

## Inhaltsverzeichnis

### Aus den Arbeitsgruppen

Für die POCT-AG: T. Koschinsky (München), R. Junker (Hamburg), P. B. Luppa (München), H. Schlebusch (München)

Ein einheitlicher Kalibrationsbezug (Plasma statt Vollblut) bei der patientennahen Glukosebestimmung verbessert die Therapiesicherheit beim Einsatz von Glukosekonzentrations-wert-abhängigen Therapiealgorithmen

Eine Initiative der POCT-AG der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin 2009 ..... 35

### Aus dem Mitgliederkreis

*Mario Menschikowski, Dresden*

In vitro- und in vivo-Untersuchungen zur Expression und Regulation der sekretorischen Phospholipase A2 vom Typ IIA und deren Bedeutung bei der Atherosklerose und anderen entzündlichen Erkrankungen

(Habilitationsschrift – Zusammenfassung) ..... 38

*Kathrin Schlatterer-Krauter, Berlin*

Molekulare Aspekte der Mehrstufenkanzerogenese

(Habilitationsschrift – Zusammenfassung) ..... 40

*Susanne Retter, Greifswald*

Vergleich von quantitativen Messmethoden zur Bestimmung von High Density Lipoprotein Cholesterin und Low Density Lipoprotein Cholesterin im Serum

(Promotionsschrift – Zusammenfassung) ..... 41

*Ulrike Wenzel, Greifswald*

Evaluierung verkürzter Zentrifugationsbedingungen unter Verwendung der SSTII Advance Vacutainer

(Promotionsschrift – Zusammenfassung) ..... 42

*Michael Ambrosius, Bad Oeynhausen*

Analyse von Glykosaminoglykanen in humanen Zellen und Körperflüssigkeiten

(Promotionsschrift – Zusammenfassung) ..... 44

*Javier Carrera Casanova, Bad Oeynhausen*

Rekombinante Expression von humanen Xylosyltransferasen in der methyliotrophen Hefe *Pichia pastoris* und in dem Bakterium *Escherichia coli*

(Promotionsschrift – Zusammenfassung) ..... 45

*Tanja Vollmer, Bad Oeynhausen*

Diagnostik und bakterielle Pathomechanismen in der infektiösen Endokarditis

(Promotionsschrift – Zusammenfassung) ..... 46

## Buchbesprechung

Praxis der Hochleistungs-Flüssigchromatographie .....	48
---	----

## Nachrichten

Themenhefte „Klinische Chemie und molekulare Diagnostik“ .....	49
--	----

## Preisausschreibung

Ausschreibung für den Felix-Hoppe-Seyler-Preis 2009 .....	50
---	----

## Tagungs- und Kursankündigungen

Repetitorium Klinische Chemie 2009 .....	51
--	----

Mikroskopische Blutzelldifferenzierung 2009 .....	51
---	----

## Kongressbericht

<i>K.-G. Heinze, Berlin</i> Laborleitertreffen Brandenburg, Berlin, Mecklenburg-Vorpommern 2009 .....	52
--	----

<b>Positionen</b> .....	58
-------------------------	----

## Personalia

 Neue Mitglieder .....	60
Adressenänderungen .....	60
Titeländerungen .....	61
Jubilare .....	61



**Deutsche Vereinte 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. Patschke, 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: [geschaefsstelle@dgkl.de](mailto:geschaefsstelle@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](mailto: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

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

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

## Aus den Arbeitsgruppen

### **Ein einheitlicher Kalibrationsbezug (Plasma statt Vollblut) bei der patientennahen Glukosebestimmung verbessert die Therapiesicherheit beim Einsatz von Glukosekonzentrationswert-abhängigen Therapiealgorithmen**

Eine Initiative der POCT-AG der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin 2009

*Für die POCT-AG: T. Koschinsky (München), R. Junker (Hamburg), P. B. Lappa (München), H. Schlebusch (München)*

Blutglukosebestimmungen werden heute großteils patientennah (point-of-care testing: POCT) durchgeführt. Derartige POC-Glukosemessungen sind für eine optimale Stoffwechselinstellung von Menschen sowohl mit Diabetes mellitus als auch mit akuten transitorischen Störungen des Glukosestoffwechsels im Zusammenhang mit anderen Erkrankungen, wie z.B. Herzinfarkt, essentieller Bestandteil einer leitliniengerechten Behandlung. Der Bedarf an Glukosemessungen hat in den letzten Jahren sowohl im ambulanten als auch im stationären Bereich deutlich zugenommen und dabei auch die Weiter- und Neuentwicklung von dafür geeigneten POCT-Messsystemen stimuliert. Ursprünglich hatte sich die Glukosebestimmung in venösem Plasma, Venenvollblut und Kapillarblut der Fingerbeere, das ein Gemisch aus arteriellem und venösem Blut, interstitieller Flüssigkeit und Zellflüssigkeit darstellt und dessen Zusammensetzung von Probe zu Probe variieren kann, als klinischer Standard etabliert. In den letzten Jahren sind jedoch auch POCT-Glukosemessungen in intradermalen und subkutanen interstitiellen Flüssigkeiten vorwiegend im Kontext von kontinuierlichen Messverfahren hinzugekommen. Noch in der klinischen Ent-

wicklung und Erprobung befindet sich eine Vielzahl von nichtinvasiven Verfahren zur patientennahen Glukosebestimmung in verschiedenen extravasalen Kompartimenten. Deshalb stellt sich in der Routine immer wieder die Frage, welche Glukosekonzentration für Diagnostik und Therapie die repräsentativste und unter dem Aspekt der Alltagstauglichkeit für patientennahe Messungen die praktikabelste ist.

Bekanntlich unterscheiden sich zu einem gegebenen Zeitpunkt die Glukosekonzentrationen in verschiedenen Teilen des Organismus schon aus physiologischen Gründen: z.B. besteht im Blut ein Konzentrationsgefälle vom arteriellen System über das Kapillarnetz zum venösen System; im akralen Kapillarnetz der Haut von Körperstamm und Extremitäten kommt es bei raschen Änderungen der arteriellen Blutglukosekonzentration zu klinisch relevanten Verzögerungen im Vergleich zur Konzentration in der Fingerbeere; im Interstitium oder in anderen Kompartimenten kommen variable Diffusionsgradienten für die Glukose hinzu, die zum einen vom Konzentrationsgefälle gegenüber dem Kapillarblut abhängen und die sich zum anderen in Abhängigkeit von der wechselnden, hormonell und metabolisch re-

gulierten Glukoseaufnahme des umgebenden Gewebes ändern. Diese vielfältigen Möglichkeiten verwirren im klinischen Alltag, wo möglichst einheitliche Bezugssysteme für die Beurteilung von Glukosekonzentrationswerten bei der Therapieumsetzung benötigt werden.

Glukose passiert durch passiven Transport die Erythrozytenmembran und verteilt sich gleichmäßig zwischen Plasma und Erythrozyten. Theoretisch ist die Konzentration der freien Glukose im wässrigen Kompartiment die geeignete, da biologisch wirksame Kenngröße, deren Konzentration in mmol/kg Wasser angegeben wird. Bisher hat sich jedoch in der klinischen Praxis nur die Messung der Glukosekonzentration im Vollblut und im venösen Plasma durchgesetzt (angegeben in mmol/L bzw. mg/dL). Wegen des unterschiedlichen Wassergehalts von Vollblut und Plasma liegen die Glukosekonzentrationen im Plasma im Durchschnitt bei einem Hämatokritwert von 43% um ca. 11% höher. Bei genauer Betrachtung ist bei der Messung im Plasma noch der Proteinfehler, im Vollblut zusätzlich der Hämatokritfehler zu berücksichtigen.

Die modernen Testsysteme zur patientennahen Glukosemessung ex vivo sind vorwiegend für die Verwendung von Vollblut (kapillär oder venös) konzipiert. Aufgrund unterschiedlicher automatischer Verarbeitung bei den verschiedenen Testverfahren erfolgt die eigentliche Messung in unterschiedlichen Probenmedien, z.B. im Hämolsat oder in unterschiedlichen, plasmaähnlichen Filtraten, aber auch im unveränderten Vollblut. Bei der Bestimmung wird die Glukose enzymatisch umgesetzt (mit Glukoseoxidase oder Glukosedehydrogenase und Mediatoren und Substraten), und das Reaktionsprodukt wird elektrochemisch oder photometrisch detektiert. Die Testsysteme zur kontinuierlichen subkutanen Glukosemessung in vivo sind entweder auf die subkutane interstitielle Flüssigkeit oder auf ein Dialysat daraus als Probenausgangsmaterial eingestellt, das weder Plasma- noch Vollblut-ähnlich ist. Dagegen unterscheidet sich die Messmethodik

nicht grundsätzlich von der oben beschriebenen.

Da mit diesen Testverfahren die jeweilige reale Glukosekonzentration nicht direkt gemessen sondern indirekt über Messgrößen, wie z.B. Strom- oder Farbänderung, erfasst wird, müssen die Verfahren kalibriert und die Messgrößen in entsprechende Glukosewerte umgerechnet werden. Die Kalibration erfolgt herstellerseitig mittels unterschiedlicher firmen- und gerätespezifischer Verfahren, deren Details in der Regel nicht veröffentlicht werden. Dabei können die Ergebnisse entweder auf Vollblut oder auf Plasma bezogen, d.h. entweder als Vollblut- oder Plasmakonzentrationen angegeben werden. Fortschritte bei der technischen Entwicklung haben den Messfehler moderner Systeme so weit reduziert, dass z.B. die neue Richtlinie der Bundesärztekammer zur internen Qualitätssicherung (RiliBÄK 2008) auch bei patientennahen Glukosemessungen eine maximale Abweichung von  $\pm 11\%$  vom Sollwert festlegt. Entsprechend erhöht sich die Bedeutung von Fehlerquellen wie der Verwechslung von Plasma- und Vollblutglukosewerten.

Um die Fehler, die sich aus der Vielfalt von Glukosemessverfahren ergeben können, für die primäre Diagnostik und für Therapieentscheidungen möglichst gering zu halten, hat die Deutsche Diabetes-Gesellschaft in ihren entsprechenden Leitlinien in Übereinstimmung mit internationalen Übereinkünften noch für 4 verschiedene Probenarten (Plasmaglukose: venös oder kapillär; Vollblutglukose: venös oder kapillär) äquivalente Konzentrationsbereiche bzw. -grenzen festgelegt.

Für die Verlaufsdiagnostik mit der darauf basierenden Therapieentscheidung wie auch für die Vergleichsuntersuchungen, z.B. nach RiliBÄK im Rahmen der Qualitätssicherung, zwischen einem Glukose-POCT-System und einer nasschemischen Referenzmethode im klinisch-chemischen Labor (Hexokinase/Glukose-6-Dehydrogenase-Methode), die in Deutschland bei einer Glukosebestimmung aus Vollblut ebenfalls zu Angaben als Vollblut- oder

Plasma-Glukose führen kann, gilt implizit das gleiche Prinzip: die Glukosekonzentrationen, die den jeweiligen Therapiealgorithmen oder Vergleichen zugrunde liegen, müssen auf die gleiche Weise gemessen werden sein wie der aktuelle Verlaufswert, zumindest muss aber das Ergebnis äquivalent sein. Mit anderen Worten: wer Vollblutglukosewerte misst, muss auch seine Therapiealgorithmen bzw. Vergleichsmessungen auf Vollblutglukosewerte aufbauen, und wer Plasmaglukosewerte misst, muss auch seine Therapiealgorithmen bzw. Vergleichsmessungen auf Plasmaglukosewerte ausrichten.

