

## Inhaltsverzeichnis

### Originalarbeit

*Erwin Schleicher, Tübingen*

Neuer Parameter für die Stoffwechseleinstellung: Durchschnittsglucose statt HbA1c?.....63

*Wolfgang Wistuba und Thomas Langmann*

Bedeutung von Darmbarriere, Detoxifikation und Gallensäurestoffwechsel bei Chronisch-Entzündlichen Darmerkrankungen .....68

### Aus dem Mitgliederkreis

*Eduard Samson, Aachen*

HPLC Analytik der B6-Vitamer: Methodenoptimierung und Referenzwerterstellung (Dissertationsschrift – Zusammenfassung) .....74

*Ulrike Schmitz, Freiburg*

Analyse des Kohlenhydrat-defizienten Transferrins im Serum des Menschen mittels Hochleistungs-Flüssigkeitchromatographie (Dissertationsschrift – Zusammenfassung) .....75

*Nadja Geneidy, Wertheim*

Polyzystisches Ovar-Syndrom – Untersuchung von Kandidatengen und deren Korrelation mit dem klinischen Erscheinungsbild (Dissertationsschrift – Zusammenfassung) .....76

*Martin Fröbe, Amberg*

Prokoagulante Aktivität des Monozyten: Fc gamma-Rezeptoren als Trigger und Variable (Dissertationsschrift – Zusammenfassung) .....78

*Sabine Fruth, Bayreuth*

Passagenabhängiges Differenzierungspotential adulter mesenchymaler Stammzellen aus dem humanen subkutanen Fettgewebe (Dissertationsschrift – Zusammenfassung) .....80

*Philipp Wiesner, San Diego, USA*

Entwicklung einer Methode zur schnellen und umfangreichen Analyse des Phospho- und Shingolipidgehalts der humanen Serumlipoproteine VLDL, LDL und HDL mittels Massenspektrometrie (Dissertationsschrift – Zusammenfassung) .....82

## Nachrichten

Themenhefte „Klinische Chemie und molekulare Diagnostik“ .....	84
--	----

## Tagungs- und Kursankündigungen

Minisymposium der Arbeitsgruppe Klinische Toxikologie der DGKL: UPDATE Klinische Toxikologie – Klinik und Labor .....	85
Repetitorium Klinische Chemie 2009 .....	87
Mikroskopische Blutzellendifferenzierung 2009 .....	87
„Gemeinsamer Weg von Laboratoriums- und Transfusionsmedizin“ - 25 Jahre Jubiläumssymposium, 27. und 28. November 2009, Bad Oeynhausen .....	88

## Kongressbericht

*Thomas Demant, Dresden*

18. Sächsisch-thüringisches Laborleitertreffen, Burgstädt 3./4. April 2009 .....	92
--	----

<b>Positionen</b> .....	100
-------------------------	-----

## Personal



Neue Mitglieder .....	101
Adressenänderungen .....	101
Jubilare .....	102
„Verschollene Mitglieder“ .....	103



## 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. 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: <a href="mailto:geschaeftsstelle@dgkl.de">geschaeftsstelle@dgkl.de</a>
-----------------	---

### 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: <a href="mailto:demant-th@khd.f.de">demant-th@khd.f.de</a>
----------------	---

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 Strebel, Belfortstraße 10, D-76133 Karlsruhe, e-mail: [bvt-dagmar-strebel@t-online.de](mailto:bvt-dagmar-strebel@t-online.de)

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

## Originalarbeit

# Neuer Parameter für die Stoffwechseleinstellung: Durchschnittsglucose statt HbA1c?

*Erwin Schleicher*

Medizinische Klinik und Poliklinik IV/Zentrallabor, Universitätsklinikum Tübingen

**Zusammenfassung:** Versuche die HbA1c Methoden zu harmonisieren zeigten, dass die zurzeit verwendeten Methoden unspezifisch sind. Inzwischen wurde eine Referenzmethode entwickelt und evaluiert die allerdings um ca. 2% niedrigere Werte ergibt. Die amerikanische Diabetesgesellschaft hat daher vorgeschlagen die HbA1c-Werte als „geschätzte Durchschnittsglucose“ zu reportieren, wobei diese durch Umrechnung der gemessenen HbA1c-Werte über eine Gleichung erhalten werden.

Der HbA1c-Wert ist seit zwei Dekaden ein etablierter Parameter zur Kontrolle der Stoffwechseleinstellung von Typ 1 und Typ 2 Diabetikern. Beim Versuch die auf der Welt vorhandenen unterschiedlichen Methoden zu harmonisieren zeigte sich, dass die verwendeten HbA1c Methoden unterschiedliche Werte ergeben. Eine inzwischen etablierte und evaluierte Referenzmethode ergab aber niedrigere HbA1c-Werte als die bislang verwendeten Methoden. Um Patienten und Kliniker nicht zu verwirren und um eine Interpretation der Ergebnisse vorzunehmen, wurde von der amerikanischen Diabetesgesellschaft vorgeschlagen die gemessenen HbA1c-Werte über eine Gleichung in eine „geschätzte Durchschnittsglucose“ umzurechnen und als solche in mg/dl zu reportieren.

### Was ist HbA1c?

HbA1c ist die minore Hämoglobin-Fraktion, die am N-terminalen Valin der  $\beta$ -Kette des Hämoglobins glykiert ist, d.h. dass Glucose an dieser Stelle des Hämoglobins irreversibel gebunden ist. Das Ausmaß der Glykierung hängt

linear von der Blutglucosekonzentration und der Dauer der Glucoseexposition, also der Erythrozytenüberlebenszeit ab, die normalerweise ca. 120 Tage beträgt. Obwohl auch andere Proteine im Plasma wie auch im Gewebe in Abhängigkeit von der Glucosekonzentration glykiert werden, ist das HbA1c in den letzten zwei Dekaden zum anerkannten Goldstandard für die quantitative Abschätzung der chronischen Hyperglykämie geworden und dient damit als Richtwert für die Therapieeinstellung von Typ 1 und Typ 2 Diabetikern. Das liegt vor allem daran, dass große Studien eine enge Assoziation zwischen dem Risiko für Langzeitkomplikationen (vor allem mikrovaskuläre Schäden) und dem HbA1c-Wert gezeigt haben. Für die erste große Studie, die amerikanische DCCT-Studie wurde für die Bestimmung des HbA1c die auf chromatographischer Trennung beruhende HPLC-Methode verwendet, sodass diese Studie Grundlage für die Erstellung von Therapiezielen war.

Da für die Bestimmung des HbA1c auf verschiedenen Prinzipien beruhende Methoden, die unterschiedliche Resultate ergaben, vorhanden waren, versuchte man eine Standardisierung der Methoden. Dabei stellte sich allerdings heraus dass sogar die Methoden, die auf dem gleichen Messprinzip beruhen und mit dem gleichen Standard kalibriert wurden, unterschiedliche Patientenwerte ergaben: im Vergleich zur amerikanischen „National Glycohemoglobin Standardization Program“ (NGSP)-Methode, die auf der bei der DCCT-Studie verwendeten Methode basierte, waren die mit der japanischen Methode gemessenen HbA1c Werte um ca. 0,4% und die mit der

schwedische Methode gemessenen sogar um 1,4% niedriger. Da diese Harmonisierungsbestrebungen zeigten, dass die vorhandenen Methoden fehlerbehaftet sind, wurde von der Internationalen Federation of Clinical Chemistry (IFCC) ein Komitee gegründet, das eine Referenzmethode etablieren sollte.

Dieses Komitee entwickelte eine neue Bestimmungsmethode, die auf „Peptid-mapping“ basierte. Um eine „absolute“ Standardisierung zu erreichen wurde sich streng an die Definition des HbA1c gehalten d.h. nur der N-terminale Teil des Hämoglobins der  $\beta$ -Kette analysiert. Für die Analytik wurde der N-terminale Teil des Hämoglobins mit einem Enzym spezifisch abgespalten und der Anteil an glykiertem versus nicht-glykiertem Peptid mit modernen

massenspektroskopischen Methoden gemessen (Abb.1). Wie erwartet wurden ca. 1,5-2% niedrigere HbA1c-Werte erhalten. Um die Werte vergleichen zu können wurde eine „Master“ Regressionsgleichung mit Hilfe von Patientenwerten aufgestellt mit der man die Werte umrechnen kann:  $(\text{NSPG-HbA1c}) = 0,915 \times (\text{IFCC-HbA1c}) + 2,15$ . Da Referenzmethoden in SI-Einheiten angegeben werden müssen und um Verwechslungen zu vermeiden, wurde die Einheit für die Referenzmethode auf mmol/mol festgelegt d.h dass die HbA1c-Werte in Promille berichtet werden, aber wegen der spezifischeren Methode niedriger liegen. Eine dänische Gruppe fand mit der neuen Referenzmethode einen Referenzbereich von 28,5 -38,1 (Mittelwert = 33,3) mmol/mol für ein Kollektiv von Nichtdiabetikern.

## Enzymatische Spaltung durch Glu-C

N-Terminus der  $\beta$ -Kette des Hb

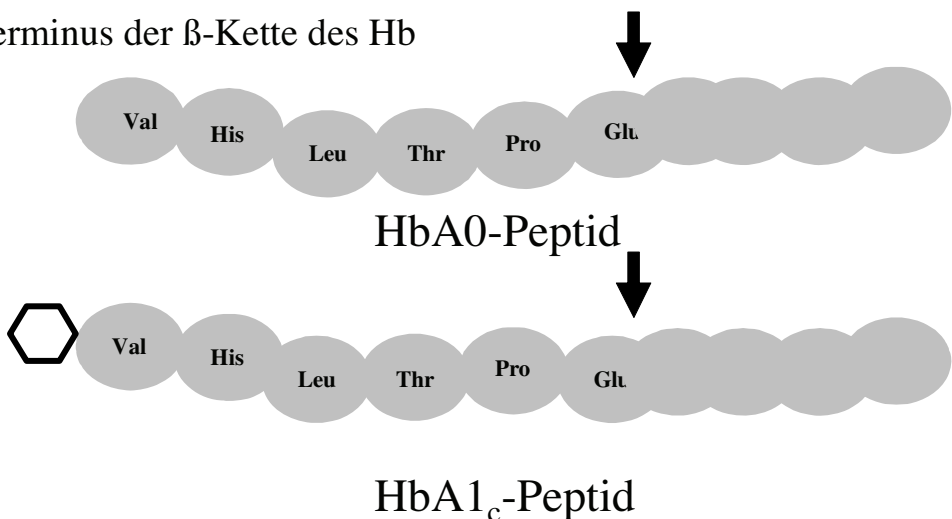


Abb. 1: Bestimmung des HbA1c mittels der Referenzmethode: nach spezifischer enzymatischer Spaltung mit der Protease Glu-C wird das Verhältnis von HbA0- zu HbA1c massenspektrometrisch bestimmt

Die Referenzmethode wurde inzwischen von allen klinisch-chemischen Gesellschaften der Welt unter dem Dach der International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) und auch von der amerikanischen (ADA), der europäischen (EASD) und der internationalen Diabetesgesellschaft (IDF) anerkannt. Allerdings sprachen sich vor allem die amerikanischen Kollegen gegen die „neue Ergebnisse“ aus (nicht gegen die neue Methode!), da andere Werte erhalten werden, die mit den in den Leitlinien enthaltenen Zielwerten nicht übereinstimmen.

Daraufhin wurde beschlossen ein „consensus committee“ einzurichten das folgende Beschlüsse fasste (Mailand, 4.Mai 2007):

HbA1c Testergebnisse einschließlich des Referenzsystems und des „reporting“ sollen weltweit standardisiert werden.

Das neue IFCC Referenzsystem für HbA1c stellt den einzigen validen Anker für die Implementierung der Standardisierung der HbA1c Messungen dar.

Die HbA1c Ergebnisse müssen weltweit in mmol/mol und abgeleiteten NGSP-Einheiten, die über obige Mastergleichung berechnet werden, berichtet werden.

Falls die laufende „mittlere Plasma Glucose Studie“ vordefinierte Kriterien erfüllt, kann der HbA1c Wert auch als von „A1c-abgeleiteter mittlere Glucose“ (ADAG) berichtet werden. (Anmerkung: die neu eingeführte Abkürzung A1c für HbA1c wird in Europa und inzwischen auch in den USA nicht empfohlen).

