Vogt, Herausgeber, 216 Seiten, 2000, brosch., € 35,90 (für DGKL-Mitglieder € 30,00)

Weitere Informationen und Bestellungen bei:

Isensee Verlag GmbH, Haarenstr. 20/Burgstr. 17, D-26122 Oldenburg; Telefon 0441-25388; Telefax: 0441-17872; e-mail: Isensee-Verlag@t-online.de; URL: <http://www.isensee.de>

Preisverleihung

FCC/NIST/CLSI ROBERT-SCHAFFER-Preis für außergewöhnliche Leistungen in der Entwicklung von Standards für den Einsatz in der Laboratoriumsmedizin

Sponsoren: National Institute of Standards and Technology (NIST) and Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)



Prof. Dr. Lothar Siekmann

Die International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) hat auf ihrem Kongress 2008 in Fortaleza, Brasilien erstmalig den Robert-Schaffer-Preis für außergewöhnliche Leistungen in der Entwicklung von Standards für den Einsatz in der Laboratoriumsmedizin an Prof. Dr. Lothar Siekmann verliehen. Dieser neue IFCC-Preis ist

nach Robert Schaffer, einem Chemiker des National Institute of Standards and Technology benannt, der seine gesamte Karriere der Entwicklung von Referenzmethoden und Referenzmaterialien für den Einsatz in klinischen Laboratorien widmete.

Mit dem Robert-Schaffer-Preis werden Personen ausgezeichnet, die einzigartige Beiträge zur Verbesserung von Referenzmethoden und/oder Referenzmaterialien für die Laboratoriumsmedizin leisten und damit (1) die Qualität der klinischen Diagnostik und Therapie verbessern, (2) die Kosten für die Patientenversorgung reduzieren und (3) die Standardisierung der international anerkannten Vergleichbarkeit und Rückführbarkeit von Messergebnissen vorantreiben.

Professor *Siekmann* hat seine akademische Karriere der Entwicklung und Anwendung von Referenzmethoden für die Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin gewidmet, vorwiegend unter Anwendung massenspektrometrischer Methoden. Vieles aus seiner wissenschaftlichen Arbeit hat Einzug in die Praxis der klinischen Chemie gefunden, ebenso wie viele von ihm entwickelte Referenzmethoden noch heute in ständigem Gebrauch sind. Bis zu seiner Emeritierung war Dr. *Siekmann* Professor für Klinisch-Chemische Analytik und Technologie an der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn und hat als Direktor das Institut für Klinische Biochemie in der Zeit von 2002 bis 2007 geleitet. Aktuell leitet er das in Bonn ansässige Referenzlabor 1 der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin (DGKL). Professor Siekmann ist in der IFCC Scientific Division

und verschiedenen Komitees der IFCC engagiert und vertritt in zahlreichen nationalen und internationalen Gremien aktiv die Interes-

sen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V.

Verleihung des Lucie-Bolte-Preises (GASL)

Der Lucie-Bolte-Preis der German Association for the Study of the Liver (GASL) wurde Prof. *Axel M. Gressner*, Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie sowie Zentrallabor, Universitätsklinikum Aachen, in Anerkennung seiner wissenschaftlichen Verdienste bei

der Erforschung der Leberkrankheiten und im Andenken an die Stifter verliehen. Im Besonderen würdigt die Auszeichnung die hervorragenden Leistungen des Preisträgers auf dem Gebiet der Leberfibroseforschung und Sternzellbiologie.

Tagungs- und Kursankündigungen

Repetitorium Klinische Chemie 2009

Beginn: Montag, 23.11.2009, 12.00 Uhr
Ende: Samstag, 28.11.2009, 13.00 Uhr

Inhalt: Alle Kapitel des Gegenstandskataloges der Weiterbildung in Klinischer Chemie

Ort: Klinikum Links der Weser/Visit Academy, Fortbildungszentrum am Klinikum LDW, Bremen

Organisation

und Leitung: Herr Prof. Dr. E. Gurr, Bremen

Teilnahmegebühr: Mitglieder der DGKL: € 600,-, Nichtmitglieder der DGKL: € 670,-

Die Kosten für Übernachtung und Verpflegung sind in der Teilnahmegebühr enthalten. Die max. Teilnehmerzahl beträgt 22. Die Vergabe der Plätze erfolgt in der Reihenfolge der Anmeldungen.