So banal diese Feststellung auch ist, im Alltag der stationären wie ambulanten Behandlung von Menschen mit Diabetes mellitus ist dieser Sachverhalt den Betroffenen vielfach ebenso wenig gegenwärtig wie den Mitgliedern des betreuenden Diabetes-Teams. Zum einen ist der theoretische Unterschied zwischen Vollblut- und Plasma-Glukosemesswerten nicht zwangs-läufig bekannt, zum anderen wissen Menschen mit Diabetes vielfach nicht, worauf ihre Therapiealgorithmen basieren oder sie wechseln im Laufe ihrer Behandlung das Glukosemesssystem, ohne zu realisieren, dass es dabei zu einem Wechsel der Messmethode kommt.

In Deutschland sind Testsysteme zur patientennahen Glukosemessung sowohl mit Kalibrierung auf Vollblutwerte (z.B. Roche Diagnostics oder Bayer Vital) als auch auf Plasmawerte (z.B. Abbott Diabetes Care oder Ortho-Clinical Diagnostics, LifeScan) im Handel. Die gleiche Verwirrung kann auch auf Reisen in Länder geschehen, in denen keine Messsysteme oder Teststreifen zur Verfügung stehen, die auf Vollblutglukosewerte kalibriert sind, z.B. in den USA und vielen anderen Teilen der Welt.

Mit immer engeren Therapieabstufungen, Norm- und damit auch der Hypoglykämie-

näheren Therapiezielen, und schneller und effektiver wirksamen Therapeutika (z.B. intensiviert konventionelle Insulintherapie oder kontinuierliche subkutane bzw. intravenöse Insulininfusion) steigen bei fehlender Beachtung des o.g. Sachverhaltes die Risiken einer Fehlentscheidung an den Stufengrenzen der Glukosekonzentrations-abhängigen Insulin- oder Kohlenhydratportions-Algorithmen und der daraus resultierenden Konsequenzen.

Um das Risiko der Verwechslung zwischen Vollblut- und Plasma-Glukosewerten zu beenden, hat die International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) bereits 2005 vorgeschlagen, die Glukoseergebnisse nur noch als Plasmawerte anzugeben, unabhängig von Probtyp und Messmethode. Dieser Vorschlag ist z. B. in den USA in Übereinstimmung mit der American Diabetes Association wie auch in den meisten Teilen der Welt und Europas (außer in Deutschland, Österreich und Spanien) erfolgreich und ohne erkennbare Probleme nach der empfohlenen Umstellung realisiert worden.

Vor diesem Hintergrund befürwortet die POCT-AG der DGKL eine neue Initiative mit dem Ziel, die o.g. Empfehlung der IFCC auch in Deutschland sowohl für patientennahe Glukosemessungen als auch für solche im klinisch-chemischen Labor umzusetzen. Die POCT-AG ist bereit, die dafür notwendigen Übergangsregelungen und Informationskonzepte im Rahmen der DGKL und in Kooperation mit diabetesDE, der neuen deutschen gemeinsamen Diabetes-Organisation, den an der Gesundheitsversorgung in Deutschland Beteiligten und der Industrie mit vorzubereiten und auch an der Informationsvermittlung auf allen relevanten Ebenen teilzunehmen.

### Korrespondenzadresse

Prof. Dr. T. Koschinsky, Heilmannstr.25f,  
81479 München, tkoschinsky@t-online.de

## Aus dem Mitgliederkreis

# ***In vitro- und in vivo-Untersuchungen zur Expression und Regulation der sekretorischen Phospholipase A2 vom Typ IIA und deren Bedeutung bei der Atherosklerose und anderen entzündlichen Erkrankungen***

Habilitation (PD Dr. med. habil.) aus dem Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Universitätsklinikum Dresden (Direktorin: Prof. Dr. med. Gabriele Siegert), 2008

*Mario Menschikowski, Dresden*

Die Pathogenese der Atherosklerose ist nach wie vor nur unvollständig aufgeklärt. Eine erfolgreiche Prävention und Therapie dieser Erkrankung ist jedoch in besonderem Maße vom Verständnis der sie beeinflussenden molekularen Mechanismen und Faktoren abhängig. Untersuchungsgegenstand der vorliegenden Arbeit ist ein Enzym, das zu Beginn der eigenen Untersuchungen nicht im Zusammenhang mit der Atherosklerose untersucht wurde. Es handelt sich um die sekretorische Phospholipase A<sub>2</sub> vom Typ IIA (sPLA<sub>2</sub>-IIA), die ähnlich den entzündlichen Geweben auch in atherosklerotischen Läsionen der menschlichen Arterienwand nachgewiesen werden konnte. Das Enzym lässt sich besonders in Regionen identifizieren, in denen massive Lipidablagerungen und Leukozyteninfiltrationen, Zellnekrosen und Kalzifizierungen vorkommen. Mit Hilfe zellspezifischer Antikörper konnten die sPLA<sub>2</sub>-IIA-positiven Zellen als Schaumzellen identifiziert werden. Diese stammen hauptsächlich von Makrophagen ab. Das Enzym wurde auch in glatten Muskelzellen, Myofibroblasten und  $\alpha$ -Aktin-positive Rundzellen atherosklerotisch veränderter Gefäßwände nachgewiesen. Weitere sPLA<sub>2</sub>-IIA-positive Immunreaktionen traten in azellulären Bereichen von Läsionen auf. Unter physiologischen Bedingungen besitzt die sPLA<sub>2</sub>-IIA eine positive Nettoladung, so dass das Enzym an negativ geladenen Proteoglykanen der extrazellulären Matrix binden kann. In

normalen, nicht-atherosklerotischen Gefäßabschnitten, die keine Zeichen entzündlicher Reaktionen aufwiesen, konnte dagegen keine sPLA<sub>2</sub>-IIA-Expression nachgewiesen werden.

Wie Untersuchungen *in vitro* zeigten, kann eine erhöhte sPLA<sub>2</sub>-IIA-Aktivität in der Gefäßwand zu veränderten strukturellen und biologischen Eigenschaften von Lipoproteinen führen. Mit Hilfe immunchemischer und physiko-chemischer Methoden wurde herausgefunden, dass die Phospholipolyse von Lipoproteinen mit 1) einer Zunahme der negativen Nettoladung der Partikel, 2) einer Anreicherung der äußeren Lipidmonolayerschicht mit Cholesterin, Lysophospholipiden und freien Fettsäuren und 3) einer veränderten Konformation der Apolipoproteine auf der Partikelloberfläche von sPLA<sub>2</sub>-modifizierten Lipoproteinen einhergeht. Neben den physikochemischen Eigenschaften waren auch die biologischen Eigenschaften der Lipoproteine verändert. So führte die Inkubation von Makrophagen mit sPLA<sub>2</sub>-modifizierten Lipoproteinen zur exzessiven zellulären Lipidaufnahme und zur Transformation von Makrophagen in Schaumzellen, die ein typisches Merkmal früher atherosklerotischer Läsionen darstellen.

Die Untersuchungen zur Substratspezifität der sPLA<sub>2</sub>-IIA wiesen nach, dass native Lipoproteine relativ resistent gegenüber einer sPLA<sub>2</sub>-IIA-katalysierten Phospholipolyse sind.

Wurden die Lipoproteine jedoch oxidativ modifiziert, stieg die Suszeptibilität der Lipoproteine für eine sPLA<sub>2</sub>-IIA-vermittelte Phospholipolyse signifikant an. Da vermutet werden kann, dass in atherosklerotischen Läsionen in Folge entzündlicher Reaktionen vermehrt oxidativ-modifizierte Lipoprotein-Partikel entstehen, könnte in der gefäßständigen Expression der sPLA<sub>2</sub>-IIA ein mögliches Bindeglied zwischen der „response to injury“-Hypothese und der „Lipidtheorie“ der Atheroskleroseentstehung gesehen werden.

Untersuchungen an transgenen Mäusen lieferten schließlich den Beleg dafür, dass auch *in vivo* eine Phospholipidhydrolyse von Lipoproteinen stattfindet, wenn die humane sPLA<sub>2</sub>-IIA überexprimiert wird. So wiesen sPLA<sub>2</sub>-IIA-transgene Mäuse im Vergleich zu Kontrolltieren signifikant höhere Serumkonzentrationen an freien Fettsäuren und niedrigere Serumspiegel von HDL- und LDL-Cholesterol auf. Auch die Zusammensetzung der einzelnen Lipoproteinsubfraktionen unterschied sich signifikant, ohne dass entzündliche Reaktionen, wie die Induktion proinflammatorischer Zytokine, bei den transgenen Tieren nachweisbar waren. Nach lipidreicher Fütterung wurden darüber hinaus erhöhte Cholesterolkonzentrationen in der Leber der transgenen Tiere gefunden. Diese Befunde deuten darauf hin, dass bei einer sPLA<sub>2</sub>-IIA-Überexpression eine verstärkte Aufnahme von LDL- und HDL-assoziiertem Cholesterol in der Leber erfolgt. Auf diese Weise könnte die häufig bei Patienten mit schweren entzündlichen Erkrankungen zu beobachtenden Hypocholesterolemien erklärt werden, indem die sPLA<sub>2</sub>-IIA während der Akut-Phase-Reaktion verstärkt exprimiert wird und zu einer verstärkten hepatischen Clearance der Lipoproteine führt.

Da die beschriebenen Untersuchungsergebnisse Hinweise dafür lieferten, dass es sich bei der sPLA<sub>2</sub>-IIA um einen proatherogenen Faktor handelt, schloss sich die Frage an, inwieweit die sPLA<sub>2</sub>-IIA-Expression durch Statine gehemmt wird. Zahlreiche neue Untersuchungen konnten nachweisen, dass Statine

neben ihren lipidsenkenden Wirkungen auch anti-inflammatorische Eigenschaften besitzen. Umso überraschender war der Befund, dass Statine die sPLA<sub>2</sub>-IIA-Synthese und -Sekretion in glatten Muskelzellen der menschlichen Aorta und in humanen HepG2-Hepatomzellen stimulieren und dabei mit proinflammatorischen Zytokinen wie IFN-γ und IL-1β synergistisch wirken. Weitere Untersuchungen zeigten, dass eine negative Regulation der sPLA<sub>2</sub>-IIA Grundlage für den Statin-stimulierenden Effekt ist. Diese negative Regulation wird durch Rho/Rho-Kinase-, Ras/MEK/ERK- und GSK-3β-abhängige Signaltransduktionswege vermittelt. Statine sind in der Lage, diese Signaltransduktionswege auf posttranskriptionaler Ebene zu blockieren. Bei gleichzeitiger Anwesenheit proinflammatorischer Zytokine steigern sie deshalb synergistisch die sPLA<sub>2</sub>-IIA-Expression, wie die Untersuchungen an HASMC und HepG2-Zellen zeigten.