Die Ziele der Stoffwechseleinstellung in klinischen Leitlinien sollten in IFCC-Einheiten oder abgeleiteten NGSP Einheiten oder als ADAG berichtet werden.

Inzwischen wurde die ADAG-Studie veröffentlicht. Ziel dieser Studie war es eine mathematische Beziehung zwischen dem HbA1c-

Wert und den vom Patienten selbst gemessenen, gemittelten Glucosewerten zu erhalten um zu ermitteln ob HbA1c-Werte in „mittleren“ Glucosewerten in den gleichen Einheiten, wie sie beim Patientenselbstmessen verwendet werden, ausgedrückt und berichtet werden können.

Die Studie wurden in 10 internationalen Zentren durchgeführt, davon 6 in den USA, jeweils ein Zentrum war in den Niederlanden, Dänemark, Italien und Kamerun. Insgesamt wurden 268 Patienten mit Typ 1 und 159 Patienten mit Typ 2 Diabetes und 80 Nichtdiabetiker eingeschleust. Der HbA1c-wert wurde am Ende der 3-Monatsperiode in einem Zentrallabor bestimmt und mit den mittleren Glucosewerten die aus den sehr häufig (ca. 2700) innerhalb der 3 Monate von den Patienten bestimmten Glucosewerten berechnet wurden, verglichen. Folgende lineare Regressionsgerade wurde erhalten (Abb. 2): „Durchschnittsglucose AG (mg/dl) = 28,7 x HbA1c – 46,7 (R<sup>2</sup> = 0,84, p < 0,0001). Die Autoren schließen daraus, dass HbA1c-Werte von den meisten Typ 1 und Typ 2 Diabetikern in „geschätzten“ Durchschnittsglucosewerten ausgedrückt werden können. Bei genauerer Betrachtung zeigt sich jedoch dass die Streuung in dem gut definierten Kollektiv relativ groß ist. Abb. 2 zeigt, dass z.B. ein HbA1c-Wert von 7 einer „geschätzten“ Durchschnittsglucose von 123 bis 185 mg/dl entspricht. Noch größer sind die Streuungen in höheren HbA1c-Bereichen; so entspricht ein HbA1c-Wert von 9 einer „geschätzten“ Durchschnittsglucose von 170 bis 249 mg/dl. Weiterhin ist anzumerken dass für die Erstellung der Gleichung ein ausgewähltes Kollektiv verwendet wurde, sodass in der Praxis eine größere Streuung erwartet werden kann. Eine Studie mit diabetischen Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion zeigte z.B. eine schlechte Korrelation zwischen mittlerer Glucose und HbA1c.

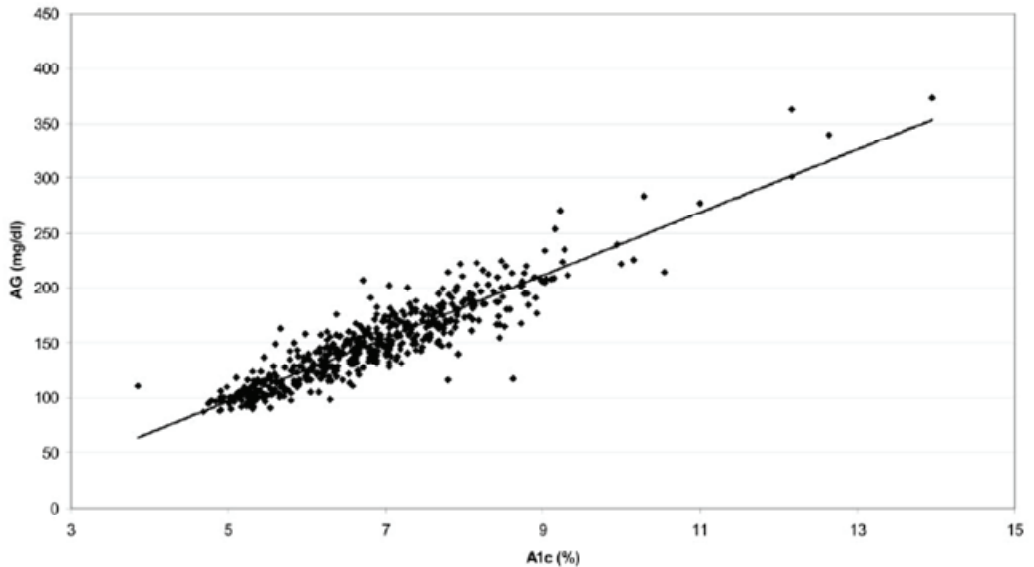


Abb. 2: Lineare Regression von HbA1c nach drei Monaten und errechnete Durchschnittsglucose während der drei Monate (aus Nathan DM et al. Diab Care 31,1473-78, 2008)

Durch die neue Referenzmethode, die den absoluten Standard für die HbA1c Methode darstellt, ist, teilweise unnötig, einige Verwirrung aufgetreten. Das liegt vor allem daran, dass vor allem die amerikanischen Kollegen keine neue Einheit sondern eine „Interpretation“ des gemessenen HbA1c ausgedrückt in geschätzter Durchschnittsglucose wünschen, d.h. es soll der HbA1c-Wert gemessen werden und dann durch das Laborinformationssystem über eine Formel in eine geschätzte Durchschnittsglucose ermittelt werden, die dann unabhängig von der HbA1c-Methode und Benennung ist.

Die Nachteile dass die HbA1c Werte in Glucoseeinheiten ausgedrückt werden obwohl keine Glucose gemessen wurde, dass es für die geschätzte Durchschnittsglucose keine Therapieziele gibt und dass die HbA1c-Werte und die gemessenen Durchschnittsglucosewerte teilweise nur schlecht korrelieren, werden vor allem von der europäischen, japanischen und kanadischen Diabetesgesellschaft

gesehen sodass diese Gesellschaften wahrscheinlich die Umrechnung nicht empfehlen werden.

### Facit

Die bislang verwendeten HbA1c-Messmethoden erfassen auch nicht-glykiertes Hämoglobin. Es wurde eine Referenzmethode etabliert und evaluiert, die zeigte dass die HbA1c-Werte um ca. 2% zu hoch sind. Die IFCC Referenzmethode ist inzwischen von allen relevanten Gesellschaften anerkannt und die Ergebnisse sollen in mmol/mol reportiert werden. Die Kalibrierungen aller Geräte muss mit Standards erfolgen deren Sollwerte sich auf die Referenzmethode zurückführen lassen; Umsetzung bis 31.12.2009. Die HbA1c-Werte können mit Hilfe einer Formel in eine „geschätzte“ Durchschnittsglucose umgerechnet werden um eine Interpretation für Ärzte und Patienten zu erleichtern.



Abschließend kann man für die Praxis zusammenfassen: Durch die Rückführbarkeit der verschiedenen Methoden auf eine Referenzmethode wird die Qualität der HbA1c Messung deutlich verbessert. Die Referenzmethode nach IFCC wird sich langfristig durchsetzen so dass langfristig auch die neue Benennung verwendet wird.

Die Ergebnisse werden in mmol/mol angegeben; das bisherig verwendete HbA1c (DCCT) wird weiterhin in % angegeben. In Europa wird sich die Umrechnung von HbA1c (egal ob „alte“ oder „neue“ Methode) in eine „Durchschnittsglucose“ nicht durchsetzen.

#### **Literatur:**

- DM. Nathan et al.: Translating the A1c Assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care* 2008; 31: 1473-78
- Consensus Committee: Consensus statement on the worldwide standardization of the haemoglobin. *Diabetes Care* 2007; 30: 2399-2400

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

Erwin Schleicher, Universitätsklinikum Tübingen, Medizinische Klinik und Poliklinik IV/Zentrallabor, Hoppe-Seylerstr. 3, D-76076 Tübingen, Email: Erwin.Schleicher@med.uni-tuebingen.de, Telefon: 07071 - 29-80602, Telefax: 07071 - 29-4696

Erwin Schleicher ist Leiter der Abteilung für Klinische Chemie am Universitätsklinikum Tübingen. Die Untersuchung des molekularen Mechanismus der gestörten Insulinsignalübertragung ist ein Schwerpunkt seiner wissenschaftlichen Tätigkeit. Ein anderer Schwerpunkt ist die Aufklärung der Entstehung diabetischer Gefäßschäden in dessen Rahmen die Glykierung von Proteinen von besonderer Bedeutung ist.

## Originalarbeit

# Bedeutung von Darmbarriere, Detoxifikation und Gallensäurestoffwechsel bei Chronisch-Entzündlichen Darmerkrankungen

Wolfgang Wistuba und Thomas Langmann

Institut für Humangenetik, Universität Regensburg

### Einleitung

Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen (CED) mit den beiden Hauptformen Morbus Crohn und Colitis ulcerosa stellen multifaktorielle Erkrankungen mit einer deutschlandweiten Prävalenz von etwa 300.000 Patienten dar. Neben allgemeinen immunologischen, mikrobiellen und umweltbedingten Einflußfaktoren spielt die genetische Suszeptibilität eine wichtige ätiologische Rolle [1]. Die genetische Komponente scheint bei Morbus Crohn höher zu sein als bei Colitis ulcerosa und die Mehrzahl der identifizierten genetischen Varianten zeigt eine signifikante Assoziation selektiv für Morbus Crohn. Mittels Kopplungsanalysen, sowie durch Kandidatengenstudien bzw. genomweite Assoziationsstudien wurden mehr als 30 Genloci identifiziert, die sich mehrheitlich in den Bereich immunologischer Faktoren eingliedern lassen [2-4]. Neben der Fehlregulation der innatens und adaptiven Immunantwort stehen Dysbiose und gestörte Darm-Mikroben Interaktion, sowie Defekte der epithelialen Integrität und Barrierefunktion im Interesse der Erforschung pathophysiologischer Grundprinzipien.

### Darmbarriere und Detoxifikation

Darmepithelzellen spielen eine wichtige Rolle als Teil der aktiven physiologischen Barriere zwischen luminalen Bestandteilen wie Bakterien, Nahrung und Toxinen, und Immunzellen des Darms. Eine Aufhebung dieser

räumlichen Trennung gilt als pathophysiologisch relevanter Prozess bei der Entstehung von CED. So scheinen genetische Defektvarianten in NOD2 neben einer gestörten NFkB-Aktivierung mit einer Fehlfunktion der Mukosahomöostase und einer verstärkten epithelialen Exposition gegenüber der Darmmikroflora einherzugehen [5]. Es tritt eine veränderte Erkennung bakterieller Oberflächenstrukturen durch *pathogen associated molecular patterns* und eine verminderte mukosale Sekretion von antimikrobiellen Peptiden, v.a. von Defensinen und Cryptidinen in NOD2-mutanten Patienten [6] und NOD2-defizienten Mäusen [7] auf. Die natürliche Permeabilität der epithelialen Barriere wird durch streng regulierte Prozesse kontrolliert. Der Verlust der Expression und Struktur von *Tight Junctions* und *Adherens Junctions* und damit eine Auflösung bzw. Fehlbildung der Zell-Zellkontakte gilt als Auslöser intestinaler Inflammation im Tiermodell [8]. Physiologische Zell-Zell-Kontakte und Zell-Matrix-Interaktionen von Enterozyten sind aber auch wichtig zur Hemmung von Apoptose und damit verbundener vorzeitiger Anoikis [9]. Inflammatorische Stimuli über das TNF/LIGHT-System hingegen haben direkten Einfluss auf Signalkaskaden, die zur endozytotischen Aufnahme der Junction Proteine ZO-1, Claudin-1 und Occludin und damit zur Barrierefunktionsdysfunktion führen [10].