Anmeldung und Auskunft:

Klinikum Links der Weser gGmbH, Zentrallabor, Frau K. Horstmann, D-28277 Bremen,
Tel: 0421-879-1671, Fax: 0421-879-1672, e-mail: kathrin.horstmann@klinikum-bremen-lbw.de

Mikroskopische Blutzelldifferenzierung 2009

Beginn: Samstag, 28.11.2009, 14.00 Uhr
Ende: Sonntag, 29.11.2009, 13.00 Uhr

Inhalt: Übungen zur mikroskopische Blutzelldifferenzierung

Ort: Klinikum Links der Weser/Visit Academy, Fortbildungszentrum am Klinikum LDW, Bremen

Organisation: Herr Prof. Dr. E. Gurr, Bremen

Leitung: Herr Prof. Dr. med. Schuff-Werner, Rostock

Teilnahmegebühr: € 190,-

Die Kosten für Übernachtung und Verpflegung sind in der Teilnahmegebühr enthalten. Die max. Teilnehmerzahl beträgt 20. Die Vergabe der Plätze erfolgt in der Reihenfolge der Anmeldungen.

Anmeldung und Auskunft:

Klinikum Links der Weser gGmbH, Zentrallabor, Frau K. Horstmann, D-28277 Bremen,
Tel: 0421-879-1671, Fax: 0421-879-1672, e-mail: kathrin.horstmann@klinikum-bremen-lbw.de

Positionen



UNIVERSITÄT ROSTOCK Medizinische Fakultät

Am Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock (www.ilab.med.uni-rostock.de) ist zum nächstmöglichen Zeitpunkt die Stelle einer/eines

Assistenzärztin/Assistenzarztes (Laboratoriumsmedizin)

(Vergütung erfolgt nach TV-Ä Tabelle Ost; 1,0 VK; 42 Std./Woche)

befristet für die Dauer der Facharztweiterbildung zu besetzen.

Die Bewerberin/Der Bewerber sollte die Weiterbildung zur Fachärztin/zum Facharzt für Laboratoriumsmedizin anstreben und möglichst schon Erfahrung in einem klinischen Fach, vorzugsweise Innere Medizin, mitbringen. Das Zentrallabor ist akkreditiert (nach DIN EN ISO 15189 und 17025). Außerdem ist an dem Institut eine Facharztpraxis assoziiert. Wir bieten eine Weiterbildung auf höchstem fachlichen Niveau in nahezu allen Bereichen der Laboratoriumsmedizin. Wissenschaftliches Interesse im Bereich der Molekularbiologie sowie Interesse an der Lehre werden vorausgesetzt. Bei Erfüllung der notwendigen Voraussetzungen besteht die Möglichkeit zur Habilitation.

Weitere telefonische Auskunft erteilt Ihnen gern Herr Prof. Dr. Schuff-Werner, Ärztlicher Direktor unter Tel. 0381 494 5011.

Ihre aussagefähigen Bewerbungsunterlagen werden innerhalb von **4 Wochen** nach Erscheinen an die **Universität Rostock, Medizinische Fakultät, Dezernat Personalwesen, Postfach 10 08 88, Sitz: Doberaner Str. 142, 18055 Rostock** erbeten.

Schwerbehinderte werden bei der Stellenbesetzung im Rahmen der geltenden gesetzlichen Bestimmungen bei gleicher nachgewiesener Eignung und Qualifikation bevorzugt behandelt.

Bewerbungskosten können nicht übernommen werden.



Vivantes ist europaweit einer der größten kommunalen Klinikkonzerne mit ca. 5.000 stationären Betten an 9 Klinikstandorten in Berlin.