Welche Relevanz diese Beobachtung für die Statintherapie besitzt, kann gegenwärtig nicht abschließend beantwortet werden und bedarf weiterer Untersuchungen. Einerseits könnte in der Induktion der anti-bakteriell wirksamen sPLA<sub>2</sub>-IIA ein kausaler Zusammenhang zur verminderten Prävalenz septischer Komplikationen bei Patienten mit Statintherapie bestehen. Andererseits wurden in zahlreichen epidemiologischen Studien zur Prävention und Therapie von KHK eindeutig positive Effekte für die Statinbehandlung belegt. Deshalb ergibt sich aus der sPLA<sub>2</sub>-IIA-Expression-steigernden Wirkung der Statine und den in der Arbeit gefundenen proatherogenen Eigenschaften von sPLA<sub>2</sub>-modifizierten Lipoproteinen ein scheinbarer Widerspruch. Aus diesem Grund wird anhand eigener und in der Literatur beschriebener Untersuchungsergebnisse die Frage diskutiert, inwieweit es sich bei der sPLA<sub>2</sub>-IIA um einen pathogenen und/ oder protektiven Faktor während der Atherosklerose und anderer Entzündungserkrankungen handelt. Für eine protektive Funktion sprechen die *in vitro* und *in vivo* nachgewiesenen antibakteriellen, antithrombotischen und antiapoptotischen Eigenschaften der sPLA<sub>2</sub>-IIA. Darüber hinaus

wurden Indizien für eine beschleunigte hepatische und adrenale Clearance der während der Entzündung entstehenden oxidativ-modifizierten Lipoproteinen durch die sPLA<sub>2</sub>-IIA-Expression gefunden. Eine weitere Aufklärung der Funktion der sPLA<sub>2</sub>-IIA während der Atherosklerose und anderer entzündlicher Erkrankungen wie der Sepsis ist deshalb unablässig, um neue Strategien für die Prävention und Therapie dieser Erkrankungen entwickeln zu können.

### **Anschrift des Verfassers:**

PD Dr. rer. medic. habil. Mario Menschikowski, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus an der Technischen Universität Dresden, Fetscherstraße 74, D-01307 Dresden, Telefon: +49 (0)351 458-2634, Telefax: -4332, E-Mail: Mario.Menschikowski@uniklinik-dresden.de

## **Molekulare Aspekte der Mehrstufenkanzerogenese**

Habilitation (PD Dr. med. habil.) aus dem Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Universitätsklinikum Greifswald (Direktor: Prof. Dr. med. Matthias Nauck)

*Kathrin Schlatterer-Krauter, Berlin*

Die Mehrstufigkeit des Kanzerogeneseprozesses ist bereits seit vielen Jahren wissenschaftlicher Konsens. Jedoch sind die molekularen Ereignisse im Rahmen dieses Prozesses auf den unterschiedlichen Stufen im Einzelnen nach wie vor nicht vollständig aufgeklärt. Karterierungen der spezifischen molekularen Effekte unterschiedlich wirkender Krebsauslösender Substanzen ergeben bisher lediglich Teilstücke eines Gesamtbildes. Auch kommt hinzu, dass maligne Tumoren eine komplexe, zumeist multikausale Entstehung haben. Dies stellt für die exakte Aufdeckung molekulare Effekte eine erhebliche Limitation dar. Da die überwiegende Zahl der Krebsfälle jedoch im weitesten Sinn umweltbedingt sind, stellt der verfolgte Ansatz der Aufklärung molekularer Effekte einzelner Substanzklassen nicht nur einen wichtigen Beitrag zum Verständnis des Krebsgeschehens, sondern auch zur Entwicklung von potentiellen Präventionsstrategien dar.

In unterschiedlichen in-vivo bzw. in-vivo/in-vitro-Testsystemen wurden sowohl genotoxisch wirkende Tumorinitiatoren als auch epigenetische Kanzerogene mit komplexer Wirkung systematisch auf die zelluläre Signaltransduktion, Genexpression, Zellwachstum, Wachstumsregulation sowie auf die Überlebensfähigkeit von Zellen bezüglich ihrer Effekte auf das zelluläre Proteom untersucht. Im Rückenhautmodell der Maus erfolgte die Analyse der Proteinexpressionsmuster im Sinne von Fingerprints sowohl qualitativ als auch quantitativ und in ihrem zeitlichen Verlauf nach Kanzerogenapplikation. Auffällige Proteinexpressionsveränderungen führten zu weiteren Charakterisierungen mit Datenbankabgleichen, Bestätigung/Ausschluss mittels Western Blot-Verfahren und Vornahme von Anreicherungsprozeduren, um dann hochgereinigte Proteine zu sequenzieren. Es fanden sich kanzerogeninduzierte signifikante Expressionsveränderungen insbesondere niedermolekularer cyto-

solischer Proteine mit charakteristischen Expressionskinetiken. Bei einzelnen Proteinen gelang es zu zeigen, dass es sich um de-novo exprimierte Polypeptide handelt. Partiell lassen sich diese Proteine auch in Papillomen und Karzinomen der Maushaut, ebenso in unbehandelter muriner neonataler Epidermis nachweisen.

Ebenfalls bedeutsam im Rahmen von mechanistischen Betrachtungen war die in diesen Studien erstmals ermittelte Bindungsfähigkeit des inkompletten Tumorpromotors RPA (12-O-Retinoyl-phorbol-13-acetat) an das Retinol-Bindende Protein (RBP). Dieses Vitamin-A-ähnliche Verhalten von RBP könnte wesentlich zu neuen Erklärungsansätzen für die deutlich unterschiedliche Wirkung von kompletten und inkompletten Tumorpromotoren beitragen, die sich bisher durch die Bindung an den gemeinsamen Bindungspartner Proteinkinase C (PKC) nicht erklären ließen.

Ein weiterer Schwerpunkt war die Etablierung eines wirtsvermittelten in-vivo/in-vitro-Systems, das es ermöglichen sollte, das kanzerogene Potential von Umweltchemikalien abzuschätzen. Es gelang zu zeigen, dass die im Rahmen dieser Arbeiten untersuchten Kanzerogene murine Peritonealmakrophagen transformieren können, was das Untersuchungsmodell als geeignet für Evaluierung des transformatorischen Potentials von Umweltchemikalien ausweist. Für einige Substanzen konnten permanente onkogene Zelllinien mit spezifischen Makrophageneigenschaften und signifikanten quantitativen und qualitativen Proteinexpressionsunterschieden gewonnen werden.

#### **Anschrift der Verfasserin:**

PD Dr. med. Dr. rer. nat. Kathrin Schlatterer-Krauter, Chefärztin Zentrallabor/Sankt Gertrauden Krankenhaus, Paretzer Str. 12, D-10713 Berlin, kathrin.schlatterer-krauter@sankt-gertrauden.de

## **Vergleich von quantitativen Messmethoden zur Bestimmung von High Density Lipoprotein Cholesterin und Low Density Lipoprotein Cholesterin im Serum**

Promotion (Dr. med.) aus dem Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Universitätsklinikum Greifswald (Leiter: Prof. Dr. med. Matthias Nauck)

*Susanne Retter, Greifswald*

Der Zusammenhang zwischen LDL-C- bzw. HDL-C-Serumkonzentrationen und dem Auftreten einer koronaren Herzkrankheit ist gut belegt. Bei der Therapieüberwachung von Fettstoffwechselstörungen stellt das LDL-C sowohl in den europäischen als auch in den amerikanischen Richtlinien eine entscheidende Zielgröße dar.

Die Ultrazentrifugation ist die Referenzmethode zur Bestimmung von LDL-C im Serum. Aufgrund des hohen technischen und zeitlichen Aufwands ist die Methode jedoch für die Routinediagnostik ungeeignet.

Die homogenen Methoden, ohne die Notwendigkeit von Präzipitation und Auftrennung,

sind komplett automatisierbar, schnell und benötigen nur ein kleines Probenvolumen.

In dieser Arbeit wurden fünf homogene Tests, darunter ein neu zu evaluierender Test, zur Messung von HDL-C und LDL-C untersucht und mit der Referenzmethode Ultrazentrifugation, der Lipoproteinelektrophorese mit enzymatischem Cholesterinnachweis, einer konventionellen HDL-C-Bestimmung nach Präzipitation mit Phosphorwolframsäure und Magnesiumchlorid und der LDL-C-Abschätzung nach Friedewald verglichen.

Die Studie umfasste die Untersuchung von 215 Serumproben von Normalstations- und Intensivpatienten des Universitätsklinikums Greifswald.

Die homogenen Tests korrelierten gut mit den herkömmlichen Vergleichsmethoden.

Die Untersuchung zeigte, dass bei fast allen homogenen Verfahren gegenüber den drei

Vergleichsmethoden die HDL-C-Konzentrationen im Serum gering höher bestimmt wurden. Bei fast allen homogenen Verfahren wurden gegenüber den drei Vergleichsmethoden die LDL-C-Konzentrationen etwas niedriger bestimmt.

Die neuen untersuchten Tests für HDL-C und LDL-C von Serotec korrelierten mit allen anderen homogenen Tests sehr gut. Im Vergleich mit der Referenzmethode Ultrazentrifugation zeigte nur der HDL-C Test eine akzeptable Richtigkeit. Die LDL-C-Werte wiesen eine systematische Abweichung von der Ultrazentrifugation auf, so dass eine Restandardisierung empfohlen wird, um die Richtigkeit des Assays zu verbessern.