Neben der passiven Barriere der Mukosa stellt die aktive Detoxifikation und Biotransformation sowie der Efflux luminaler Substanzen

durch Epithelzellen des Colons und und des Dünndarms eine wichtige Schutzfunktion dar. Es lassen sich generell drei Phasen der Detoxifikation definieren. Phase 1 Reaktionen beinhalten Redoxreaktionen über Cytochrom P-450 Enzyme (CYPs), Hydratationen durch Carboanhydrasen und Hydrolysereaktionen mittels Carboxylesterasen. Zu Phase 2 Reaktionen zählt man Sulfatierung, Glucuronidierung, Acetylierung, Methylierung und Glutathion-Konjugation reaktiver Intermediate. Ein darmspezifisches Set von ATP-binding cassette (ABC)-Transportern kann sowohl hydrophobe Substanzen direkt ausschleusen, wie im Fall des apikalen *multidrug resistance protein 1*, MDR1 (ABCB1), als auch den Austransport von Substratkonjugaten ermöglichen (z.B. durch *multidrug resistance related proteins*, MRPs) [11, 12]. Im Vergleich zur Leber zeigen CYP3A und CYP2C Isoenzyme und die Glutathion-S-Transferasen GSTM1 und GSTT1 eine etwa gleich hohe Expression im Darmepithel und hier vor allem an den Spitzen der Mikrovilli. Intestinales CYP3A4, das für den Hauptteil des *First Pass* Metabolismus von Medikamenten verantwortlich ist, ist maximal aktiv in vollständig polarisierten und zum Verband geschlossenen Epithelzellen. Dies legt nahe, dass die Entgiftungskapazität von Mukosazellen direkt mit der physiologischen Barrierefunktion in Zusammenhang steht. Die individuelle Aktivität dieser Enzyme unterliegt einer vielfachen Kontrolle durch metabolische Stimuli und genetische Polymorphismen. ABC-Transporter werden ebenfalls substratabhängig und individuell genetisch reguliert. MDR1, MRP2 und BCRP (*breast cancer resistance protein*) vermitteln den apikalen Export von Xenobiotika und MRP3 steuert den basolateral Efflux von sulfatierten und glucuronidierten Stoffen. Die apikale Exportfunktion von Enterozyten ermöglicht zum einen die wiederholte und verlängerte Exposition und zum anderen eine kontinuierliche Stimulation der Enzym- und Transportsysteme. Aufgrund der hohen Umsatzrate von Darmepithelzellen und mangels eines „xenobiotischen Gedächtnisses“ ist die kontinuierliche Re-Induktion des mukosa-

len Biotransformationssystems essentiell für die physiologische Entgiftungsleistung des Darms [11].

### **Störung der Detoxifikation und Darmbarriere bei CED**

Sowohl eine ständig wachsende Anzahl von Studien an Tiermodellen, als auch Untersuchungen mit CED Patienten legen nahe, dass eine gestörte Detoxifikation an der Pathogenese chronisch entzündlicher Darmerkrankungen beteiligt ist. So kann eine experimentell induzierte Glutathion-Defizienz in Mäusen zur verstärkten oxidativen Schädigung der Mukosazellen führen und schwere Degeneration von Epithelzellen des Jejunums und des Colons auslösen, während nach Trinitrobenzolsulfonsäure (TNBS)-induzierter Colitis eine signifikante Verbesserung durch Glutathion-Supplementation erreicht werden kann [13]. Mäuse mit kombinierter Glutathion Peroxidase 1 (Gpx1) und Glutathion Peroxidase 2 (Gpx2)-Defizienz entwickeln ebenfalls CED-ähnliche Symptome. Interessanterweise stimuliert die natürliche Darmflora die Gpx2 Expression und Dysbiose wirkt sich negativ auf das Glutathionssystem aus [14]. Patienten mit Morbus Crohn weisen zudem erniedrigte Glutathion-Spiegel sowohl in entzündeter, als auch in nicht-entzündeter Mukosa auf [15].

Zusätzlich zu dieser Schädigung der Primär- und Sekundärdetoxifikation zeigen neue Daten, u.a. Expressionsanalysen unserer Arbeitsgruppe in 20 menschlichen Geweben [16], dass ABC-Transporter eine hohe Expression im Darm aufweisen und an der Protektion der Mukosabariere über die Ausschleusung von Toxinen, Nahrungsstoffen und bakteriellen Komponenten zurück ins Darmlumen bzw. in den enteroheptischen Kreislauf beteiligt sind. Die MDR1(ABCB1)-Knock-out Maus zählt zu den CED-ähnlichen Mausmodellen, die spontan ohne weitere experimentelle Eingriffe eine gestörte Darmbarriere und Colitis entwickeln [17]. Die zusätzliche Infektion mit verschiedenen *Helicobacter* Spezies führt zur Modulation des Schweregrades bzw. des Zeitraums der

Ausprägung der Entzündung, was auf eine Interaktion der Darmflora mit dem Abwehr- bzw. Entgiftungssystem hindeutet [18]. Im Menschen sind MDR1 Polymorphismen mit einer Suszeptibilität für Colitis ulcerosa assoziiert [19].

Wichtige Erkenntnisse zur Bedeutung der zellulären Detoxifikation für die Mukosahomöostase und Darmbarriere wurden durch genomweite mRNA-Expressionsstudien an Darmbiopsien von CED-Patienten in unserer Arbeitsgruppe gewonnen. Wir konnten erstmals deutlich verminderte mRNA Mengen von ABC-Transportern, Phase 1 und 2 Detoxifikationsenzymen und des Transkriptionsfaktors Pregnane X Rezeptor (PXR, NR1I2) in verschiedenen Darmabschnitten bei CED nachweisen. Dementsprechend lieferte die Beschreibung der Fehlexpression von PXR und des nachgeschalteten ABC-Transporter-Detoxifikations-Systems speziell bei der Colitis ulcerosa eine erste molekulare Erklärung für die aberrante Entgiftung bei CED [20]. Darauf aufbauend ergaben Fall-Kontrollstudien mit Polymorphismen im PXR-Gen bei irischen und spanischen Patientenkohorten ein erhöhtes relatives Risiko für PXR-Genvariantenträger an CED zu erkranken [21, 22]. Unveröffentlichte Daten unserer Arbeitsgruppe mit knapp 400 deutschen CED-Patienten unterstützen diese Befunde, während eine aktuelle Publikation keine Assoziation von PXR Polymorphismen mit CED bei pädiatrischen Patienten finden konnte [23]. Unabhängig von diesen an CED-Patienten erhobenen Daten deuten aktuelle Ergebnisse aus Mausmodellen auf eine protektive Rolle von PXR im Darm hin. Die Behandlung mit dem PXR-Agonisten Pregnenolone-16 $\alpha$ -carbonitril (PCN) kann die Dextran-sodiumsulfat (DSS)-induzierte akute Colitis im Mausmodell signifikant mindern, begleitet mit einer Suppression der Expression von NF $\kappa$ B-Zielgenen [24]. Pro-inflammatorische, NF $\kappa$ B-abhängige Signalmechanismen wiederum vermitteln die reziproke Hemmung des PXR-Regelkreises *in vitro* [20, 25]. Nach dem gegenwärtigen Forschungsstand lässt sich ein überzeugender Zusammenhang formulieren,

der besagt, dass eine physiologische Expression und Funktion von PXR im Darm die Induktion von Entzündungsmechanismen unterdrückt und eine chronische Entzündung wiederum zur Hemmung des PXR-Detoxifikationsystems führt [26].

### **Interaktion des intestinalen Detoxifikations-systems mit dem enterohepatischen Gallensäurestoffwechsel**

Die koordinierte Induktion der funktionell eng verzahnten Enzyme des Detoxifikations-systems und des Gallensäurestoffwechsels findet überwiegend transkriptionell in der Leber und im Darm statt. Xenobiotika und Endobiotika wie z.B. Gallensäuren, die einer Biotransformation unterliegen, wirken meist als direkte Liganden für PXR, Farnesoid X Rezeptor (FXR), Constitutive Androstane Rezeptor (CAR) und Aryl Hydrocarbone Rezeptor (AhR). PXR, FXR, CAR und AhR steuern so koordiniert distinkte aber auch teilweise überlappende Gengruppen des Stoffwechsels der Leber und des Darms. Als Beispiel für einen *Feed Forward* Mechanismus der Gallensäuredetoxifikation sei hier die toxische Lithocholsäure (LCA) genannt, die als hochaffiner Ligand und Aktivator für PXR fungiert. Zusammen mit dem ubiquitären Bindungspartner Retinoid X Rezeptor (RXR) fördert LCA-PXR nach Kerntranslokation und Promotor-/Enhancer-Bindung die Transkription von CYP3A4 und somit die Umwandlung von LCA in die weniger giftige Hyodeoxycholsäure. Zusätzlich zur Kontrolle der direkten Entgiftungsleistung üben FXR und PXR jedoch auch wichtige Funktionen bei der Aufrechterhaltung einer wirksamen mizellaren antibakteriellen Blockade im Dünndarm und der Regulation des enterohepatischen Gallensäurestoffwechsels aus. So gelangt durch FXR gesteuert, aus Enterozyten sezerniertes *Fibroblast growth factor 19* (FGF19) Protein via enterohepatischem Kreislauf zur Leber und dockt dort am *Fibroblast growth factor receptor 4* an, woraufhin schließlich die Expression von CYP7A1 unterdrückt wird. Auf diese Weise fungiert FGF19 als ente-

rohepatisches Signal, noch bevor eine erhöhte Menge an Gallensäuren über Darm und Pfortader zur Leber gelangen, um eine überschüssige Produktion von Gallensäuren anzuzeigen [27]. Über diesen Mechanismus wird sehr wahrscheinlich auch das Erschlaffen und somit Wiederauffüllen der Gallenblase gesteuert [28]. In unseren eigenen Untersuchungen konnten wir nachweisen, dass das menschliche FGF19 Gen nicht nur durch FXR gesteuert ist, sondern auch durch PXR entscheiden reguliert wird. Sowohl das Antibiotikum Rifampicin, als auch die sekundäre Gallensäure LCA wirken induktiv auf PXR, wodurch direkt der FGF19 Promotor in Darmzellen angeschaltet wird [28]. Damit scheint ein eindeutiger molekularer Zusammenhang zwischen der Entgiftungsleistung im Darm und der Gallensäurebiosynthese in der Leber zu bestehen. Zur Unterstützung dieser Hypothese konnten in einer aktuellen Zusammenarbeit unserer Arbeitsgruppe mit verschiedenen Forschergruppen, u.a. mit Prof. Gerd Schmitz, Daten zum Gallensäurestoffwechsel bei CED-Patienten erhoben werden. In dem CED-Patientenkollektiv, bei dem bereits teilweise PXR Polymorphismen sowie die PXR Expression in Biopsaten bestimmt wurden (unveröffentlichte Daten und [20]), zeigten sich signifikant veränderte Plasmaprofile eines breiten Spektrums an freien und konjugierten Gallensäuren [29]. Sollten diese Befunde durch weitere Untersuchungen, z.B. der Analyse der direkten hepatischen Syntheseleistung untermauert werden, könnte die massenspektrometrische Bestimmung von Gallensäuren im Plasma zur nicht-invasiven Beurteilung der Darmbarriere von CED-Patienten dienen.

## Ausblick

Zusammenfassend stellen die dargestellten Befunde zur Charakterisierung des PXR-abhängigen Detoxifikationssystems bei CED einen vielversprechenden Ansatz für neue pathophysiologische Einblicke in zelluläre Krankheitsprozesse der CED dar. Darüberhinaus könnten sich daraus mittelfristig auch neue Therapiewege zur Verbesserung der Barriere-

und Entgiftungsfunktion der Darmmukosa, sowie neue diagnostische Verfahren ergeben.

## Danksagung

Unser besonderer Dank gilt der Stiftung für Pathobiochemie und Molekulare Diagnostik der Deutschen Vereinten Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin für die finanzielle Unterstützung des Projekts „ABC-Transporter und Regulationsmechanismen der zellulären Detoxifikation bei Chronisch Entzündlichen Darmerkrankungen (CED)“.