Für das Vivantes Institut für Laboratoriumsdiagnostik suchen wir zum 1. Juli 2009 zwei

Fachärztinnen/Fachärzte für Laboratoriumsmedizin

oder

Ärztin/Arzt in fortgeschrittener Weiterbildung für Laboratoriumsmedizin

Das Institut für Laboratoriumsdiagnostik (IFL) ist der größte deutsche Laborverbund im Krankenhausbereich, bestehend aus einem Zentrallabor, einer mikrobiologischen Abteilung und acht Präsenzlaboratorien. Mit etwa 9,1 Millionen Analysen im Jahr stellt es die Versorgung von rund 120 Fachkliniken der Vivantes-Klinika sicher.

Ihre Aufgaben

- Sie arbeiten übergreifend an allen Standorten des IFL
- Sie sind zuständig für die Überwachung und Sicherstellung der Labordiagnostik
- Sie übernehmen klinische Beratungstätigkeiten
- Sie arbeiten an zentralen Projekten des IFL mit
- Sie nehmen am Rufbereitschaftsdienst für alle Laborstandorte einschließlich Mikrobiologie teil
- Bei bestehender Voraussetzung übernehmen Sie Aufgaben der Transfusionsverantwortlichen Person nach dem Transfusionsgesetz
- Sie betreuen ggf. einzelne Präsenzlabore fachärztlich
- Sie sind ggf. teilweise im MVZ Laboratoriumsdiagnostik beschäftigt

Ihr Profil

- Sie verfügen über eine Facharztausbildung in der Laboratoriumsmedizin und sind bereits langjährig in medizinischen Laboratorien tätig oder in fortgeschrittener Weiterbildung für Laboratoriumsmedizin
- Sie verfügen über Erfahrungen in der klinischen Chemie, Hämatologie, Hämostaseologie sowie der Immunhämatologie und Mikrobiologie
- Sie überzeugen durch Engagement, Konsensfähigkeit und besitzen die Fähigkeit bereichsübergreifend zu denken
- Sie zeichnen sich durch Teamfähigkeit aus

Ihre Fragen beantwortet:

Institutsleiter Dr. Thomas Rogge, Tel. 030 130 14 2531, ursula.baldauf@vivantes.de

Bitte bewerben Sie sich bis zum 03.07.2009:

Vivantes Klinikum Neukölln

Institut für Laboratoriumsdiagnostik

Rudower Str. 48, 12351 Berlin



RUHR-UNIVERSITÄT BOCHUM
Medizinische Fakultät



HDZ NRW

Ruhr-Universität Bochum

Herz- und Diabeteszentrum NRW

Am Herz- und Diabeteszentrum NRW – Universitätsklinik der Ruhr-Universität Bochum – ist die Stelle des/der

Direktors / Direktorin des Instituts für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin

(Nachfolge Professor Dr. med. Knut Kleesiek)

zum 1. März 2010 zu besetzen

Der/Die Stelleninhaber/in vertritt die Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin in der Krankenversorgung, Forschung und Lehre.

Das Institut umfasst das gesamte Leistungsspektrum der Fachgebiete Laboratoriumsmedizin und Transfusionsmedizin und ist damit eines der größten seiner Art an einer deutschen Universitätsklinik. Zum Institut gehört der Uni-Blutspendedienst OWL, der als pharmazeutisches Unternehmen Blut- und Zellprodukte herstellt (u.a. jährlich mehr als 40.000 Erythrozytenkonzentrate, mesenchymale Stammzellen). Ein Medizinisches Versorgungszentrum (Uni-Lab OWL) für Laboratoriumsmedizin, Transfusionsmedizin und medizinische Mikrobiologie ist dem Institut angegliedert.