#### **Anschrift der Verfasserin:**

Dr. med. Susanne Retter, susanne.retter@gmx.de

## **Evaluierung verkürzter Zentrifugationsbedingungen unter Verwendung der SSTII Advance Vacutainer**

Promotion (Dr. med.) aus dem Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Universitätsklinikum Greifswald (Leiter: Prof. Dr. med. Matthias Nauck)

*Ulrike Wenzel, Greifswald*

### **Zusammenfassung**

Laboratorien stehen heute unter großem Druck, schnell qualitativ hochwertige Analysen von Patientenproben zu erstellen. Möglichst ohne großen finanziellen, materiellen oder personellen Mehraufwand sollen Laborergebnisse so schnell wie möglich die behandelnden Ärzte erreichen, um entsprechende Therapieschritte einzuleiten und die Behandlungsqualität der Patienten zu erhöhen. Dabei sind in

den vergangenen Jahren viele Fortschritte im Bereich der Probenanalyse durch den Einsatz verbesserter Analysegeräte und Laborstrecken erzielt worden. Dadurch ließ sich eine zügigere Probenanalyse erreichen. Die präanalytische Phase, die den Zeitraum zwischen Probengewinnung und Probenanalyse umfasst, konnte jedoch nur teilweise hinsichtlich einer schnelleren Probenbearbeitung optimiert werden. Zwar konnte durch die Einführung automatischer Laborstrecken die Bearbeitung der Proben be-

schleunigt werden, den größten zeitlichen Anteil in dieser Phase nimmt aber nach wie vor die Zentrifugation der Blutproben ein. Dies hängt vor allem mit den in der klinischen Praxis häufig verwendeten vakuumhaltigen Blutentnahmeröhrchen zusammen, die am Röhrchenboden ein Trengel enthalten. Dieses Trengel wandert während der Zentrifugation zwischen Serum und Sediment und bildet dort eine Trennschicht aus, die eine Diffusion zwischen den beiden Schichten verhindert. Bislang mussten diese Blutentnahmeröhrchen mindestens 10-13 Minuten lang zentrifugiert werden, damit das Gel während der Zentrifugation an der Röhrchenwand entlang wandern und die Trennschicht ausbilden kann. In einer Neuentwicklung der häufig verwendeten Serumröhrchen der Firma Becton Dickinson, die BD Vacutainer®SST™II Advance, ist der Guss des Trenngels optimiert worden. Dieses Gel weist am Rand des Röhrchens eine kleine Ausziehung auf, die die Gelwanderung in den Röhrchen beschleunigen soll. Für die vollständige Ausbildung der Geltrennschicht soll die Zentrifugationszeit auf fünf Minuten verkürzt und die Zentrifugalbeschleunigung auf 3000 g erhöht werden können. Da hier die Erythrozyten einem erhöhten thermischen und mechanischen Stress ausgesetzt sind, muss eine durch die Zentrifugation verursachte Hämolyse ausgeschlossen werden, um die Analysequalität der Proben nicht zu beeinträchtigen. In der vorliegenden Studie wurden die BD Vacutainer®SST™II Advance erstmals unter klinischen Bedingungen und mit einem großen Probenvolumen auf das Vorliegen einer Hämolyse unter den verkürzten, alternativen Zentrifugationsbedingungen untersucht. Hierzu wurden in zwei Studienphasen jeweils 104 doppelte Serumproben untersucht, die in der klinischen Routine auf den Stationen des Universitätsklinikums Greifswald gewonnen wurden. Eine Probe wurde jeweils unter den im Labor

des Instituts für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin standardisierten, konventionellen Zentrifugationsbedingungen (13 Minuten Zentrifugationszeit bei 1700 g) zentrifugiert, die zweite Probe unter den verkürzten alternativen Zentrifugationsbedingungen (5 Minuten Zentrifugationszeit bei 3000g). Anschließend wurden die Serumproben auf das Vorhandensein einer Hämolyse untersucht. Dazu wurden die hämolysesensitiven Parameter freies Hämoglobin, Laktatdehydrogenase, Aspartataminotransferase und Kalium bestimmt. Ebenso wurde die Integrität und Vollständigkeit der Gelschicht dokumentiert. In einer dritten Studienphase wurde die Ausprägung verschiedener Hämolysegrade in den Proben retrospektiv bestimmt. Hierfür wurden die bei jeder Probe anhand des Gehaltes an freiem Hämoglobin spektralphotometrisch bestimmten Hämolyseindizes statistisch ausgewertet. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass unter den alternativen, verkürzten Zentrifugationsbedingungen im Vergleich zu den konventionellen Zentrifugationsparametern die Hämolyserate in den BD Vacutainer®SST™II Advance in allen drei Studienphasen nicht erhöht sowie die Gelbarriere in allen Proben intakt war. Aufgrund dieser Studienergebnisse konnte die Zentrifugationszeit im Zentrallabor des Instituts für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin von 13 Minuten um 60 % (8 Minuten) auf 5 Minuten gesenkt werden. Somit konnte die Effizienz der Probenbearbeitung deutlich erhöht werden. Die BD Vacutainer®SST™II Advance können daher für den klinischen Einsatz unter den verkürzten Zentrifugationsbedingungen empfohlen werden.

#### **Anschrift der Verfasserin:**

Dr. med. Ulrike Wenzel, [ulrike.wenzel@gmx.de](mailto:ulrike.wenzel@gmx.de)

# Analyse von Glykosaminoglykanen in humanen Zellen und Körperflüssigkeiten

Promotion (Dr. rer. nat.) aus dem Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin (Direktor: Prof. Dr. med. K. Kleesiek), Herz- und Diabeteszentrum Nordrhein-Westfalen, Universitätsklinik der Ruhr-Universität Bochum, vorgelegt an der Fakultät für Chemie der Universität Bielefeld

*Michael Ambrosius, Bad Oeynhausen*

## Zusammenfassung

Glykosaminoglykane (GAGs) sind nicht nur Bestandteile der extrazellulären Matrix, sondern übernehmen darüber hinaus als Bestandteil von Proteoglykanen wichtige Funktionen bei der Vermittlung und Steuerung von Zell-Zell- und Zell-Matrix-Interaktionen. Dabei spielt die Abfolge der  $\Delta$ -Disaccharide in den GAGs eine entscheidende Rolle für die Funktion. Die humanen Xylosyltransferasen XT-I und XT-II katalysieren den initialen und geschwindigkeitsbestimmenden Schritt bei der Bildung der GAGs am Core-Protein von Proteoglykanen.

Im Rahmen der Arbeit wurde eine HPLC-Methode entwickelt, um 16 verschiedene GAG  $\Delta$ -Disaccharide nach Derivatisierung mit dem Fluorophor 2-Aminoacridon quantitativ zu bestimmen. Damit können die GAGs Hyaluronsäure (HA), Chondroitinsulfat (CS), Dermatansulfat (DS), Heparansulfat (HS) und Heparin (H) quantitativ in ihrer  $\Delta$ -Disaccharid-Zusammensetzung analysiert werden. Im Vergleich zu allen vorherigen HPLC-Methoden zur Trennung derivatisierter  $\Delta$ -Disaccharide wurden mit der neuen Methode erstmalig 16 verschiedene  $\Delta$ -Disaccharide in zwei Trennläufen mit nur einem Puffersystem und einer Säule unter Basislinientrennung der Peaks aufgetrennt. Zusätzlich konnten erstmalig alle 9 kommerziell erhältlichen  $\Delta$ -Disaccharide der GAGs HA, CS und DS nach Markierung mit einem Fluorophor in einem singulären HPLC-Lauf aufgetrennt werden. Weiterhin konnten die benötigten Zeiträume für den Trennlauf der

$\Delta$ -Disaccharide von HA, CS und DS sowie den Trennlauf der  $\Delta$ -Disaccharide von HS und H in Relation zu allen vergleichbaren Literaturmethoden deutlich verkürzt werden.

Die Isolierung und Analyse von GAGs aus Blutzellen erfolgte zur Erstcharakterisierung und zur Untersuchung der Eignung bestimmter Blutzellen als Probenmaterial für die GAG-Analytik. Um Thrombozyten und Granulozyten mit hoher Reinheit und Zellzahl aus dem Vollblut von Blutspendern zu isolieren, wurden optimierte Aufreinigungsmethoden mit Dichtegradientenzentrifugation entwickelt und erfolgreich eingesetzt. Die durchschnittliche Reinheit betrug für die Thrombozytenproben 99,4% und für die Granulozytenproben 98,3%. Es wurde zum ersten Mal der Normalbereich der GAG  $\square$ -Disaccharide in Thrombozyten und Granulozyten bestimmt. Es erfolgte die Erstcharakterisierung der  $\Delta$ -Disaccharide von GAGs in Granulozyten mit dem Nachweis von  $\Delta$ di-mono4SCS und  $\Delta$ di-0SHA als Hauptkomponenten.

Die GAG  $\Delta$ -Disaccharide von 22 verschiedenen, humanen Zellkulturzelllinien wurden zur Erstcharakterisierung und zu Vergleichen zwischen Zelllinien verschiedener Gewebetypen analysiert. Es wurde ein signifikant verminderter GAG-Gehalt in den 5 untersuchten Suspensionszelllinien (Blastome, hämatologische Tumorzelllinien) im Vergleich zu den 17 adhärenten Zelllinien (Karzinome, Sarkome, Fibroblasten) vorgefunden ( $p = 0,03$ ). Dabei waren insbesondere die Werte für die GAGs HS/H in Suspensionszellen erniedrigt. Des

Weiteren zeigte sich in Suspensionszelllinien für das Δ-Disaccharid Δdi-0SHS ein signifikant erniedrigter ( $p = 0,006$ ) und für Δdi-di(6,N)SHS ein signifikant erhöhter ( $p = 0,0002$ ) prozentualer Anteil an der Komposition von HS/H im Vergleich zu den adhärenten Zelllinien. Die Δ-Disaccharide Δdi-mono6SHS und Δdi-di(2,N)SHS wurden ausschließlich in den adhärenten Zelllinien detektiert.

Zur Untersuchung eines möglichen Einflusses von Polymorphismen der Xylosyltransferase (*XYLT*)-Gene auf die GAG-Konzentration und GAG-Komposition im Serum wurden 223 Blutspender auf 3 Polymorphismen in *XYLT1* und *XYLT2* untersucht, die jeweils mit einer

Aminosäure-Substitution einhergehen. Bei 23 Proben mit einem der drei Polymorphismen und 25 Kontrollproben erfolgte die Analyse der GAG Δ-Disaccharide im Serum. Dabei zeigte sich eine signifikante Assoziation ( $p < 0,01$ ) zwischen dem Polymorphismus *XYLT1* Exon 1 c.343G>T und erniedrigten Werten für die GAG-Konzentration im Serum im Vergleich zum Wildtyp.

#### **Anschrift des Verfassers:**

Dr. rer. nat. Michael Ambrosius, Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin, Herz- und Diabeteszentrum NRW, Georgstr. 11, D-32545 Bad Oeynhausen.

## **Rekombinante Expression von humanen Xylosyltransferasen in der methylotrophen Hefe *Pichia pastoris* und in dem Bakterium *Escherichia coli***

Promotion (Dr. rer. nat.) aus dem Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin (Direktor: Prof. Dr. med. K. Kleesiek), Herz- und Diabeteszentrum Nordrhein-Westfalen, Universitätsklinik der Ruhr-Universität Bochum, vorgelegt an der Fakultät für Chemie der Universität Bielefeld

*Javier Carrera Casanova, Bad Oeynhausen*

#### **Zusammenfassung**

Die UDP-D-Xylose: Proteoglykan-Core-Protein β-D-Xylosyltransferase (XylT) initiiert die Biosynthese von Glykosaminoglykan-Seitenketten in Proteoglykanen durch den Transfer der Xylose von UDP-Xylose auf spezifische Serinreste eines Core-Proteins. Die Xylosyltransferase II (XylT-II) stellt ein XylT-I-paraloges Protein dar, dessen enzymatische Aktivität erst vor kurzem bestätigt werden konnte.

Im Rahmen der Arbeit wurde die vermeintliche katalytische Domäne der XylT-II erstmals in der methylotrophen Hefe *Pichia pastoris* heterolog als lösliches, funktionelles Protein produziert und biochemisch charakterisiert. Es wurde die Substratspezifität für diverse potentielle Akzeptoren untersucht und ein modifiziertes Bikunin-Peptid als optimaler XylT II Akzeptor ( $K_m$  1,9 μM) bestimmt. Die Core-Protein/Zucker-Konfiguration, der Einfluss von Nukleotid-Derivaten, das Temperaturoptimum, die Stabilität, die Monofunktionalität und die Ionenabhängigkeit wurden untersucht und dabei u.

a. die Notwendigkeit für bivalente  $Mg^{2+}$ - und  $Mn^{2+}$ -Ionen für die enzymatische Aktivität ermittelt. Es wurde weiterhin eine Inhibition der XylT-II durch Stoffwechselweg-Endprodukte, vornehmlich durch Heparin festgestellt und eine Einflussnahme basischer Proteine wie Histone und Protamine eruiert.