## Literatur

1. Sartor, R.B. (2006) Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.* 3:390-407.
2. Schreiber, S., Rosenstiel, P., Albrecht, M., Hampe, J., Krawczak, M. (2005) Genetics of Crohn disease, an archetypal inflammatory barrier disease. *Nat Rev Genet.* 6:376-388.
3. Cho, J.H., Weaver CT. (2007) The genetics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 133:1327-1339.
4. Noomen, C.G., Hommes, D.W., Fidder, H.H. (2009) Update on genetics in inflammatory disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 23:233-243.
5. Maeda, S., Hsu, L.C., Liu, H., Bankston, L.A., Limura, M., Kagnoff, M.F., Eckmann, L., Karin, M. (2005) Nod2 mutation in Crohn's disease potentiates NF-kappaB activity and IL-1beta processing. *Science.* 307:734-738.
6. Wehkamp, J., Harder, J., Weichenthal, M., Schwab, M., Schäffeler, E., Schlee, M., Herrlinger, K.R., Stallmach, A., Noack, F., Fritz, P., Schröder, J.M., Bevins, C.L., Fellermann, K., Stange, E.F. (2004) NOD2 (CARD15) mutations in Crohn's disease are associated with diminished mucosal alpha-defensin expression. *Gut.* 53:1658-1664.
7. Kobayashi, K.S., Chamaillard, M., Ogura, Y., Henegariu, O., Inohara, N., Nuñez, G., Flavell, R.A. (2005) Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. *Science.* 307:731-734.
8. Poritz, L.S., Garver, K.I., Green, C., Fitzpatrick, L., Ruggiero, F., Koltun, W.A. (2007) Loss of the tight

- junction protein ZO-1 in dextran sulfate sodium induced colitis. *J Surg Res.* 140:12-19.
9. Hofmann, C., Obermeier, F., Artinger, M., Hausmann, M., Falk, W., Schoelmerich, J., Rogler, G., Grossmann, J. (2007) Cell-cell contacts prevent anoikis in primary human colonic epithelial cells. *Gastroenterology.* 132:587-600.
  10. Schwarz, B.T., Wang, F., Shen, L., Clayburgh, D.R., Su, L., Wang, Y., Fu, Y.X., Turner, J.R. (2007) LIGHT signals directly to intestinal epithelia to cause barrier dysfunction via cytoskeletal and endocytic mechanisms. *Gastroenterology.* 132:2383-2394.
  11. Langmann, T., Schmitz, G. Loss of detoxification in inflammatory bowel disease. (2006) *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.* 3:358-359.
  12. Schmitz, G., Langmann, T. Metabolic learning in the intestine: adaptation to nutrition and luminal factors. (2006) *Horm Metab Res.* 38:452-454.
  13. Loguercio, C., D'Argenio, G., Delle Cave, M., Cosenza, V., Della Valle, N., Mazzacca, G., Del Vecchio Blanco, C. Glutathione supplementation improves oxidative damage in experimental colitis. (2003) *Dig Liver Dis.* 35:635-641.
  14. Esworthy, R.S., Aranda, R., Martin, M.G., Doroshov, J.H., Binder, S.W., Chu, F.F. Mice with combined disruption of Gpx1 and Gpx2 genes have colitis. (2001) *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 281:G848-G855.
  15. Sido, B., Hack, V., Hochlehnert, A., Lipps, H., Herfarth, C., Dröge, W. Impairment of intestinal glutathione synthesis in patients with inflammatory bowel disease. (1998) *Gut.* 42:485-492.
  16. Langmann, T., Mauerer, R., Zahn, A., Moehle, C., Probst, M., Stremmel, W., Schmitz G. Real-time reverse transcription-PCR expression profiling of the complete human ATP-binding cassette transporter superfamily in various tissues. (2003) *Clin Chem.* 49:230-238.
  17. Panwala, C.M., Jones, J.C., Viney, J.L. A novel model of inflammatory bowel disease: mice deficient for the multiple drug resistance gene, *mdr1a*, spontaneously develop colitis. (1998) *J Immunol.* 161:5733-5744.
  18. Maggio-Price, L., Shows, D., Waggie, K., Burich, A., Zeng, W., Escobar, S., Morrissey, P., Viney, J.L. *Helicobacter bilis* infection accelerates and *H. hepaticus* infection delays the development of colitis in multiple drug resistance-deficient (*mdr1a*<sup>-/-</sup>) mice. (2002) *Am J Pathol.* 160:739-751.
  19. Annese, V., Valvano, M.R., Palmieri, O., Latiano, A., Bossa, F., Andriulli, A. Multidrug resistance 1 gene in inflammatory bowel disease: a meta-analysis. (2006) *World J Gastroenterol.* 12:3636-3644.
  20. Langmann, T., Moehle, C., Mauerer, R., Scharl, M., Liebisch, G., Zahn, A., Stremmel, W., Schmitz, G. Loss of detoxification in inflammatory bowel disease: dysregulation of pregnane X receptor target genes. (2004) *Gastroenterology.* 127:26-40.
  21. Dring, M.M., Goulding, C.A., Trimble, V.I., Keegan, D., Ryan, A.W., Brophy, K.M., Smyth, C.M., Keeling, P.W., O'Donoghue, D., O'Sullivan, M., O'Morain, C., Mahmud, N., Wikström, A.C., Kelleher, D., McManus, R. The pregnane X receptor locus is associated with susceptibility to inflammatory bowel disease. (2006) *Gastroenterology* 130:341-348.
  22. Martínez, A., Márquez, A., Mendoza, J., Taxonera, C., Fernández-Arquero, M., Díaz-Rubio, M., de la Concha, E.G., Urcelay, E. (2007) Role of the PXR gene locus in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis.* 13:1484-1487.
  23. Lacher, M., Kappler, R., Schroepf, S., Berkholz, S., Ballauff, A., Bufler, P., Baurecht, H., von Schweinitz, D., Koletzko, S. Nuclear Pregnane X Receptor Single Nucleotide Polymorphism (-25385C/T) Is Not Associated With Inflammatory Bowel Disease in Pediatric Patients. (2009) *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* [Epub ahead of print] PubMed PMID: 19516190.
  24. Shah, Y.M., Ma, X., Morimura, K., Kim, I., Gonzalez, F.J. Pregnane X receptor activation ameliorates DSS-induced inflammatory bowel disease via inhibition of NF-kappaB target gene expression. (2007) *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 292:G1114-G1122.
  25. Zhou, C., Tabb, M.M., Nelson, E.L., Grün, F., Verma, S., Sadatrafiei, A., Lin, M., Mallick, S., Forman, B.M., Thummel, K.E., Blumberg, B. Mutual repression between steroid and xenobiotic receptor and NF-kappaB signaling pathways links xenobiotic metabolism and inflammation. (2006) *J Clin Invest.* 116:2280-2289.
  26. Xie, W., Tian, Y. Xenobiotic receptor meets NF-kappaB, a collision in the small bowel. (2006) *Cell Metab.* 4:177-178.
  27. Inagaki, T., Choi, M., Moschetta, A., Peng, L., Cummins, C.L., McDonald, J.G., Luo, G., Jones, S.A., Goodwin, B., Richardson, J.A., Gerard, R.D., Repa, J.J., Mangelsdorf, D.J., Kliewer, S.A. Fibroblast growth factor 15 functions as an enterohepatic signal to regulate bile acid homeostasis. (2005) *Cell Metab.* 2:217-225.
  28. Choi, M., Moschetta, A., Bookout, A.L., Peng, L., Umetani, M., Holmstrom, S.R., Suino-Powell, K.,

- Xu, H.E., Richardson, J.A., Gerard, R.D., Mangelsdorf, D.J., Kliewer, S.A. Identification of a hormonal basis for gallbladder filling. (2006) *Nat Med.* 12:1253-1255.
29. Wistuba, W., Gnewuch, C., Liebisch, G., Schmitz, G., Langmann, T. Lithocholic acid induction of the FGF19 promoter in intestinal cells is mediated by PXR. (2007). *World J Gastroenterol.* 13:4230-4235.
30. Gnewuch, C., Liebisch, G., Langmann, T., Dieplinger, B., Mueller, T., Haltmayer, M., Dieplinger, H., Zahn, A., Stremmel, W., Rogler, G., Schmitz, G. Serum bile acid profiling reflects enterohepatic detoxification state and intestinal barrier function in inflammatory bowel disease. (2009) *World J Gastroenterol.* 15:3134-3141.

### **Anschrift des Verfassers**

Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Thomas Langmann, Institut für Humangenetik, Universität Regensburg, Franz-Josef-Strauss Allee 11, D-93053 Regensburg; E-Mail: [thomas.langmann@klinik.uni-regensburg.de](mailto:thomas.langmann@klinik.uni-regensburg.de)

Aus dem Mitgliederkreis

## HPLC Analytik der B6-Vitamer: Methodenoptimierung und Referenzwerterstellung

Dissertation (Dr. med.) aus dem Institut für Klinische Chemie Campus Lübeck des Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (Leiter: Prof. Dr. Michael Seyfarth, betreuender Wissenschaftler: Dr. Leif Dibbelt)

*Eduard Samson, Aachen*

Vitamin B6 umfasst eine Gruppe von sechs 3-Hydroxy-2-Methylpyridinen, die untereinander im metabolischen Gleichgewicht stehen und daher gleiche biologische Aktivität zeigen: Pyridoxin (PN), Pyridoxal (PL) und Pyridoxamin (PM) sowie ihre 5'-Phosphatester. Hauptmetabolit der B6-Vitamer ist die 4-Pyridoxinsäure. Die klinische Relevanz der B6-Vitamer ergibt sich aus ihrer Funktion als Coenzym in über hundert enzymatischen Reaktionen des Metabolismus. Der Vitamin-B6-Status beim Menschen wird heute überwiegend durch Bestimmung einer oder mehrerer B6-Formen im Serum mittels HPLC erfasst. Keine der bestehenden Methoden ermöglicht allerdings die zuverlässige Quantifizierung aller B6-Formen; stellvertretend wird meist die Konzentration des Coenzym Pyridoxalphosphat (PLP) angegeben. In der Literatur variieren die Referenzbereiche der B6-Vitamer methodenabhängig erheblich.

Ausgehend von einer publizierten HPLC-Methode wurden die für die Analytik relevanten Variablen einschließlich der Probenvorbereitung systematisch überprüft. Neben der traditionellen Eiweißpräzipitation wurden auch die manuelle und die automatisierte Festphasenextraktion der B6-Formen aus Serum getestet, aber als wenig effizient wieder verworfen. Die Untersuchungen führten zum Aufbau einer optimierten HPLC-Methode, die nach Zugabe von Perchlorsäure, Internem Standard und Dikaliumhydrogenphosphat zum Serum den Zentrifugationsüberstand an einer modifizierten C18-

Säule mit einer Gradientenelution auftrennt. Die Detektion der B6-Formen erfolgt fluorimetrisch. Während der PN-Peak oft durch Matrixbestandteile überlagert und deshalb nicht auszuwerten war, konnten mit dieser Methode PLP, PM und 4-PA regelmäßig im Serum des Menschen bestimmt werden. Die Methode eignet sich für die Statuserhebung des Vitamin B6 in der klinischen Routinediagnostik und wird erfolgreich in der Praxis eingesetzt. Für die Bestimmung weiterer B6-Vitamer wurde ergänzend eine zweite HPLC-Methode etabliert, die sich in der Probenvorbereitung und in der Zusammensetzung des Elutionsmittels von der „Routinemethode“ unterscheidet, aber auch weniger robust ist als diese. Mit beiden Methoden wurden in einem umfangreichen Kollektiv Erwachsener beiderlei Geschlechts Referenzbereiche der Serum-Konzentrationen der B6-Formen erstellt. Außerdem wurde die Pharmakokinetik der B6-Formen nach Gabe von Pyridoxin untersucht.

Aufgrund erheblicher chemischer Unterschiede zwischen freien und phosphorylierten B6-Vitaminen sowie extrem niedriger Konzentrationen einzelner Vertreter dieser Substanzklasse bleibt die zuverlässige HPLC-Analytik aller B6-Formen im Serum des Menschen eine Herausforderung.

### **Anschrift des Verfassers:**

Dr. med. Eduard Samson, Maastricher Straße 16, D-52074 Aachen



## Analyse des Kohlenhydrat-defizienten Transferrins im Serum des Menschen mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie

Dissertation (Dr. med.) aus dem Institut für Klinische Chemie Campus Lübeck des Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (Leiter: Prof. Dr. Michael Seyfarth, betreuender Wissenschaftler: Dr. Leif Dibbelt)

*Ulrike Schmitz, Freiburg*

In der Labordiagnostik und Therapiekontrolle des chronisch erhöhten Alkoholkonsums ist das Kohlenhydrat-defiziente Transferrin (CDT) eine etablierte Messgröße. Die Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) an Anionenaustauscher-Säulen galt lange als Referenzmethode der CDT-Analytik, wird heute aber zunehmend auch in der Routineanalytik eingesetzt. Um die Frage zu klären, ob es signifikante Unterschiede zwischen den Ergebnissen verschiedener, in der Laborroutine verwendeter HPLC-Applikationen zur CDT-Bestimmung gibt und, falls ja, ob Möglichkeiten zur Harmonisierung dieser Analytik bestehen, wurden drei HPLC-Methoden (Fa. Chromsystems, Fa. Recipe und eine Eigenentwicklung) an großen Serenkollektiven mit unauffälligen und pathologischen CDT-Werten verglichen. Die Ergebnisse dieser Methodenvergleiche zeigten signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen HPLC-Verfahren, die sich auf Unterschiede in der Probenvorbereitung (manuell oder in den HPLC-Lauf integriert), vor allem aber auf die unterschiedliche Auswertung der Chromatogramme zurückführen ließen. Zwei Verfahren verlangen die Integration nach einem gemischten Verfahren, bei dem Asialo- bis Disialotransferrin baseline integriert werden, während die restlichen Transferrinfraktionen valley-to-valley ausgewertet werden; die 3. Methode verwendet durchgehend eine baseline-Auswertung. Wurden alle Chromatogramme einheitlich baseline integriert,

ergab die statistische Auswertung eine deutlich bessere Übereinstimmung zwischen den Methoden. Nach unseren Erfahrungen würde eine einheitliche baseline-Integration wesentlich zur Harmonisierung der HPLC-basierten CDT-Analytik beitragen.