Wir erwarten:

Der/Die Bewerber/in muss eine herausragende Qualifikation in der Forschung besitzen, die durch Publikationen in internationalen Zeitschriften und Drittmittelwerbung nachgewiesen ist. Das Forschungsprogramm soll sich in die wissenschaftlichen Arbeiten des Zentrums einfügen. Er/Sie muss deutlich machen, dass er/sie eigenständig Wissenschaft von hoher internationaler Qualität organisieren kann. Darüber hinaus werden von dem/der Bewerber/in eine ausgeprägte Kooperationsbereitschaft mit den Kliniken des HDZ NRW, der Medizinischen Fakultät der RUB, anderen Kliniken der Region und niedergelassenen Ärzten sowie eine engagierte Mitwirkung sowohl an der medizinisch-wissenschaftlichen als auch an der wirtschaftlichen Entwicklung des Zentrums erwartet. Der/Die Bewerber/in muss Arzt/Ärztin für Laboratoriumsmedizin sein. Außerdem sollte er/sie die Anerkennung als Klinische/r Chemiker/in der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin besitzen. Profunde Kenntnisse in der Transfusionsmedizin werden vorausgesetzt.

Es wird eine menschlich und fachlich herausragende Führungspersönlichkeit mit außergewöhnlichen ärztlichen und wissenschaftlichen Managementfähigkeiten gesucht, die die Zielsetzungen des Instituts national und international weiter entwickelt. Positiv evaluierte Juniorprofessur, Habilitation oder gleichwertige wissenschaftliche Leistungen sowie pädagogische Eignung werden ebenso wie die Bereitschaft zur Mitwirkung an der akademischen Selbstverwaltung vorausgesetzt.

Weiterhin werden vorausgesetzt:

- die Bereitschaft zu interdisziplinärem wissenschaftlichen Arbeiten,
- hochschuldidaktische Kompetenzen einschließlich eines hohen Engagements in der Lehre,
- erfolgreiche Einwerbung drittmittelgeförderter Forschungsprojekte.

Ihre Bewerbung

Das Auswahlverfahren wird gemeinsam vom Krankenhausträger und der Medizinischen Fakultät durchgeführt. Die Einstellung erfolgt auf der Grundlage eines Dienstvertrages. Vergütung und sonstige Bedingungen entsprechen den hohen Anforderungen. Zur Erhöhung des Anteils von Frauen in der Krankenhausversorgung, Forschung und Lehre werden geeignete Persönlichkeiten ausdrücklich aufgefordert, sich zu bewerben; die Bewerbungen geeigneter Schwerbehinderter sind erwünscht. Bewerbungen mit den üblichen Unterlagen sowie dem Bewerbungsbogen unter:

<http://www.ruhr-uni-bochum.de/medizin/dekanat/ServiceDekanat/Allgemeines/Bewerbungsbogen.pdf> oder

<http://www.ruhr-uni-bochum.de/medizin/dekanat/ServiceDekanat/Allgemeines/Bewerbungsbogen.rtf> werden in je einer Ausfertigung bis zu 6 Wochen nach Erscheinen der Anzeige erbeten an:

Dekan der Medizinischen Fakultät
Herrn Prof. Dr. med. G. Muhr
Ruhr-Universität Bochum
Universitätsstr. 150, 44801 Bochum

Geschäftsführer der Krankenhausbetriebs-
gesellschaft Bad Oeynhausen mbH
Herrn Titularprofessor Dr. O. Foit
Georgstr. 11, 32545 Bad Oeynhausen



Das Referenzinstitut für Bioanalytik (RfB) ist eine Referenzinstitution zur Qualitätssicherung im medizinischen Laboratorium. Träger des RfB ist die Deutsche Vereinigte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V. (DKGL). Das RfB entwickelt Verfahren zur internen und externen Qualitätssicherung labor diagnostischer Methoden und führt Ringversuche zur externen Qualitätssicherung durch. Zu den Hauptaufgaben des RfB gehört die Entwicklung von Referenzmethoden und Referenzmaterialien.