Die XylT-II konnte aus 40 Liter *P. pastoris*-Kulturrüberstand durch eine Kombination von Ammoniumsulfat-Fällung, Heparin-Affinitätschromatographie und Ionenaustausch-Chromatographie aufgereinigt werden. Bei einer Gesamtausbeute von 3 % wurde hierbei über eine 7000fache Aufreinigung des Enzyms erreicht und das Produkt massenspektrometrisch als XylT-II identifiziert. Als weiteres Projekt sollte die Heparin-bindende Aminosäuresequenz der XylT-II identifiziert werden. Voraussetzung dafür war die Herstellung einer ausreichenden Menge an gereinigtem Protein.

Aufgrund der strukturunabhängigen Bindung von XylT-I an Heparin wurden in *E. coli* u. a. lösliche XylT-II-Fragmente als Fusionsproteine mit einem MBP-Affinitäts-Tag (Maltose-Bind-Protein) produziert, gereinigt und anschließend deren Heparin-Bindung analysiert. Dabei wurde immunologisch festgestellt, dass zwar eine Bindung verschiedener XylT-II-Fragmente vorhanden war, allerdings konnte wegen des nicht für *E. coli* optimierten Codon-Gebrauchs in der humanen XylT-II mRNA keine ausreichende Menge für die weiteren Analysen hergestellt werden.

#### **Anschrift des Verfassers:**

Dr. rer. nat. Javier Carrera Casanova, Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin, Herz- und Diabeteszentrum NRW, Georgstr. 11, D-32545 Bad Oeynhausen

## **Diagnostik und bakterielle Pathomechanismen in der infektiösen Endokarditis**

Promotion (Dr. rer. nat.) aus dem Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin (Direktor Prof. Dr. med. K. Kleesiek), Herz- und Diabeteszentrum Nordrhein-Westfalen, Universitätsklinik der Ruhr-Universität Bochum, vorgelegt an der Fakultät für Chemie der Universität Bielefeld

*Tanja Vollmer, Bad Oeynhausen*

Die infektiöse Endokarditis (IE) ist eine durch Mikroorganismen hervorgerufene Entzündung des Endokards, die sich durch eine hohe Mortalität und Morbidität auszeichnet. Der Nachweis und die Identifizierung des kausativen Agens stellt eine der größten Herausforderungen in der IE-Diagnostik dar. Die bestehenden Limitierungen kultureller Nachweismethoden erfordern die Entwicklung und Validierung kulturunabhängiger Methoden.

Im Rahmen dieser Dissertation wurden *real-time* PCR-Systeme für den sensitiven molekulargenetischen Nachweis von Bakterien, Pilzen und Mykoplasmen in exzisiertem Herzklappengewebe und Blut von IE-Patienten entwickelt und optimiert. Ferner erfolgte die Etablierung eines speziellen Nukleinsäureextraktionsverfahrens für die spezifische Isolierung von mikrobieller DNA aus großen Blutvolumina für den molekulargenetischen Patho-

gennachweis in Blut. Die neu entwickelten Methoden konnten erfolgreich in IE-Patientenkollektiven angewendet werden.

Neben der Detektion der auslösenden Pathogene kann auch die Bestimmung inflammatorischer Parameter zu der Diagnose IE beitragen und Informationen über den Krankheitsverlauf aufzeigen. In diesem Zusammenhang wurde ergänzend zu der Entwicklung eines molekulargenetischen Pathogennachweises im Blut die diagnostische Aussagekraft der inflammatorischen Parameter C-reaktives Protein (CRP), Procalcitonin, Leukozytentzahl, Interleukin-6 (IL-6), Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP) und HLA-DR in einem IE-Patientenkollektiv analysiert. Es konnte bei dem Vergleich der sechs verschiedenen Parametern eine gute Anwendbarkeit für die beiden inflammatorischen Marker CRP und IL-6 in der IE-Diagnostik nachgewiesen werden. Ferner wurde in dieser Arbeit erstmals die Verwendung des LBP in der Endokarditisdiagnostik durch den Vergleich der Serumwerte von IE-Patienten und Patienten mit nicht-infektiösen Herzklappendefekten, sowohl untereinander als auch mit gesunden Probanden, untersucht. Das LBP zeigte eine dem CRP vergleichbar gute Sensitivität und Spezifität in der Diagnostik der IE und bei der Überwachung des Therapieerfolges. In diesem Zusammenhang konnte allerdings erstmals gezeigt werden, dass das LBP in einer Gruppe von IE-Patienten dem CRP in der Früherkennung einer neuen septischen Krise überlegen ist.

Aufgrund der hohen Diversität der individuellen LBP-Konzentrationen wurden selektive Sequenzvariationen im LBP-Gen bei IE-Patienten und gesunden Kontrollprobanden untersucht. Die Polymorphismen c.-1978C>T, c.-836T>C und c.1306C>T zeigten keinen Unterschied in der Häufigkeitsverteilung, wohingegen für die Polymorphismen c.291C>T und c.613A>G eine Assoziation mit der IE hergestellt werden konnte. Eine Korrelation zu den LBP-Serumkonzentrationen war jedoch nicht möglich.

Abgesehen von der Identifizierung des auslösenden Erregers, gefolgt von der Einleitung einer adäquaten antibiotischen Therapie, kann auch das Verständnis bakterieller Pathomechanismen in der Entstehung einer IE mögliche Ansatzpunkte für neue, ergänzende Therapieansätze eröffnen. Die häufigsten IE-Erreger aus der Gattung *Streptococcus* sind Streptokokken der Viridans-Gruppe. Im Herz- und Diabeteszentrum NRW sind in den letzten fünf Jahren allerdings signifikante Fallzahlen mit *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* Endokarditiden diagnostiziert worden. *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus*, ein Mitglied des *S. bovis/S. equinus*-Komplexes, gehört im Allgemeinen zu den selteneren Endokarditisserregern und bislang ist relativ wenig über potenzielle Virulenzfaktoren und die Pathomechanismen dieses Endokarditisserregers bekannt. Infolgedessen wurden im letzten Teil dieser Arbeit die Pathomechanismen in der durch *S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus* hervorgerufenen IE analysiert. Es konnte erstmals gezeigt werden, dass verschiedene *S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus* Stämme ein unterschiedliches Potential der Adhäsion und Invasion an humane endotheliale Zellen aufweisen. Außerdem wurden *in vitro* deutliche Divergenzen bei der Bindung dieses Erregers an Proteine der extrazellulären Matrix sowie bei der Fähigkeit zur Bildung von Biofilmen beobachtet. Eine Korrelation mit dem Adhäsions- und Invasionspotential konnte jedoch nicht gezeigt werden. Ferner wurden die potenziellen Virulenzgene *fimB*, *gtf* und erstmals das vermutlich pilus-assoziierte Gen *pilB* in *S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus* nachgewiesen. Die Anwesenheit der verschiedenen Virulenzgene konnte bislang allerdings nicht mit den getesteten Charakteristika Adhäsion, Invasion und Biofilmbildung korreliert werden.

#### **Anschrift der Verfasserin:**

Dr. rer. nat. Tanja Vollmer, Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin, Georgstr. 11, D-32545 Bad Oeynhausen

E-Mail: [kkleesiek@hdz-nrw.de](mailto:kkleesiek@hdz-nrw.de), [www.hdz-nrw.de](http://www.hdz-nrw.de)

## Buchbesprechung

### **Praxis der Hochleistungs-Flüssigchromatographie (10., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage)**

von Veronika R. Meyer

Wiley-VCH Weinheim 2009, 382 Seiten, ISBN: 978-3-527-32046-2, Preis: ab 59,90 €

„HPLC von A bis Z“ könnte der Titel der jetzt schon 10. Auflage sein. Veronika R. Meyer deckt mit diesem Buch alle Themen der HPLC ab. Dabei gliedert sie 23 Kapitel systematisch durch, beginnt mit einer kleinen Einführung und Erklärung des Prinzips, bevor sie tiefer in die Materie einsteigt, um schließlich mit Anwendungsbeispielen abzuschließen. Für den Leser erleichternd geschieht das mit einer Vielzahl von Illustrationen, Tabellen, Diagrammen (z.B. Mischungskreuz), Berechnungen und Übungsaufgaben. Querverweise und tiefer gehende Literaturquellen werden am entsprechenden Seitenrand angegeben, ebenso kurze Zusammenfassungen.

Die Technik der HPLC ist facettenreich, doch findet man in diesem Buch das gesamte Spektrum der HPLC, über theoretische Grundlagen und Geräteeigenschaften bis zu Qualitäts sicherung und Datenauswertung.

Des weiteren gibt die Autorin gute Praxis-Tipps, wie z.B. Anleitungen zur Regeneration von Säulen oder Beispiele zur Umrechnung von Fließmitteln anhand ihrer Elutionskräfte.

Bei Problemfällen verweist Veronika R. Meyer gerne auf Grundlagen und bietet Lösungen an. Ein eigentliches Trouble-Shooting wird man hier aber nicht finden - dies würde den Rahmen eines Standardwerks auch sprengen.

Die meisten chromatographischen Probleme sind von substanzspezifischer Natur - eine Internetrecherche bleibt dann nicht erspart.

In der 10. Auflage neu hinzugekommen sind u.a. ein Vergleich HPLC/ Kapillarelektrophorese, das Prinzip der HILIC (Hydrophilic-Interaction-Chromatographie) und die Technik der UPLC. Alle Novitäten werden im Vorwort der Autorin und auf dem rückwärtigen Cover aufgelistet, im Buch werden sie allerdings nur grob angerissen. Deshalb kann nach meiner Meinung auf ein „Update“-Kauf verzichtet werden, besitzt man eine ältere Auflage. Obwohl mit „vollständig überarbeitet“ geworben wurde, kann ich beim Querlesen der 9. und 10. Auflage nur marginale Unterschiede entdecken - der Basisteil bleibt unverändert.

Die Vita der Autorin belegt, warum dieses Werk für jeden HPLC-Anwender, vom Laboranten bis zum Laborleiter geeignet ist. Frau Meyer begann als Laborantin, bevor sie Chemie studierte, promovierte und habilitierte.

Zusammenfassend kann ich also sagen, dass sich das Buch meiner Meinung nach hervorragend als praxisorientiertes Standardwerk eignet, es deckt den Kern der HPLC ab und verschafft dem Leser einen guten Überblick über die Technik der HPLC. Nur bei spezifischeren und tiefer gehenden Fragen müssen andere Literaturquellen genutzt werden.