Zur Herstellung geeigneter Standards für die HPLC-Analytik des CDT wurde eine HPLC-Methode zur präparativen Isolierung der Isotransferrine aufgebaut. Asialo- bis Hexasialotransferrin wurden anhand des Chromatogramms fraktioniert aufgefangen, mittels isoelektrischer Fokussierung auf ihre Reinheit überprüft, durch Membranfiltration konzentriert und in mehr als 95 % reiner Form gewonnen. Ein Teil der aufgetrennten Isotransferrine wurde einem Hersteller von Labordiagnostika zur Austestung Glykan-spezifischer Transferrin-Antisera zur Verfügung gestellt.

Zusammenfassend wurden Möglichkeiten zur Harmonisierung der HPLC-Analytik des CDT geschaffen durch Identifizierung methodenabhängiger Unterschiede und der Herstellung isolierter, für Kontrollzwecke geeigneter Isotransferrine.

### **Anschrift der Verfasserin:**

Dr. med. Ulrike Schmitz, Hildastraße 35, D-79102 Freiburg

## **Polyzystisches Ovar-Syndrom – Untersuchung von Kandidatengenen und deren Korrelation mit dem klinischen Erscheinungsbild**

Dissertation (Dr. med.) aus dem Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Universitätsklinikums Regensburg (Direktor: Prof. Dr. med. Gerd Schmitz)

*Nadja Geneidy, Wertheim*

**Hintergrund:** Bei dem polyzystischen Ovarsyndrom (PCOS) handelt es sich um die am häufigsten vorkommende endokrine Störung bei Frauen im reproduktionsfähigen Alter. Seine Prävalenz liegt bei 5-10 %. Die betroffenen Frauen zeigen ein heterogenes Bild, die klinische Symptomatik reicht von Regeltempoanomalien und Adipositas über Zeichen einer Androgenisierung bis hin zu Stoffwechselstörungen im Sinne eines metabolischen Syndroms. Die Patientinnen fallen durch erhöhte Androgene, anovulatorische Zyklen und erhöhte Werte des Luteinisierenden Hormons (LH) auf, häufig findet sich eine Insulinresistenz mit konsekutiver Hyperinsulinämie.

Bis heute ist die Ätiologie des Syndroms in weiten Teilen ungeklärt. Darin liegt die Schwierigkeit begründet, in dem heterogenen Patientinnenkollektiv eine sichere Diagnosestellung mit ausreichender Sensitivität und hinreichender Spezifität zu erreichen, sowie die Betroffenen erfolgreich zu behandeln und langfristig vor negativen Folgen für ihre Gesundheit zu schützen.

Schon mehrfach wurde bei dem PCOS eine familiäre Häufung gefunden. Deshalb wird allgemein bei der Entstehung des PCOS das Zusammenwirken einer genetischen Grundlage mit dem Auftreten äußerer Auslösefaktoren vermutet. Es ist bisher jedoch nicht gelungen, eine sichere Aussage über die genetischen Veränderungen zu treffen, die vorliegen müssen, um ein PCOS zu generieren. Ebenso ist unklar, nach welchem Modus das Syndrom vererbt wird. Viele Kandidatengene sind unter-

sucht worden, jedoch sind nur wenige Versuche, die Ergebnisse zu reproduzieren, gelungen.

Bei der Suche nach möglicherweise den klinischen Symptomen des PCOS zugrunde liegenden genetischen Veränderungen kann man sich an den Stoffwechselwegen und den für die Fertilität ausschlaggebenden Vorgängen, die bei dem PCOS gestört sind, orientieren. Hier stehen vor allem Auffälligkeiten in der Steroidogenese, in der Follikelreifung und im Glucosestoffwechsel im Vordergrund.

Mit der vorliegenden Arbeit wurde geprüft, ob und inwieweit der R653Q-Single-Nukleotid-Polymorphismus (SNP) im MTHFD-1-Gen, die Apa1-Variante des IGF-2-Gens und der 4G/5G-Polymorphismus des PAI-1-Gens für die Pathogenese des PCOS und seine klinischen Charakteristika verantwortlich sind.

**Methoden und Ergebnisse / Diskussion:** Dafür erfolgte eine Sammlung klinischer Daten sowie eine molekulargenetische Untersuchung von 242 Patientinnen und 161 gesunden Kontrollpersonen. Es wurde gezeigt, dass die genannten SNP nicht die genetische Grundlage des Pathomechanismus des PCOS darstellen.

Lediglich für die Allelverteilung bezüglich des 4G/5G-Polymorphismus des PAI-1-Gens konnte ein Unterschied zwischen Patientinnen mit PCOS und gesunden Kontrollen festgestellt werden. Unter den vom PCOS Betroffenen fanden sich für sich genommen jedoch keine signifikanten Unterschiede in der Allel-

verteilung, lediglich bei den gesunden Frauen konnte ein signifikant häufigeres Vorkommen des 4G-Allels nachgewiesen werden.

Auf bestimmte klinische Charakteristika des PCOS, wie die Androgenisierung haben die untersuchten SNP nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit keine Auswirkung.

Andere klinische Parameter werden dagegen signifikant durch die jeweils bestehenden Varianten der Polymorphismen beeinflusst. So geht bei den Patientinnen die IGF-2-SNP-Variante A/A mit Übergewicht und Adipositas einher, Frauen mit der reinen 5G-Variante des PAI-1-Gen-Polymorphismus sind signifikant häufiger schlank. Patientinnen mit A/A-Variante des MTHFD-1-Gen-Polymorphismus weisen signifikant häufiger eine Dyslipidämie auf und entwickeln signifikant öfter einen Gestationsdiabetes.

Nach einer Kinderwunschbehandlung treten signifikant weniger Fehlgeburten bei den Frauen mit PCOS auf, die einen reinen 5G-Genotyp des PAI-1-Gen-SNP haben.

**Fazit:** Während manche der gefundenen Ergebnisse mit denen anderer Untersucher übereinstimmen, gibt es auch Fragestellungen, bei denen abweichende Resultate von anderen Forschern vorliegen.

Dies macht klar, dass mehr Studien mit sehr hohen Fallzahlen benötigt werden, um zu endgültigen Aussagen zu gelangen. Darüber hinaus ist immer wieder die differierende Diagnosestellung des PCOS ein Grund für uneinheitliche Resultate verschiedener Untersuchungen.

Hier ist es unumgänglich, dass für eine echte Vergleichbarkeit von Forschungsergeb-

nissen einheitliche Diagnosekriterien herangezogen und kompromisslos angewandt werden.

Die mangelnde Reproduzierbarkeit gefundener Ergebnisse zeigt aber in jedem Fall, dass weiterer Klärungsbedarf bezüglich der Bedeutung der untersuchten Kandidatengene besteht.

Die Zahl der Genomvarianten, die mit dem PCOS assoziiert werden, nimmt immer mehr zu. Dies legt nahe, dass es sich bei dem PCOS um eine Störung handelt, deren Pathomechanismus auf dem Zusammenwirken multipler Genveränderungen mit Umweltfaktoren und Lebensgewohnheiten beruht.

Weitere Anstrengungen müssen hier unternommen werden, um viele andere in Frage kommende Kandidatengene auf ihre Assoziation mit dem PCOS hin zu untersuchen. Dabei wird stets auf die genaue Auswahl der Probandinnen mit strenger Anwendung der gültigen Diagnosekriterien geachtet werden müssen, bei gleichzeitigem Anstreben des Einschlusses großer Fallzahlen. Darüber hinaus darf das wahrscheinliche Basieren der Pathogenese des PCOS auf multiplen Genveränderungen nicht außer Acht gelassen werden.

Weiterhin bleibt zu klären, ob es sich bei dem PCOS überhaupt um eine einzige Störung handelt oder ob sich dahinter vielmehr mehrere verschiedene Krankheitsentitäten verbergen.

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

Nadja Geneidy, Krankenhaus Wertheim, Carl-Roth-Str. 1, D-97877 Wertheim. E-Mail: nadja.geneidy@freenet.de

## Prokoagulante Aktivität des Monozyten: Fc gamma-Rezeptoren als Trigger und Variable

Dissertation (Dr. med.) aus dem Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Universitätsklinikums Regensburg (Direktor: Prof. Dr. med. Gerd Schmitz).

*Martin Fröbe, Amberg*

**Hintergrund:** Monozyten stehen gewissermaßen an der Schnittstelle zwischen Immunsystem und Gerinnungssystem, da sie einerseits die Fc- bzw. Fc gamma-Rezeptoren (FcγR) besitzen, denen eine Schlüsselstellung innerhalb des Immunsystems zufällt, andererseits den für die Initiierung und die Ausbreitung („propagation“) der Thrombinbildung entscheidenden Tissue Factor (TF) liefern können.

Eine direkte Stimulierbarkeit von Monozyten zur Expression von prokoagulanter Aktivität (PCA) bzw. TF durch FcγR-Aktivierung wird in der Literatur kontrovers diskutiert, wobei entsprechende Arbeiten mit *selektivem* Crosslinking einer monozytären FcγR-Klasse (FcγRI [CD64], FcγRIIA/B [CD32], FcγRIIIA [CD16]) nicht gefunden wurden. Obwohl TF der Initiator der Gerinnungskaskade *in vivo* ist, können messbare TF-Expression und PCA in verschiedenen Situationen deutlich voneinander abweichen, was zunehmend intensiv untersucht wird (sog. „TF encryption/de-encryption“). Die am häufigsten von der stark CD14-positiven Mo.-Hauptpopulation abgegrenzte Subpopulation CD14(+)CD16(+) scheint bei verschiedenen Erkrankungen, wie z. B. der Lipopolysaccharid (LPS)-induzierten Sepsis eine wesentliche Rolle zu spielen.

Grundlegende Ziele der Arbeit waren deshalb die Untersuchung von Zusammenhängen zwischen den drei verschiedenen FcγR-Klassen und PCA am Monozyten, die Betrachtung der Korrelation der erzeugten PCA mit ihrem Hauptinitiator TF sowie die Ermittlung von Beziehungen zwischen CD16-Expression und

TF-Induktion bzw. -Induzierbarkeit unter LPS-Stimulation.

**Methoden und Ergebnisse / Diskussion:** Monozyten wurden aus Buffy-Coat-Präparaten konventioneller Blutspenden durch Dichtegradientenzentrifugation und anschließender Positiv- oder Negativisolierung mit Magnetbeads gewonnen. Die TF-/PCA-Induktion nach selektiver Stimulation einer FcγR-Klasse mit spezifischen F(ab')<sub>2</sub>-Fragmenten bzw. Antikörpern wurde an isolierten Monozyten auf verschiedenen Ebenen untersucht (Calcium-Influx, TF-mRNA, TF-Gesamtprotein, TF-Oberflächenexpression, PCA mittels Rekalzifizierungszeit-Assay). Zur Messung der revers transkribierten TF-mRNA (= TF-cDNA) wurde eine Real-Time-PCR etabliert, die die absolute Quantifizierung der TF-cDNA erlaubte. Mit den Inkubationen wurden Korrelationsuntersuchungen zwischen TF-Oberflächenexpression und PCA durchgeführt, z. T. mit Einsatz eines blockierenden Anti-TF-Antikörpers. Auswirkungen der LPS-Stimulation auf die CD16- Oberflächenexpression, sowie Effekte der CD16- Oberflächenexpression auf die LPS-induzierte PCA wurden an negativisolierten Monozyten und in Vollblutproben freiwilliger Blutspender untersucht. Die Etablierung einer Magnetbead-vermittelten Anreicherung der CD16(+)- und CD16(-)-Subpopulationen erlaubte schließlich den Vergleich der LPS-induzierten PCA in beiden Subpopulationen.