Für unser Kalibrierlaboratorium in Bonn suchen wir eine/n

Chemiker/in

als Stellvertretende/n Laborleiter/in

Ihre Aufgaben

- Unterstützung und Vertretung der Leitung des Kalibrierlaboratoriums
- Bearbeitung von analytischen und technischen Fragestellungen
- Optimierung bestehender Analysenmethoden
- Entwicklung und Einführung neuer Kalibrierverfahren
- Qualitätsmanagement
- Präsentation des RfB durch Vorträge und Publikationen

Ihre Qualifikation

- Erfolgreich abgeschlossenes Studium der Chemie
- Fundierte theoretische und praktische GC-MS- und LC-MS/MS-Kenntnisse

Außerdem:

- Analytisches und konzeptionelles Denken
- Zuverlässige und selbstständige Arbeitsweise
- Klinisch-Chemisches Grundwissen wünschenswert
- Hohe Auffassungsgabe und Leistungsbereitschaft
- Qualitätsbewusstsein
- Team- und Kommunikationsfähigkeit
- Sichere Englischkenntnisse in Wort und Schrift

Wenn wir Ihr Interesse geweckt haben, dann freuen wir uns auf Ihre aussagekräftigen Bewerbungsunterlagen, mit Angabe Ihrer Gehaltsvorstellung und Ihres frühestmöglichen Eintrittstermins. Bitte richten Sie Ihre Bewerbung an:

**Referenzinstitut für Bioanalytik, z.H. Herrn Prof. Dr. L. Siekmann,
Im Mühlenbach 52 A, 53127 Bonn.**

Geschäftsstelle der DGKL
Im Mühlenbach 52 b
D-53127 Bonn



☐ Antrag auf Mitgliedschaft

Mitglieds-Nr.: _____

Name: _____

Vorname (ausgeschrieben): _____

Geburtsdatum: _____

Titel: _____
(Prof., PD, Dr. ..., Dipl.- ..., akademische Titel bitte vollständig eintragen!)

Dienstanschrift:
Institut/Klinik/Firma: _____

Abteilung: _____

Straße, Haus-Nr.: _____

Postleitzahl, Ort: _____

Bundesland: _____

Telefon / Telefax: _____

E-Mail / Internet: _____

Zum Nachweis meiner Tätigkeit in der Klinischen Chemie und Laboratoriumsdiagnostik füge ich meinen Lebenslauf mit wissenschaftlichem Werdegang (ggf. Publikationsliste) bei.

Datum

Unterschrift

Der Antrag wird befürwortet von Ordentlichen Mitgliedern der DGKL:

1. _____
Name Datum Unterschrift

2. _____
Name Datum Unterschrift

An den Schriftleiter
der Mitteilungen der Deutschen Vereinten Gesellschaft für Klinische Chemie
und Laboratoriumsmedizin e.V.
Herrn Prof. Dr. Dr. med. Thomas Demant
Krankenhaus Dresden-Friedrichstadt
Institut für Klinische Chemie und Labormedizin
Friedrichstraße 41
01067 Dresden

Neues aus dem Mitgliederkreis

Antrag auf Veröffentlichung wissenschaftlicher Mitteilungen unter der Rubrik: „Neues aus dem Mitgliederkreis“

Name des einsendenden Mitgliedes: _____

Vorname (ausgeschrieben): _____

Titel: _____

(Prof., PD, Dr.●, Dipl.-●, akademische Titel bitte vollständig eintragen!)

Dienstanschrift:

Institut/Klinik/Firma: _____

Abteilung: _____

Straße, Haus-Nr.: _____

Postleitzahl, Ort: _____ Bundesland: _____

Telefon: (_____) _____ Telefax: (_____) _____

Mitteilung einer Vortragskurzfassung - Dissertation - Sonstiges*)

(nicht Zutreffendes bitte streichen)

Bei Vortragskurzfassungen: Kongress: _____

in: _____

Publiziert in: _____

(sofern das Copyright eines Verlages betroffen ist, bitten wir, vor Einsendung einer Vortragskurzfassung die Druck-
erlaubnis einzuholen)

Bei Dissertationen: Referent: _____

Fakultät (Jahr): _____

Titel: _____

Autor(en): _____

Institut: _____

Text: _____

(eventuell zusätzliche Seiten benutzen)

*) Mit dieser Sparte soll den Mitgliedern ermöglicht werden, Dissertationen, Kurzvorträge und Poster auf anderen Kongressen, Habilitationsarbeiten und sonstige wissenschaftliche Aktivitäten dem Mitgliederkreis bekannt zugeben.