#### **Anschrift des Verfassers:**

Fabian Kirchhoff

PD Dr. med. Michael Vogeser, Institut für Klinische Chemie, Klinikum der Universität München

## 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](mailto:Isensee-Verlag@t-online.de); URL: <http://www.isensee.de>

## Preisausschreibung



### AUSSCHREIBUNG FÜR DEN FELIX-HOPPE-SEYLER-PREIS 2009

Auf der Jahrestagung der DGKL im Oktober 2009 wird der Felix-Hoppe-Seyler-Preis dieses Jahr wieder vom Präsidenten der DGKL verliehen.

Der Preis wird für besondere wissenschaftliche Leistungen und Verdienste auf dem Gebiet der Klinischen Chemie und Laboratoriumsmedizin von der DGKL gestiftet.

Er wird an Einzelpersonen, Gruppen von Einzelpersonen oder Arbeitsgruppen verliehen, die sich in besonderer Weise Verdienste um die Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin erworben haben.

Als preiswürdige Verdienste gelten herausragende Forschungsergebnisse, die Erarbeitung und Umsetzung richtungweisender Konzeptionen oder ein besonderer Einsatz für die Aus-, Weiter- und Fortbildung.

Eine Teilung des Preises ist nicht möglich. Die Dotierung ist in Höhe von 10.00,00 €.

#### Nationale Ausschreibung

Bitte richten Sie Ihre ausführliche Bewerbung bis zum 15.07.2009 an das Präsidium der DGKL unter folgender Anschrift:

#### Geschäftsstelle der DGKL

Im Mühlenbach 52 b  
53127 Bonn

Weitere Informationen zum Felix-Hoppe-Seyler-Preis erhalten Sie auf unserer Homepage unter Preise oder im Mitgliederverzeichnis 2009 der DGKL.

Für weitere Fragen steht Ihnen die Geschäftsstelle Bonn unter 0228/926895-22 gerne zur Verfügung.

## 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-ldw.de

### Mikroskopische Blutzell differenzierung 2009

**Beginn:** Samstag, 28.11.2009, 14.00 Uhr

**Ende:** Sonntag, 29.11.2009, 13.00 Uhr

**Inhalt:** Übungen zur mikroskopische Blutzell differenzierung

**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-ldw.de

## Kongressbericht

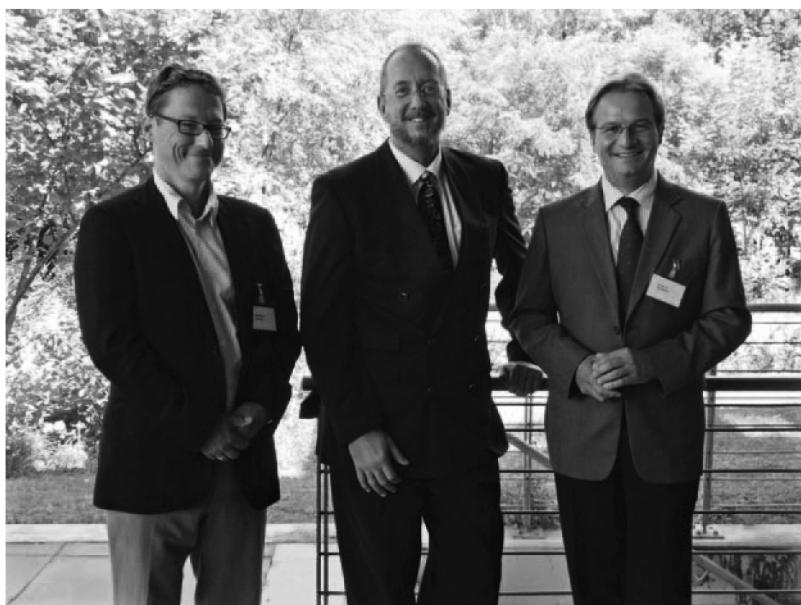
### Laborleitertreffen Brandenburg, Berlin, Mecklenburg-Vorpommern 2009

*K.-G. Heinze, Berlin*

Das diesjährige, siebzehnte, Laborleitertreffen Brandenburg, Berlin, Mecklenburg-Vorpommern fand am 12./13. Juni 2009 unter der wissenschaftlichen Leitung und Organisation von Herrn PD Dr. *Bühling, Cottbus*, Herrn Dr. *Fritz, Schwedt*, sowie Herrn Dr. *K.-G. Heinze, Berlin*, in Potsdam statt; die LÄK Brandenburg honorierte die Veranstaltung mit 11 Fortbildungspunkten.

Herr PD Dr. *Bühling* moderierte die Veranstaltung am ersten Tag und führte kurz in diagnostische Fragestellungen/Probleme aus dem großen, interdisziplinären Gebiet der Endokrinologie ein, welche den Schwerpunkt des ersten Tages bildeten.

Herr Prof. *Schleicher, Tübingen*, reflektierte „**Neues in der Diabetesdiagnostik**“. Im Fokus seines Vortrags stand der Typ 2 Diabetes, bei dem die gestörte Insulinwirkung über den in der Zwischenzeit molekular gut charakterisierten gewebsständigen Insulinrezeptor eine entscheidende Rolle spielt. Die Insulintransduktionskette und ihre Störungen auf molekularer Ebene stellen aktuelle Forschungsgegenstände dar, welche die Ursache der gestörten Insulinwirkung erklären sollen. Neben den bekannten metabolischen und mitogenen Wirkungen bildet Insulin z. B. für die  $\beta$ -Zellen einen „survival“-Faktor und entfaltet darüber hinaus vielfältige, bisher wenig beachtete Wirkungen am



Herr PD Dr. *Bühling* (links), Herr Dr. *Fritz* (rechts) und Herr Dr. *Heinze* (mitte)

Gehirn. Aller Neuerungen zum Trotz kam ein schon lange bekannter und fest etablierter Parameter wieder ins Gespräch: das HbA1c. Beim Versuch, die weltweit unterschiedlichen Analysenmethoden zu harmonisieren, wurde durch eine von der IFCC beauftragte Forschergruppe eine anerkannte Referenzmethode evaluiert und etabliert. Die Referenzmethode basiert auf der enzymatischen Abspaltung des N-terminalen Hexapeptids der  $\beta$ -Kette des Hämoglobins durch die Endoprotease Glu-C und anschließende massenspektrometrische Bestimmung des Verhältnisses glykiertes versus nicht-glykiertes Hexapeptid. Das neue IFCC-Referenzsystem für HbA1c stellt aktuell den einzigen vakkidien Anker für die weltweite Standardisierung dar. Künftig sollen die HbA1c-Ergebnisse in mmol/mol bzw. Einheiten, die sich aus einer so genannten „Mastergleichung“ aus den bisher verwendeten Einheiten in % errechnen, dargestellt werden.

Herr Prof. Spranger, Berlin, zeigte die Wichtigkeit einfacher diagnostischer Methoden wie der klassischen Blutdruckmessung und des klinischen Blicks (z. B. eindeutige körperliche Zeichen beim Morbus Cushing) sowie der Anamnese (krisenhafte Blutdruckanstiege beim Phäochromozytom) in seinem Vortrag „**Differentialdiagnostik endokriner Hypertonien**“. Die Frage, woher die „in Stein gemauerte“ Grenze eines Blutdrucks von 140/90 mm Hg überhaupt stamme bzw. ableiten ließe, blieb offen. Nach dieser Definition befinden sich fast 25.000.000 Deutsche im Bereich der Hypertonie. Diese hohe Zahl relativierte die häufig vertretende Meinung, dass man ja ohnehin bei den meisten Hypertonien „nichts finde“ und deshalb auch nicht spezielle Diagnostik betreiben müsse: das Conn-Syndrom liegt in ca. 10% der Hypertonien vor, was einer absoluten Zahl Erkrankter von über 2 Millionen in Deutschland entspricht, - und selbst das oft als absolute Rarität verkannte Phäochromozytom liegt in ca. 0.5% der Hypertonien vor, was immer noch 125.000 Patienten bedeutet. Die exakte Diagnose beider Erkrankungen ist ent-

scheidend für die optimale Therapie: ca. 30% der Conn-Patienten sind durch operative Entfernung der meist unilateralen Adenome heilbar, der Rest („idiopathisches Conn-Syndrom“) sind durch Aldosteron-Antagonisten meist gut zu führen. Auch beim Phäochromozytom ist die operative Entfernung nach entsprechender Lokalisationsdiagnostik die Therapie der Wahl. Beim Conn-Syndrom steht die Messung der Aldosteron- sowie Renin-Konzentration (Aldosteron/Renin-Quotient im Plasma) im Vordergrund; Messungen der Aktivitäten sind aufgrund präanalytischer Faktoren in den Hintergrund getreten. Als Bestätigungstest kann immer noch der so genannte Kochsalz-Belastungstest eingesetzt werden. Beim Phäochromozytom setzen sich aufgrund guter Sensitivität und Spezifität die Messung der freien Plasma-Metanephrine/Katecholamine sowie der fraktionierten Metanephrine/Katecholamine im 24 Stunden Urin durch. Ein Clonidin-Test und/oder die Bestimmung von Chromogranin A können als weitere Diagnostik bei unklaren Werten dienen. Generell sollten Antihypertensiva ca. 1 Woche vor der Diagnostik abgesetzt werden (Spironolacton: 4 Wochen), aber auch trizyklische Antidepressiva, Anti-Parkinson-Mittel und viele weitere Medikamente sind zu beachten. Thiazid-Diuretika und/oder Ca-Antagonisten sind jedoch weitgehend unbedenklich.

Mit „**Ausgewählte Laborparameter in der Reproduktionsmedizin – ein update**“, berichtete Herr Dr. Stoll, Berlin, aus seiner Praxis für Endokrinologie und Reproduktionsmedizin. Das „drei Phasen Modell“ der Kinderwunschsprechstunde mit Kontaktaufnahme/Erstgespräch, der eigentlichen Diagnostikphase und Strategieplanung bis hin zur Therapie/Erfolgskontrolle ist die Basis der Reproduktionsmedizin und schließt Mann und Frau mit ein. Neben dem psychischen und physischen Druck kommt auf die Patienten oft noch eine erhebliche finanzielle Belastung zu. Je nach Versicherungstyp und Krankenkasse werden die Kosten unterschiedlich erstattet: viele

PKVen zählen nur dann, wenn die Schwangerschaftswahrscheinlichkeit bei > 15% liegt. Neben den Erfolgsdaten der Praxis können dann verschiedene Parameter abgefordert werden. Zur Basisdiagnostik gehören nach wie vor die „klassischen gynäkologischen“ Hormone wie das LH, FSH, Estradiol sowie Progesteron; darüber hinaus werden auch die Androgene, TSH und Prolaktin bestimmt. Die „Fruchtbarkeits-Reserve“ der Frau kann weiterhin über die Zahl der Primordialfollikel in der Sonografie erfasst und über das Anti-Müller Hormon, Inhibin B (aus Granulosazellen des Ovars mit Einfluss auf die FSH Sekretion der Hypophyse) oder den Clomifen-Challenge Test weiter beschrieben werden. Künftig werden neben dem HOMA-Index (Erfassung einer Insulin Resistenz durch Messung von Insulin- und Glukose-Spiegeln) evtl. auch Messungen der Anti-Ovar-Antikörper sowie des DNA-Fragmentationsindex (DNA-Strangbruch-Index der Spermien) bzw. SCSA (Sperm Chromatin Structure Assays) Bedeutung erlangen. Die sog. „PICS“-Methode, bei der das *in vitro* Verhalten von Spermien mit Hyaluronsäure geprüft wird, ist eine empfehlenswerte Variante des intracytoplasmatischen Spermientransfers „ICSI“. In der Diskussion wies Herr Stoll auf eine individuell variable Grenze bzgl. der Kinderwunschbehandlung von ca. 45 Jahren bei der Frau hin; gleichzeitig erging aber auch die Bitte an die Labormedizin, auf automatisierte Kommentare wie „Schwangerschaft nicht möglich“ oder „unwahrscheinlich“ u. ä. zu verzichten, da das aus einzelnen Werten meist nicht ableitbar sei, für die Patienten verunsichernd/belastend wäre und bei Krankenkassen zur sofortigen Ablehnung jeglicher Kostenübernahme führen könne.