Es wurde gezeigt, dass in Monozytenisolaten durch selektives Crosslinking des FcγRI TF bzw. PCA induziert werden kann, während dies für ein FcγRIIIA-Crosslinking

nicht möglich war und der FcγRII (Subklassen: aktivierender FcγRIIA und inhibierender FcγRIIB) diesbezüglich variable Effekte erbrachte. Für die Induktion von monozytärem TF und damit die Initiierung der Gerinnungskaskade erscheint dabei das alleinige Crosslinking (ohne Fc-Ligierung) der FcγR ausreichend. Die hier überraschend gute Korrelation zwischen monozytärer TF-OE und PCA-Induktion kann ein Hinweis für eine bei diesen Experimenten nur wenig relevante TF encryption/de-encryption sein oder für eine weitgehende Spezifität des verwendeten fluoreszenzmarkierten Anti-TF-Antikörpers für aktiven (de-encrypted) TF. Die hohe Relevanz von TF bei der PCA-Induktion wurde durch eine um 95 % liegende Blockierbarkeit der PCA durch einen Anti-TF-Antikörper verdeutlicht. Eine residuale PCA (hier um 5 %) nach TF-Blockade zeigt sich auch in anderen Arbeiten, ihre Herkunft ist aber nicht eindeutig geklärt. Unter LPS-Stimulation resultierte eine Abnahme der CD16(+)-Subpopulation sowie eine höhere TF-Oberflächenexpression auf den CD16(-)-Monozyten im Vergleich zu den CD16(+)-Monozyten. Diese negative Korrelation von CD16- und TF-Oberflächenexpression (bzw. CD16-Oberflächenexpression und PCA-Induktion durch LPS) bestätigte sich auch mit getrennt untersuchten, angereicherten CD16(+)-/CD16(-)-Subpopulationen, wo die

CD16(-)-Fraktion im Mittel die höhere PCA-Antwort lieferte.

**Fazit:** Die Ergebnisse prägen am Monozyten ein Bild vom FcγRIIA als Negativindikator für PCA/PCA-Induzierbarkeit und vom FcγRI als entsprechendem Positivindikator bzw. direktem PCA-Trigger. Effektvariabilitäten beim FcγRII stehen wahrscheinlich im Zusammenhang mit der Wechselwirkung des eingesetzten F(ab')<sub>2</sub>-Fragments mit den beiden Subklassen des FcγRII (aktivierender FcγRIIA und inhibierender FcγRIIB). Monozytärer oberflächenassoziierter TF konnte dabei als wesentlicher PCA-Induktor ausgemacht werden und zeigte hier gute Korrelationen mit der PCA-Antwort, was für das intensiv beforschte Feld der TF encryption/de-encryption von Bedeutung ist. Subpopulationsanreicherung und (Sub)Klassen-spezifisches FcγR-Crosslinking sind wichtig zur genauen Bewertung der betrachteten Effekte.

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

Dr. med. Martin Fröbe, Medizinische Klinik II, Klinikum St. Marien Amberg, Mariahilfbergweg 5-7, D-92224 Amberg, email: martin.froebe@gmx.de

## Passagenabhängiges Differenzierungspotential adulter mesenchymaler Stammzellen aus dem humanen subkutanen Fettgewebe

Dissertation (Dr. med.) aus dem Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Universitätsklinikums Regensburg (Direktor: Prof. Dr. med. Gerd Schmitz)

*Sabine Fruth, Bayreuth*

### Hintergrund

Zellbasierten Therapieansätzen, wie Tissue Engineering- und Stammzellkonzepten kommt in der Medizin immer größere Bedeutung zu. Für die in vitro Herstellung und den in vivo Ersatz von autologem, mesodermalem Gewebe werden bisher v.a. adulte Stammzellen aus dem Knochenmark verwendet. Sollte sich bestätigen, dass auch subkutanes Fettgewebe Erwachsener eine Population pluripotenter Stammzellen enthält, wäre dies, v.a. Zellgewinnung und -zahl betreffend, von erheblichem Vorteil.

Ziel der Arbeit war, das Proliferationsverhalten humaner Fettgewebs-Stromazellen zu charakterisieren und deren Wachstumsbedingungen zu optimieren, um eine reproduzierbar hohe Anzahl an Ausgangszellen für eine spätere Transplantation zu erhalten.

Die Fähigkeit der Zellen in mehrere mesenchymale Richtungen zu konvertieren, sollte untersucht und ihre Entwicklung im Kulturverlauf verfolgt werden. Es galt, mögliche Einflussfaktoren auf beide Punkte zu evaluieren.

### Methoden und Ergebnisse / Diskussion

Aus Fettgewebe isolierte Stromazellen wurden adhärent sowie in Suspensionskultur vermehrt. Spezifische Kultursysteme und Medienzusätze dienten zur Induktion ihrer multi-linealen Differenzierung. Der Nachweis der Konversion erfolgte mikroskopisch, durch histologische und immunhistochemische Färbungen sowie durch Enzymtests. Aus einem

Gramm verarbeitetem Fettgewebe konnten bis zu  $8,5 \times 10^{19}$  Fettgewebs-Stromazellen gewonnen werden. Die Ausbeute war negativ mit dem Spenderalter korreliert. Die höchsten Zellzahlen konnten mit Gewebe männlicher Donatoren, Fett aus der Abdominalregion sowie mit Liposuktionsmaterial erzielt werden.

In DMEM +10 % FKS verblieben Fettgewebs-Stromazellen lange (max. 150 d) in einem stabilen undifferenzierten Zustand. Zeichen von Seneszenz waren nicht erkennbar, die Verdopplungszeiten waren konstant. Mit bis zu 38 Populationsverdopplungen lag das biologische Alter der Zellen zwischen dem embryonalen Stammzellen und dem reifer adulten Zellen.

In EGM-2 wachsende Zellen zeigten anfangs eine deutlich raschere Abfolge von Zellteilungen, ihr Proliferationspotential war allerdings schneller erschöpft, die erreichten Gesamtzellzahlen somit erheblich niedriger.

Die Vermehrung von Fettgewebs-Stromazellen in Form frei flottierender Zellcluster, sog. Sphären, in verschiedenen unbeschichteten Kulturgefäßen oder Rührflaschen war auf max. 3-4 Passagen beschränkt, was zu sehr geringen Gesamtzellzahlen führte. Deshalb und aufgrund der höheren Mediumkosten und des labortechnischen Mehraufwandes ist die Sphärenkultur als ungeeignet für eine Propagation von Fettgewebs-Stromazellen einzustufen.

Unter serumfreien Bedingungen konnten Fettgewebs-Stromazellen lange überleben. Eine Differenzierung der Fettgewebs-Stroma-

zellen war unabhängig von ihrer Herkunft in adipogene, osteogene, chondrogene und endotheliale Richtung möglich. Adipogenese und Osteogenese waren auf die ersten 3-4 Passagen beschränkt, eine

Vorkultur in EGM-2 steigerte und verlängerte (ca. 12 Populationsverdopplungen lang gegenüber ca. 4 in DMEM) das Konvertierungspotential. Eine chondrogene Entwicklung der Zellen wurde unter Micromass-Bedingungen während der gesamten Kulturzeit erreicht. Die endotheliale Differenzierung gelang am besten in Matrigel mit Zellen früher Passagen (P1-P4). Die Konvertierbarkeit von Zellen verschiedener Spender unterschied sich sehr: Zellen junger Spender, sowie insgesamt stark proliferierende Zellchargen ließen sich in höherem Ausmaß in die einzelnen Zelltypen differenzieren.

Eine (mehrfache) Cryokonservierung von Fettgewebs-Stromazellen veränderte ihre Proliferations- und Differenzierungscharakteristika nicht.

## Fazit

Ausgehend von der Stammzelldefinition von Weissman [Science 2000 25;287(5457): 1442-62000] können aus dem humanen Unterhautfettgewebe isolierte Stromazellen als multipotente adulte Stammzellen bezeichnet werden: Sie lassen sich unter adhären ten Kul-

turbedingungen auf hohe Zellzahlen vermehren und zumindest in den ersten Passagen in mehrere mesenchymale Zelltypen konvertieren, erfüllen also die Kriterien der anhaltenden Selbsterneuerung und der Differenzierbarkeit in verschiedene Richtungen.

Humanes Fettgewebe stellt damit eine hervorragende Zellquelle für zukünftige Tissue Engineering Ansätze und Stammzell-(Re)Transplantationen dar. Die benötigte Menge an (spezialisierten) Zellen kann aus einem kleinen Gewebevolumen gewonnen werden.

Das Augenmerk ist nun auf eine GMP-gerechte Isolation und Kultivierung der Zellen

zu richten. Dies erfordert v.a. die Entwicklung eines serumfreien, definierten Mediumsystems. Eine Modifikation von EGM-2 könnte zur rascheren Amplifikation der Primärzellen und deren erfolgreicherer Differenzierung in multiple Richtungen dienen. Zukünftig sollte es möglich sein, in Stammzellbanken gelagerte patienteneigene Fettgewebs-Stromazellen zur Linderung oder gar Heilung vieler derzeit nur bedingt oder gar nicht behandelbarer Erkrankungen einzusetzen.

## Anschrift des Verfassers:

Dr. med. Sabine Fruth, Medizinische Klinik I, Klinikum Bayreuth, Preuschwitzer Str. 101, D-95445 Bayreuth; email: sabine-fruth@gmx.net

## Entwicklung einer Methode zur schnellen und umfangreichen Analyse des Phospho- und Shingolipidgehalts der humanen Serumlipoproteine VLDL, LDL und HDL mittels Massenspektrometrie

Dissertation (Dr. med.) aus dem Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Universitätsklinikums Regensburg (Direktor: Prof. Dr. med. Gerd Schmitz)

*Philipp Wiesner, San Diego, USA*

**Hintergrund:** Phospholipide, insbesondere Phosphatidylcholin und Sphingomyelin, sind neben Cholesterin, Cholesterinestern und Triglyceriden wichtige Bestandteile der humanen Lipoproteine VLDL, LDL und HDL. Phosphatidylcholin und Sphingomyelin dienen sowohl als strukturelle Komponenten als auch als Vorläufer der Verbindungen Lysophosphatidylcholine bzw. Ceramide. Diese Lipide haben Einfluss auf zentrale Schritte des Lipoproteinstoffwechsels und dienen als wichtige Regulatoren. Neben der direkten Wirkung dieser Lipide auf den Zell- und Lipidstoffwechsel wurden in den letzten Jahren außerdem Glycerophospholipid- und Sphingolipidspezies im Serum als Biomarker verschiedenster Krankheiten diskutiert.

Ziel der Arbeit war deshalb die Entwicklung einer Methode zur schnellen und umfangreichen Analyse des Gehalts an Cholesterin, Sphingo- und Glycerophospholipiden in den humanen Serumlipoproteinen VLDL, LDL und HDL, die die zentralen lipidtransportierenden Partikel im Serum darstellen.

**Methoden und Ergebnisse / Diskussion:** Aus 50 µl Serum wurden mit Hilfe einer Superose 6 FPLC-Chromatographiesäule in einem ersten Schritt die humanen Serumlipoproteine VLDL, LDL und HDL getrennt und fraktioniert. In einem zweiten Schritt wurden diese Fraktionen nach Delipidierung auf Cholesterin-, Phosphatidylcholin-, Lysophosphatidylcholin-, Phosphatidyl-ethanolamin-, Sphingo-

myelin, Ceramid- und Plasmalogengehalt mittels Elektrospray-ionisierung-Tandem-Massenspektrometrie untersucht.

Nach Validierung und Etablierung dieser Methode wurde die Methode einem ersten Praxistest unterzogen. Dabei wurde die Lipidzusammensetzung der Serumlipoproteine von 21 gesunden, nüchternen Blutspendern untersucht.

Es wurde gezeigt, dass sich etwa 60% des gesamten Lipoprotein assoziierten Ceramides im LDL und etwa 60% von Phosphatidylcholin, Phosphatidylethanolamin und Plasmalogenen im HDL befindet. Die drei Lipoproteinklassen VLDL, LDL und HDL zeigten außerdem charakteristische Phospho- und Sphingolipidspezieszusammensetzungen. Zusätzlich konnte durch Analyse eines HDL-defizienten Patientenserums (Tangier Disease) bestätigt werden, dass bei einer FPLC basierten Trennung von Lipoproteinen Albumin teilweise mit den HDL enthaltenden FPLC Fraktionen co-eluiert. Wie bereits aus der Literatur bekannt, konnten wir zeigen, dass ausschließlich Lysophosphatidylcholine jedoch keines der anderen untersuchten Lipide zusammen mit Albumin co-eluierten und eine Beeinflussung unserer Messergebnisse damit ausgeschlossen ist.

**Fazit.** Mit 50 µl Probenvolumen, geringer Probenaufbereitungs- und Analysezeit und der Möglichkeit eines hohen Probendurchsatzes ist diese Methode äußerst wertvoll zur schnellen Quantifizierung von Cholesterin-, Sphingo-



und Phospholipidgehalt der human Serumlipoproteine. Neben der Verwendung für Grundlagenforschung und klinische Studien zur detaillierten Untersuchung des Lipoproteinstoffwechsels ist außerdem der Einsatz der Methode in der Routinediagnostik möglich.

**Resultierende Publikation:**

Wiesner P, Leidl K, Boettcher A, Schmitz G, Liebisch G: Lipid profiling of FPLC-separated lipoprotein frac-

tions by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Lipid Res* 2009; 50:574-585

**Anschrift des Verfassers:**

Dr. med. Philipp Wiesner, Department of Medicine/Endocrinology, University of California, San Diego, 9500 Gilman Drive, La Jolla, CA, 92093; USA, email: pwiesner@ucsd.edu

## 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>

## Tagungs- und Kursankündigungen

### Minisymposium der Arbeitsgruppe Klinische Toxikologie der DGKL: **UPDATE Klinische Toxikologie – Klinik und Labor**

Beginn: 15.10.2009 (12 Uhr)

Ende: 16.10.2009 (16 Uhr)

Ort: Bildungszentrum Kloster Banz  
Hans-Seidel-Stiftung e.V., Kloster Banz, Kutschenhalle, 96231 Bad Staffelstein

#### **Programm:**

##### ***Donnerstag, 15. Oktober, Anreise bis 12 Uhr***

12:30 Uhr bis 14:00 Uhr: Mittagessen / Lunchbuffet, Kennenlernen

14:00 – 18:30 Vorträge und Diskussion

- Management von Vergiftungen in einer interdisziplinären Notaufnahme / Präklinik (Dodt)
- Management vergifteter Patienten in einer spezialisierten Klinik (Zilker)
- LC-MS in der forensischen Toxikologie: Einsatz und Erfahrungen (Weinmann)
- LC-MS in der klinischen Toxikologie: Einsatz und Erfahrungen (Degel)

19:00 Uhr: Abendessen, anschließend Ausklang im Bierkeller

##### ***Freitag, 16. Oktober:***

09:30 – 12:00 Uhr Vorträge und Diskussion

- LC-MS based techniques for quantification of organophosphorus compounds (John)
- Diuretika und Laxantienabusus (Maurer)
- Abklärung von Hypoglykämien beim Nicht-Diabetiker (Rentsch)

12:00 Uhr: Mittagessen / Fingerfood

13:30 – 16:00 Uhr Vorträge und Diskussion

- ASHT – Projekt der Europäischen Gemeinschaft: Frühwarnsystem für Terrorgefahren durch Chemikalien (Schaper)
- Analysenstrategien für akut-toxikologische Fragestellungen im internationalen Vergleich (Hallbach)
- Abschlussdiskussion

**Allgemeine Informationen:** Die Unterbringung erfolgt in Einzelzimmern im Klosterstil mit Dusche/WC. Der Selbstkostenbeitrag (Übernachtung, Verpflegung) beträgt 160,00 Euro und ist an der Rezeption bei der Abreise zu entrichten. Eine Teilnahmegebühr fällt nicht an.

**Anmeldung:** Die Teilnehmerzahl ist auf insgesamt 40 Personen beschränkt. Bitte melden Sie sich per e-mail an: [juergen.hallbach@klinikum-muenchen.de](mailto:juergen.hallbach@klinikum-muenchen.de)

Sie erhalten kurzfristig per e-mail eine Anmeldebestätigung. Sollten mehr Anmeldungen eingehen als Plätze vorhanden sind, gilt strikt das Eingangsdatum der Anmeldung.

Wir freuen uns auf Ihr Kommen und eine interessante Konferenz mit reichlich Diskussion in einem schönen Ambiente.

Mit herzlichen Grüßen

Dr. Fritz Degel (Nürnberg)

Dr. Jürgen Hallbach (München)

Ca. 10 Fortbildungspunkte Kategorie A der Bayerischen Landesärztekammer (beantragt)

8 Fortbildungspunkte der GTFCh (Klinische Toxikologie)

## 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 Blutzellendifferenzierung 2009

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

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

**Inhalt:** Übungen zur mikroskopische Blutzellendifferenzierung

**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

„Gemeinsamer Weg von Laboratoriums- und Transfusionsmedizin“

## 25 Jahre Jubiläumssymposium

Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin  
Herz- und Diabeteszentrum Nordrhein-Westfalen  
Universitätsklinik der Ruhr-Universität Bochum

27. und 28. November 2009, Bad Oeynhausen

---

### Grußwort

Liebe Kolleginnen und Kollegen,

zu unserem Jubiläumssymposium am Wochenende vor dem 1. Advent 2009 lade ich Sie herzlich ein. Nach 25 Jahren des Aufbaus des Institutes wollen wir einen Moment innehalten, um das Erreichte zu bewerten, und uns vergewissern, dass wir auf dem rechten Wege sind.

Der Anfang des Institutes für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin war ein vollständiger Neubeginn, und erfolgte gewissermaßen als Begleiterscheinung, als das Land Nordrhein-Westfalen im Jahre 1984 die damals in Deutschland etwas zurückgebliebene Herzchirurgie aktivieren wollte, zunächst außerhalb der noch staatlich-starren Universitäten. Den Gründungsvätern des Vorhabens wurde dabei bald klar, dass ein Betrieb der geplanten Hochleistungsmedizin ohne Laboratoriumsmedizin und Transfusionsmedizin nicht möglich war. Die Entwicklung des neuen Institutes beschreibt seither ein stetes Wachstum zu größeren Leistungszahlen in beiden Fachgebieten. Mittlerweile versorgt das Institut neben den Kliniken des Herz- und Diabeteszentrums Nordrhein-Westfalen (HDZ NRW) auch andere Krankenhäuser der Region. Der Uni-Blutspendedienst OWL ist zu einem der größten Universitäts-Blutspendedienste in Deutschland angewachsen, und durch die Neugründung der Tochtergesellschaft Uni.Lab OWL ist jetzt auch eine ambulante laborärztliche Versorgung der niedergelassenen Ärzte möglich. Darüber hinaus gehören durch die Integration des HDZ NRW in die Medizinische Fakultät der Ruhr-Universität Bochum im Jahre 1989 Forschung und Lehre zu den Aufgaben des Universitätsinstitutes.

Ihre besondere Aufmerksamkeit verdient die Entwicklung unseres Institutes auch deshalb, weil sie untypisch für die gegenwärtigen Veränderungen im Gesundheits- und Krankenhauswesen ist. Häufig werden bei der Strukturanpassung poststaatlicher Krankenhäuser Managementmethoden aus dem gewerblichen Bereich übernommen, die eine geringe Leistungstiefe anstreben, mit der Folge, dass viele klinisch-theoretische Fachgebiete in diagnostische Zentren außerhalb der Krankenhäuser verschoben werden. Einen anderen Weg beschreitet das Management des HDZ NRW. Ziel ist es hier, durch das Erreichen eines hohen universi-

tären Standards in der medizinischen Versorgung auch den wirtschaftlichen Erfolg des Unternehmens zu begründen.

Das wissenschaftliche Programm der Tagung umfasst ein breites Spektrum.

Wir freuen uns sehr, dass hochqualifizierte Wissenschaftler unserer Einladung gefolgt sind und ein Referat halten werden.

Unser Dank gilt auch den beiden Fachgesellschaften, der DGKL und DGTI, die die Schirmherrschaft übernommen haben.

Seien Sie herzlich willkommen in Bad Oeynhausen,

Ihr  
Prof. Dr. Knut Kleesiek

---

## **Vorläufiges Programm (Stand August 2009)**

Themen und geladene Redner

### **Freitag, 27. November 2009**

Virussicherheit von Blut und Blutprodukten:  
Aktueller Stand und künftige Herausforderungen  
*Prof. Dr. W. Kurt Roth, Frankfurt am Main*

Strategien zur Senkung des Sepsisrisikos von Bluttransfusionen  
*PD Dr. Jens Dreier, Bad Oeynhausen*

Transkriptionsfaktor C/EBP $\beta$  bei Entzündung und Malignität  
*Prof. Dr. Korbinian Brand, Hannover*

Molekulare Mechanismen und labordiagnostische Herausforderungen der Organfibrosen  
*Prof. Dr. Axel M. Gressner, Aachen*

Humane Xylosyltransferasen: Pathobiochemische Bedeutung und klinisch-chemische Diagnostik  
*PD Dr. Christian Götting, Bad Oeynhausen*

Das Krankenhaus zwischen Bedarfsdeckung und industriellem Management  
*Prof. Dr. Otto Foit, Bad Oeynhausen*

Erfolgsstrategien für das Krankenhauslabor im Wettbewerb  
*Prof. Dr. Heinrich Patscheke, Karlsruhe*

Die Transfusionsmedizin – Ein Querschnittsfach zwischen Labor und Klinik  
*Prof. Dr. Dr. Walter Sibrowski, Münster*

25 Jahre Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin  
*Prof. Dr. Knut Kleesiek, Bad Oeynhausen*

Festabend im GOP-Varieté

### **Samstag, 28. November 2009**

Bedeutung der Pharmakogenetik in der Blutgerinnung für die Therapie  
*Prof. Dr. Johannes Oldenburg, Bonn*

Reprogrammierte Stammzellen: Perspektiven für Forschung und Medizin  
*Dr. Tobias Cantz, Hannover*

Kardiometabolische Risikofaktoren  
*Prof. Dr. Arnold von Eckardstein, Zürich/CH*

Herzinfarktmarker – Welche Konsequenzen haben die hochsensitiven Troponine?  
*Prof. Dr. Karl J. Lackner, Mainz*

Labordiagnostik bei Transplantierten  
*Prof. Dr. Mathias M. Müller, Wien/AT*

Biomarker: Ein Bindeglied zwischen Drug Monitoring und Pharmakodynamik  
*Prof. Dr. Dr. Michael Oellerich, Göttingen*

Aktuelle Aspekte der Immunsuppression nach Herztransplantation  
*Prof. Dr. Jan Gummert, Bad Oeynhausen*

Führung durch das Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin



**Allgemeine Informationen**

<b>Schirmherrschaft</b>	Deutsche Vereinte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin (DGKL) Deutsche Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie (DGTI)
<b>Veranstalter</b>	Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin Herz- und Diabeteszentrum Nordrhein-Westfalen Universitätsklinik der Ruhr-Universität Bochum

**Wissenschaftlicher Leiter**

	Prof. Dr. med. Knut Kleesiek, Bad Oeynhausen
<b>Ort</b>	Herz- und Diabeteszentrum Nordrhein-Westfalen Universitätsklinik der Ruhr-Universität Bochum Großer Hörsaal Georgstraße 11 D-32545 Bad Oeynhausen
<b>Termin</b>	27. und 28. November 2009

**Teilnahmegebühren und Anmeldung**

Die Teilnahme am Jubiläumssymposium ist kostenfrei. Eine Voranmeldung ist erforderlich. Bitte nutzen Sie hierfür unser Online-Formular unter [www.conventus.de/hdz](http://www.conventus.de/hdz)

<b>Zertifizierung</b>	Die Zertifizierung des Symposiums wird bei der Ärztekammer Westfalen-Lippe mit 16 Punkten beantragt.
-----------------------	--

<b>Anreise und Unterkunft</b>	Eine Übersicht zur Anreise und zu verfügbaren Hotels finden Sie auf der Homepage <a href="http://www.conventus.de/hdz">www.conventus.de/hdz</a> .
-------------------------------	---

<b>Organisation</b>	Conventus Congressmanagement & Marketing GmbH Franziska Srp Markt 8 D-07743 Jena Telefon +49 (0)3641 35 33 22 38 Telefax +49 (0)3641 35 33 21 <a href="mailto:hdz@conventus.de">hdz@conventus.de</a> <a href="http://www.conventus.de/hdz">www.conventus.de/hdz</a>
---------------------	--

## Kongressbericht

### 18. Sächsisch-thüringisches Laborleitertreffen Burgstädt 3./4. April 2009

Thomas Demant, Dresden

Das sächsisch-thüringische Laborleitertreffen fand wie in den zurückliegenden Jahren im Hotel „Alte Spinnerei“ in Burgstädt bei Chemnitz unter der Leitung von Prof. Dr. Th. Demant (Dresden), Frau Dr. I. Schauer (Erfurt) und Prof. Dr. J. Thiery (Leipzig) statt. Es wurde von etwa 60 Laborleitern aus den beiden Bundesländern besucht. Das Programm umfasste elf Vorträge, die im Folgenden auf der Grundlage der vorgelegten Abstracts zusammengefasst werden.