Herr Dr. Verloren, Berlin, stellte in seinem Beitrag „**Präeklampsie – eine Multisystemerkrankung in der Schwangerschaft**“ neben klinischen Aspekten auch etablierte sowie sich als Routine anbahnende Diagnostik der Präeklampsie vor. Die Präeklampsie kann vereinfacht als neu auftretender Hypertonus nach der 20. Schwangerschaftswoche mit Proteinurie (> 300 mg/Tag) beschrieben werden; die

schwere Form geht mit Oligurie, Blutdruckwerten > 170/110 mm Hg und einer Proteinurie > 5 g/Tag einher, Ödeme sind neuerdings nicht mehr in der Definition enthalten. Weltweit sind ca. 2 – 8% aller Schwangerschaften mit einer Präeklampsie assoziiert, wobei die schweren Komplikationen wie das HELLP-Syndrom oder die Eklampsie mit einem hohen Risiko für Mutter und Kind einhergehen. Auch wenn einige pathogenetische Mechanismen schon bekannt sind, ist die eigentliche Ätiologie der Präeklampsie noch unklar. Ziel der Therapie ist vor allem, neben dem Schutz des Lebens der Mutter, auch die Überlebenschancen des Kindes zu erhöhen und das Risiko von Folgeschäden zu minimieren. Hierfür wird versucht, die Schwangerschaft möglichst lange zu erhalten, da generell Kinder vor der 25 SSW eine sehr schlechte und Kinder nach der 30 SSW gute Prognosen aufweisen. Um hier frühzeitig eingreifen zu können, ist das Wissen um spezielle Risikofaktoren (z. B. die schon einmal durchlaufene Präeklampsie/Eklampsie in einer Vorschwangerschaft, ein Antiphospholipid-Syndrom und/oder Lupus-Antikoagulanzien) oder auch ein Ultraschall der arteria uterina bereits in der 20 – 24 SSW notwendig. Als neuere Risikomarker für die Präeklampsie sind zahlreiche Proteine im Gespräch, die mit dem Wachstum und der Funktion von Blutgefäßen in Verbindung stehen. Als sehr aussichtsreiche Kandidaten für die Routinediagnostik stellen sich das Endoglin sowie die soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) und der PLGF (placental growth factor) dar. Weitere Proteine wie der vascular endothelial growth factor, das pentraxin 3, das placental protein 13 oder auch das PAPP-A werden auch bzgl. ihrer Wertigkeit im Rahmen der Präeklampsiediagnostik geprüft. Den kritischen Bemerkungen aus dem Auditorium, in wieweit diese Marker, vor allem sFlt1 und PLGF, wirklich schon Therapieentscheidungen beeinflussen können und ob ein Nutzen gar schon „evidenz-based“ gesichert sei, hielt Herr Verloren seine positiven Erfahrungen sowie theoretische Überlegungen bzgl. der Wertigkeit einer Früherkennung der Prä-

eklampsie für die Gesundheit von Mutter und Kind entgegen.

Frau S. Döhring, Kleinmachnow, diskutierte „aktuelle Fragen und Probleme bei der Umsetzung der neuen RiliBÄK“. In diesem Zusammenhang brachte sie Beispiele für die Aussagen „das Labor muss unter fachlich qualifizierter Leitung stehen“; wer ist fachlich qualifiziert, für welche Fragestellungen ist er es, was ist noch Auslegungssache, was ist gesetzlich vorgeschrieben? Direkt kontrovers diskutiert wurde zwischen den Teilnehmern und den Vertretern des Eichamts das Problem, dass ein Labor nach RiliBÄK kein nur technisch validiertes Messergebnis (ohne medizinische Validierung) an den Einsender übergeben darf. Der Hinweis, dass dieses schon aus Personalgründen gängige Praxis sei, wurde dadurch ergänzt, dass selbst im Bereich der Akkreditierung/Zertifizierung von den entsprechenden Stellen Verfahren anerkannt seien, bei denen bspw. laborärztliche Kompetenz in Algorithmen geflossen sei, die zur Freigabe, dem Zurückhalten oder der Überprüfung durch die MTLA vor Ort auch in Zeiten der Abwesenheit eines Laborarztes das Übermitteln des Messergebnisses erlauben würden. Auch bzgl. der externen Qualitätssicherung können für Krankenhäuser bzgl. des POCT Probleme erwachsen, da die Entbindung von der Teilnahmeplicht an Ringversuchen u. a. nur dann gilt, wenn das Labor die Messgröße auch selbst bestimmt: nicht alle Labore setzen aber bspw. Vollblut zur Bluglukoseanalytik ein, was aber durch die Stationen geschieht. Theoretisch entfällt dann die Freistellung von den Ringversuchen. Als Lösungsvorschlag wurde dann der Austausch des Begriffs „Messgröße“ durch „Analyt“ bzw. das Streichen des Nachsatzes „die Messgröße auch selbst bestimmt“ vorgeschlagen. Viele Probleme werden sicher erst in Kooperation mit den Überwachungsbehörden nach genereller Einführung der neuen RiliBÄK zu finden bzw. auch zu lösen sein.

Den zweiten Tag eröffnete Herr Dr. Heinze mit seiner kurzen Einführung in ein mehr „gemischtes“ Programm, welches sich von der

Hämostaseologie, dem POCT, juristischen Fragestellungen bis zu Konzentrationsbewegungen auf dem Laborsektor erstreckte.

Herr Dr. Lang, Hohne, führte mit „**Von Willebrand Syndrom – von der Basis- zur Spezialdiagnostik. Was ist wie schnell notwendig?**“ in ein komplexes Gebiet der Blutungsübel ein. Vom historischen Werdegang („Nassenbluterinsel“), wo man die ersten Anhaltspunkte für ein Blutungsleiden fand, das auch den weiblichen Teil der Bevölkerung erfasste, über die Bildung im Endothel und den Megakaryozyten sowie Reifungsvorgängen des P-selectin-gebundenen vWF durch die vWF-spaltenden Protease ADAMTS13 bis zur Entfaltung an Fremoberflächen und Bindung u. a. an Rezeptoren des Thrombozyten stellte Herr Lang Grundsätzliches zum vWF vor. Durch die Darstellung der Typeneinteilung (Typ I, II und III; mit entsprechenden Untergruppen), der Differentialdiagnose zwischen erworbenem und angeboreinem vWF sowie den für die Routine zur Verfügung stehenden Testen ergänzte er seine Präsentation. In der Diagnostik spielt vor allem die gute Anamnese die zentrale Rolle (u. a. Geschlechtsverteilung, wohin, wobei blutet es wie stark?); von labordiagnostischer Seite sind dann relativ weit verbreitete Systeme wie der PFA100®, die vWF-Ag-Bestimmung und die Ristocetin-Kofaktor Aktivität sicher in der ersten Linie zu sehen. Die vWF Kollagenbindungsaktivität, die Ristocetin-induzierte Plättchenaggregation, die Multimeranalyse, die Messung der ADAMTS13 Aktivität oder die Quantifizierung des vWF-Ag II Propeptids sind eher bei speziellen Laboratorien angesiedelt und für die Akutdiagnostik nur bedingt geeignet. In Abhängigkeit von der Lokalisation, der Schwere der Blutung sowie des vorliegenden Typs des von Willebrand Syndroms können die therapeutischen Maßnahmen über lokale Kompression in Kombination mit Antifibrinolytika (z. B. auch als Mundspülung beim Zahnarzt), über DDAVP (Minirin®)-Gabe bis zum Ersatz mit vWF-haltigen Präparaten reichen. Der Minirin-Test wurde zur Prüfung der Wirksamkeit einer systemischen Therpieoption als durchaus empfehlenswert und speziell bei

planbaren Operationen als sinnvoll eingeschätzt.

Herr Prof. Nauck, Greifswald, hatte die schwierige Aufgabe übernommen, die Frage „**Welche Faktoren stellen eine hohe Qualität im POCT-Bereich sicher?**“, zu beantworten. Als spezielle Bremsklötze stellte er die Trias aus Unwissenheit, Unwollen und Kosten in den Vordergrund. Nach der Feststellung, dass sich bzgl. des POCT einiges ändern müsse bis zur Etablierung des eigenen POCT-Managers im Verantwortungsbereich des Zentrallaboratoriums dauerte es in Greifswald immerhin 3 Jahre! .... und das nur für die feste Verankerung der Blutglukoseanalytik – andere Bereiche wie Blutgasanalytik oder gar noch speziellere POCT wie D-Dimere, Troponin außerhalb des Zentrallabors sind noch gar nicht erfasst. Auch der eingesetzte Personalaufwand war überaus eindrucksvoll und sicher nicht von jedem der Teilnehmer zu leisten: 1 MTLA in Vollzeit (plus Vertretung), 2 Wissenschaftler, 2 EDV-Mitarbeiter und die Medizintechnik waren (zumindest in Teilzeit) mit dem Projekt betraut; in der Anfangsphase wurde es auch eng durch Herrn Prof. Nauck selbst betreut und koordiniert. Das Klinikpersonal wurde nach Schaffung der organisatorischen Strukturen (Roche Datacare-Server, Anbindung aller Stationen bzw. Anforderer, neue EDV-fähige Blutglukose-Stixgeräte (deutlich unhandlicher als die „stand-alone“ Selbstkontrollgeräte) in 5er-Gruppen für jeweils 60 Minuten geschult, wobei eine Auffrischung nach spätestens 3 Jahren festgeschrieben wurde. Auch wenn ein riesiger Aufwand für die Schaffung einer hohen Qualität im POCT-Bereich an verschiedenen Stellen notwendig war, schätzte der Referent die Schulung (incl. der Schaffung einer Akzeptanz des neuen Systems) des Personals als vermutlich den zentralen Punkt ein. Das nun nach gut drei Jahren andere Systeme und auch die Weiterentwicklung des Datacare-Projekts wieder mit brauchbaren Neuerungen aufzuwarten haben, ist Gang der Dinge: irgendwann muss man anfangen - dass danach die Entwicklung nicht stehen bleibt, dürfe einen nicht entmutigen.

Nach einer gekürzten Kaffeepause und einleitenden, kritischen Bemerkungen von Herrn Dr. Heinze, dass es offenbar heute keinem Arzt mehr möglich sei, eine Pille ohne die entsprechende Leitlinie zu verschreiben, konnte Herr Rechtsanwalt Dr. Hasskarl, Ludwigshafen, die ärztlichen Teilnehmer etwas beruhigen: zumindest einige Restbestände der ärztlichen Freiheit gebe es auch heute noch! Sein Vortrag über „**Gesetze, Satzungen, Richtlinien, Leitlinien, Empfehlungen – ihre Verbindlichkeit in der Medizin**“ stellte klar die Verbindlichkeiten der dort jeweils beschriebenen Sachverhalte für die betreffenden Personenkreise (hier fokussiert auf die Ärzteschaft) dar. Darüber hinaus gebe es durchaus noch diskussionswürdige Vorgehensweisen einzelner Stellen, die nicht das Prinzip beachteten, dass Rechtsverordnungen, die von der Exekutive aufgestellt werden, ihre Basis in der Legislative haben müssen. So hat die Bundesärztekammer per se keine Befugnis, Rechtsverordnungen mit Gesetzescharakter zu erstellen. Als weiteres Beispiel wurden die Leitlinien genannt; diese stellen Entscheidungshilfen von Ärzten für Ärzte dar und sind rechtlich nicht bindend, haben also weder haftungsbefreiende noch haftungsbegründende Wirkung. Als Arzt sei man verpflichtet, sie zu kennen und zu würdigen - nicht jedoch gezwungen, sie zu befolgen. Herr Dr. Hasskarl warnte aber davor, die in Deutschland herrschenden Begrifflichkeiten auf Europäisches Recht zu übertragen: dort getroffene Verordnungen (regulations), Richtlinien (directives) oder Empfehlungen (recommendations) haben durchaus anderen Charakter als im deutschen Sprachgebrauch. So sind bspw. die regulations unmittelbar bindend für alle Bürger der 27 EU Mitgliedsstaaten, während die directives die Mitwirkung der jeweiligen Staaten brauchen, diese in dann bindendes innerstaatliches/nationales Recht umzusetzen. Er schloss mit einigen Bemerkungen zum off-label use von Arzneimitteln, was für den Arzt in begründeten Fällen durchaus erlaubt und rechtlich grundsätzlich zulässig ist. Die sorgfältige Auf-

klärung, Einwilligung und Dokumentation des Vorgangs seien aber essentielle Punkte.

Den letzten Vortrag des Tages hielt Prof. Patscheke, Karlsruhe: „**Zentrenbildung im Labor: wie und wozu?**“. Generell setzen Überlegungen zur Zentrenbildung den Willen aller Beteiligten voraus, auch tatsächlich zu kooperieren. Schon der Begriff „Kooperation“ wird durchaus unterschiedlich verstanden, was leicht zu Verärgerungen und Blockaden führt. Zwei grundsätzliche Möglichkeiten zur Erhöhung der Wettbewerbstauglichkeit bestehen für Krankenhauslabore: die Bildung größerer Verbünde ähnlicher Labore an mehreren Standorten und/oder die Bildung von fachgebietsübergreifenden Laborzentren an einem oder mehreren Standorten. Als strategische Ziele können hierbei der Aufbau eines Kompetenzzentrums für fachtypische Fragestellungen sowie Kosteneinsparungen durch gemeinsamen Einkauf, schlankere Verwaltungsstrukturen, einheitliches Controlling, Geräte- und EDV-Vereinheitlichung erreicht werden. Auch dem Aufbau und exakten Steuerung einer POCT-Struktur ist Beachtung zu schenken. Netzwerkbildungen (Einkauf, Transport), strategische Allianzen (Arbeitsteilung mit Stärkung der einzelnen Kompetenzen) sowie echte joint ventures (Fusion unter einem gemeinsamen Träger) stellen mögliche Varianten der Kooperation dar. Ein Hauptproblem liegt in der Kosten-/Erlösverrechnung sowie der Angst vor Macht- bzw. Imageverlust der handelnden Laborleiter. Offenbar ist man nur selten bereit, einen Verantwortungsbereich freiwillig mit dem anderer zu vereinen, auch wenn die Teilhabe

am Ganzen nicht in Frage steht; zu groß seien die Ängste vor Rechtfertigungszwängen, Transparenzsteigerung und möglicher Überverteilung. Häufig muss der Prozess durch eine übergeordnete Führungsebene erzwungen werden, damit seine Realisierung überhaupt in Gang kommt; das kann allerdings langfristig nicht im Interesse der Laborleiter sein, die aus eigener Initiative versuchen sollten, ihre Einrichtungen von reinen „Cost-Centern“ zu „Profit-Centern“ zu entwickeln.

In einem kurzen Schlusswort dankte Herr Dr. Heinze im Namen der wissenschaftlichen Leiter den über 70 Gästen für ihr Interesse, den Vortragenden für ihre Mühe und nicht zuletzt auch den Sponsoren, BD Preanalytical Systems - und hier allen voran Frau E. Rothermel, die in bewährter Weise den reibungslosen Ablauf der Veranstaltung sicherstellte - sowie Roche Diagnostics und Siemens Medical Solutions Diagnostics für ihre Unterstützung.

Er bat alle Anwesenden um die Bewertung der Veranstaltung, der Organisation incl. der Unterbringung, um Themenvorschläge sowie weitere Anregungen, damit das Laborleitertreffen Brandenburg, Berlin, Mecklenburg-Vorpommern auch für die nächsten Jahre einen festen Platz in den Terminkalendern finden kann.

#### **Anschrift des Verfassers:**

Dr. Med. Klaus-Günter Heinze, Martin-Luther-Krankenhaus, Zentrallaboratorium, Caspar-Theyß-Str. 27-31, D-14193 Berlin.

## Positionen



Das Referenzinstitut für Bioanalytik (RfB) ist eine Referenzinstitution zur Qualitätssicherung im medizinischen Laboratorium. Träger des RfB ist die Deutsche Vereinte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V. (DGKL). Das RfB führt Ringversuche zur externen Qualitätskontrolle durch und entwickelt und betreibt zu diesem Zweck mehrere Inhouse-Datenbanken sowie eigene Websites.

Da die Anforderungen an unser EDV-System ständig steigen, suchen wir für unsere EDV-Abteilung eine/n

### Informatiker/in

als Stellvertretende/n EDV-Leiter/in

#### Ihre Aufgaben

- Entwicklung und Betrieb der Inhouse-Datenbanksysteme
- Entwicklung und Betrieb der Internetanwendungen
- Verwaltung der Netzwerk- u. Serverumgebung
- Anwenderunterstützung

#### Ihre Qualifikation

- Abgeschlossenes Studium (Uni, FH, BA) oder eine vergleichbare Ausbildung
- Erfahrungen im Aufbau und Betrieb von Datenbanken und Internet-Anwendungen
- Profunde Kenntnisse gängiger Bürossoftware

Außerdem:

- Analytisches und konzeptionelles Denken
- Zuverlässige und selbstständige Arbeitsweise
- Hohe Auffassungsgabe und Leistungsbereitschaft
- Team- und Kommunikationsfähigkeit
- gute Englischkenntnisse in Wort und Schrift

Die EDV-Landschaft des RfB besteht sowohl auf Server- als auch auf Clientseite i. w. aus Rechnern der *Apple*-Welt, Datenbankentwicklungssystem ist *4th Dimension*. Kenntnisse dieser Entwicklungswerzeuge sowie des medizinischen Umfelds wären wünschenswert.

Wenn Sie diese abwechslungsreiche und verantwortungsvolle Aufgabe sowie das Arbeiten in einem kleinen hochmotivierten Team reizt, freuen wir uns auf Ihre aussagekräftigen Bewerbungsunterlagen. Bitte richten Sie Ihre Bewerbung unter Angabe Ihrer Gehaltsvorstellung und Ihres frühestmöglichen Eintrittstermins, vorzugsweise per email ([info@dgkl-rfb.de](mailto:info@dgkl-rfb.de)), an:

**Referenzinstitut für Bioanalytik, Im Mühlenbach 52 A, 53127 Bonn**



Als modernes Krankenhaus der Maximalversorgung zählen wir zu den führenden Universitätskliniken Deutschlands. Unsere 3.000 Beschäftigten bieten in mehr als 70 leistungsstarken Kliniken, Fachzentren und Instituten eine optimale Patientenversorgung und eine professionelle Aus-, Fort- und Weiterbildung. Mit über 1.200 Betten sind wir eines der größten Krankenhäuser der Region. Unsere internationale Reputation resultiert aus dem Zusammenspiel von universitärer Hochleistungsmedizin mit der Erfüllung von akademischen Aufgaben in leistungsstarker Forschung und einer modernen Lehre.

Das **Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik** (Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Thiery) sucht zum nächstmöglichen Termin, im Rahmen der Facharztweiterbildung eine/n

## Assistenzarzt/-ärztin

Wir suchen engagierte Assistenzärzte/-innen für die labordiagnostische Krankenversorgung der Universitätsmedizin und besonderem Interesse für die Forschung und Lehre der Klinischen Chemie und Laboratoriumsmedizin. Das mit modernster Technologie ausgestattete Institut versorgt alle Kliniken und Ambulanzen des Universitätsklinikums mit umfangreichen diagnostischen Leistungen auf dem Fachgebiet der Klinischen Chemie und Laboratoriumsmedizin. Eine enge Kooperation mit den Kliniken wird erwartet, um eine medizinisch effiziente Diagnostik für den Patienten zu gewährleisten. Das akkreditierte Institut ist in der ambulanten Versorgung eng mit dem Medizinischen Versorgungszentrum MedVZ Leipzig des Universitätsklinikums verbunden. Das Institut leitet das metabolische NeugeborenenScreening für Sachsen und Thüringen. Es ist in eine Vielzahl internationaler Forschungsprojekte federführend und in Kooperation eingebunden. Interesse an der Stoffwechsel- und Atheroskleroseforschung des Instituts mit Schwerpunkten auf den Feldern der klinisch-epidemiologischen Forschung, der funktionellen Genomanalytik oder der immunologischen und massenspektrometrischen Analytik werden erwartet. In der Lehre setzen wir die 'Bereitschaft zur Teilnahme am Tutorenprogramm der Medizinischen Fakultät (POL)' und hohes Engagement in der labormedizinischen Studentenausbildung voraus. Der Institutedirektor und Lehrstuhlinhaber verfügt über die volle Ermächtigung zur Facharztweiterbildung auf dem Gebiet der Laboratoriumsmedizin für insgesamt 4 Jahre und besitzt die Weiterbildungsermächtigung für den Klinischen Chemiker.

Die Vergütung richtet sich nach dem Manteltarifvertrag für Ärzte des Universitätsklinikums Leipzig AöR.

Schwerbehinderte Bewerber/innen werden bei gleicher Eignung bevorzugt berücksichtigt.

Bitte richten Sie Ihre Bewerbung mit den entsprechenden Unterlagen innerhalb von **zwei Wochen** nach Erscheinen an:

**Universitätsklinikum Leipzig AöR  
Bereich 4 - Personal und Recht  
Stephanstraße 9c, 04103 Leipzig**

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