**Dr. Katrin Borucki** (Institut für Klinische Chemie und Pathochemie, Universität Magdeburg): **Alkoholismuskmarker: Was leistet Ethylglucuronid?**

Akute Alkoholaufnahme oder chronischer Alkoholmissbrauch lassen sich über die Bestimmung von Ethanol im Blut bzw. von CDT (carbohydrate deficient transferrin) im Serum erfassen. Der Nachweis eines kürzlich - ein bis sieben Tage - zurückliegenden Alkoholkonsums - ist jedoch schwierig. Um diese diagnostische Lücke zu schließen, werden seit einigen Jahren neue Marker des akuten Alkoholkonsums diskutiert. Hierzu gehören die direkten Metabolite wie Ethylglucuronid (ETG) oder Fettsäureethylester (FAEE), sowie ein Stoffwechselprodukt des Serotonins, das 5-Hydroxytryptophol (HTOL) bzw. seine glucuronidierte Form, 5-Hydroxytryptophol-glucuronid (GTOL). Der geeignetste Marker ist nach dem derzeitigen Kenntnisstand das ETG, das als Phase II - Metabolit des Ethanols durch hepatische Glucuronidierung gebildet und renal eliminiert wird. Nach exzessivem Alkoholgenuss ist eine Nachweisbarkeit im Urin bis zu 80h,

nach einem geringfügigen einmaligen Alkoholkonsum 19-27h gegeben. Um eine standardisierte Auswertung der EtG-Konzentration im Urin zu gewährleisten, wird eine Normierung auf die Kreatininkonzentration im Urin empfohlen.

**Dr. Martin Fiedler** (Institut für Labormedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik, Universität Leipzig): **Diagnostik der Niereninsuffizienz.** Frühe Stadien der *chronischen Niereninsuffizienz*, die eine Erfolg versprechende Therapie erlauben würden, werden häufig nicht erkannt. Als Maß der Nierenfunktion dient die *glomeruläre Filtrationsrate (GFR)*, die meist anhand des *Kreatinins* im Serum und im Urin berechnet wird. Allerdings spiegelt Kreatinin aufgrund seiner komplexen Kinetik nur bedingt die GFR wider. Pathologische Werte lassen sich meist erst nachweisen, wenn die Nierenfunktion bereits um mehr als 50% vermindert ist. Neue Methoden zur Berechnungen der GFR (*MDRD-Formel*) berücksichtigen den Einfluss des Alters, des Geschlechtes und der Abstammung auf das Kreatinin. Die MDRD-Formel ist nur für den Bereich von 20-60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> evaluiert und insbesondere bei Kindern, Schwangeren, Erwachsenen >75 Jahren, Patienten mit schwerer Proteinurie, akutem Nierenversagen, schweren Begleiterkrankungen und Adipositas nicht ausreichend untersucht. *Cystatin C* (Cystein-Protease-Inhibitor) wird von allen kernhaltigen Zellen mit einer weitgehend konstanten Rate gebildet. In der Niere wird es glomerulär filtriert und anschließend fast vollständig tubulär reabsorbiert und metabolisiert. Die Serumkon-

zentration hängt somit nahezu ausschließlich von der GFR ab. Sie steigt bereits bei einer geringfügig verminderten GFR von 70-90 ml/min/1,73m<sup>2</sup> an, so dass Cystatin C für die Frühdiagnose der Niereninsuffizienz geeignet ist. Schilddrüsenerkrankungen und Steroide sind als Störfaktoren zu beachten.

Das *akute Nierenversagen (ANV)* ist eine häufige Komplikation hospitalisierter Patienten mit steigender Inzidenz und unverändert hoher Mortalität. Kreatinin ist aufgrund seines verzögerten Anstiegs als Frühmarker des ANV nicht geeignet. Cystatin C zeigt eine etwas bessere diagnostische Sensitivität. Aktuell werden mehrere neue Serum- und Urin-Marker zur Beurteilung der Inflammation und/oder tubulären Schädigung klinisch geprüft. Hierzu zählen insbesondere *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)*, *IL-18*, *Kidney injury molecule 1 (KIM-1)* und *Liver-type fatty acid-binding protein (L-FABP)*. Eine abschließende klinische Beurteilung ist noch nicht möglich.

**Prof. Dr. Thomas Arendt** (*Paul-Flechsig Institut für Hirnforschung, Universität Leipzig*): **Ein neuer diagnostischer Test für die Alzheimersche Erkrankung** Es wird ein neues nicht-invasives, kostengünstiges diagnostisches Konzept vorgestellt, mit dem es möglich ist, Patienten mit Alzheimerscher Erkrankung zu identifizieren und mit hoher Sensitivität und Spezifität von anderen Formen dementieller Erkrankungen abzugrenzen. Dieses Konzept beruht auf dem Nachweis einer *primären Störung der Zellteilungs- und Differenzierungskontrolle*. Infolge dieser Störung kommt es bei der Alzheimerschen Erkrankung in terminal differenzierten Neuronen zu einer Aktivierung des Zellzyklus, der partiell durchlaufen wird. Dabei wird teilweise oder vollständig DNA repliziert, und damit ein Signalweg aktiviert, der zur *Apoptose* führt. Diese Fehlregulation der Zellteilung bei der Alzheimerschen Erkrankung besitzt systemischen Charakter und ist daher nicht auf das Gehirn beschränkt, sondern in gleicher Weise *auch in peripher zugänglichen Zellen*, wie Blutlymphozyten nachweisbar. Die-

se Störungen sind nach mitogener Stimulation mittels Durchflusszytometrie (FACS) von Oberflächenmarkern quantifizierbar und treten bereits in sehr frühen Phasen der Erkrankung auf. Sie eignen sich daher als *Biomarker für die Frühdiagnostik* der Erkrankung. Eine Phase II-Studie an einer größeren Kohorte von Patienten mit Alzheimerscher Erkrankung, einer Vergleichskohorte dementieller Erkrankungen anderer Genese und gesunden Normalprobanden hat für diesen Test eine diagnostische Sensitivität und Spezifität von über 85% erbracht.

**Dr. Tobias Rupprecht** (*Neurologische Klinik, Klinikum der LMU Großhadern*): **Das Chemokin CXCL13 als Biomarker in der Liquordiagnostik der frühen Neuroborreliose.** Bei einem Screening-Test mittels Proteinarray wurde das Zytokin-Profil im Liquor von Neuroborreliose Patienten analysiert und per ELISA bestätigt. Dabei fanden sich bei zwei verschiedenen Spirochäten-Infektionen, der Neuroborreliose und der Neurolyues, deutlich erhöhte Werte des chemotaktischen Zytokins (=Chemokin) CXCL13, während dies bei gesunden Kontrollpatienten oder anderen infektiologischen oder inflammatorischen ZNS-Erkrankungen nicht der Fall war. Eine Differenzierung zwischen den beiden Spirochäten-Erkrankungen war über den Liquor-Serum Quotienten dieses Chemokins möglich, welcher nur bei der Neuroborreliose auf eine intrathekale Synthese hinweist. In vitro-Untersuchungen konnten diese Befunde weiter untermauern. Sowohl *Treponema pallidum* wie auch *Borrelia burgdorferi* induzieren die CXCL13-Sekretion in humanen Monozyten. Weiterhin ist bemerkenswert, dass bei der Neuroborreliose im Vergleich mit anderen inflammatorischen ZNS-Erkrankungen der höchste Anteil an B-Lymphozyten im Liquor zu finden ist und CXCL13 zu den wenigen B-Lymphozyten anziehenden Chemokinen gehört.

In der experimentell klinischen Anwendung war CXCL13 bereits frühzeitig nach Erkrankungsbeginn nachweisbar und ging teilweise

der Antikörperproduktion voraus. Dies wurde auch in einer aktuellen norwegischen Studie gezeigt, bei der CXCL13 bei der frühen Neuroborreliose im Trend eine höhere Sensitivität als der Borrelien-spezifische Antikörper-Index hatte (100% vs. 89%,  $p=0,053$ ). Zudem sinkt die CXCL13-Konzentration im Liquor unter Therapie auch rasch ab und zeigt somit einen Therapieerfolg an. In einer aktuellen Studie aus Ulm war dabei die Konzentration des CXCL13 im Liquor früher rückläufig als der Antikörper-Index oder die Liquor-Zellzahl. Daher könnte CXCL13 auch eine wichtige Rolle zur Verlaufskontrolle darstellen. Um die Sensitivität und insbesondere die Spezifität dieses Biomarkers zu ermitteln, läuft derzeit eine prospektive Studie an der Neurologischen Klinik der LMU München. Dabei können auch eingesandte Liquorproben analysiert werden. Um eine entsprechende Kontaktaufnahme über Tobias.Rupprecht@med.uni-muenchen.de wird gebeten.

**Dr. Petra Stieber** (Institut für Klinische Chemie, Klinikum Großhadern der LMU, München): **Tumormarker in der Verlaufskontrolle maligner Erkrankungen:** Aufgrund der fehlenden Tumor- und Organspezifität und der daraus resultierenden hohen Quote falsch positiver Befunde ist der Einsatz von Tumormarkern beim *Tumor-Screening* kontraindiziert. Nach wie vor umstritten ist die Bestimmung des PSA als Screening-Parameter für das Prostatakarzinom. Mit Ausnahme des AFP bei chronischen Lebererkrankungen sind die verfügbaren Tumormarker auch nicht zur Überwachung von Risikopatienten (z. B. familiärer Poliposis Coli, familiär gehäuftes Mamma-Ca.) geeignet.

**Bestimmungen vor der Ersttherapie:** Die präoperative Bestimmung der relevanten Marker als Ausgangspunkt der Verlaufsbeobachtung ist sinnvoll. Unter Umständen können Biomarker zur Tumorkonlokalisierung beitragen (z. B. PSA und Thyreoglobulin oder auch konzentrationsabhängig ProGRP und HER-2/neu). Die prognostische Information der Tumormarker geht bislang nur bei der S-Klassifikation der

Hodentumore in das Staging ein (Bestimmung von AFP, HCG und LDH).

**Bestimmungen nach der Ersttherapie:** Die Bestimmung der Tumormarker ca. 30 Tage nach Beendigung der ersten Therapie (Operation und evt. Radio/Chemotherapie) ist von größter Bedeutung, um die für die gesamte weitere Nachsorge relevanten individuellen Basiswerte zu ermitteln. Im Falle einer kompletten Tumorentfernung (R0-Resektion) sollen die Tumormarker in den Referenzbereich, besser noch auf den Median oder darunter abfallen. Im gesamten weiteren Krankheitsverlauf orientiert sich die Interpretation der Tumormarker nur noch an diesen individuellen Basiswerten, Referenzbereiche haben hier keine Bedeutung.

**Rezidivkontrolle:** Mit Hilfe der in definierten Zeitintervallen durchgeführten Tumormarkerbestimmung kann ein Rezidiv oft lange vor der klinisch manifesten Progression angezeigt werden. Ein Anstieg von PSA, CEA, CA 15-3 oder CA 125 auf das Doppelte des individuellen Basiswertes nach Primärbehandlung ist ein deutlicher Hinweis auf ein Tumorrezidiv oder eine Metastasierung. Für das kolorektale Karzinom ist ein Überlebensvorteil durch eine postoperative Kontrolle des CEA inzwischen durch eine Metaanalyse belegt. Problematisch ist die Situation bei Tumoren mit begrenzten chemotherapeutischen Möglichkeiten (z. B. Bronchial- und Magenkarzinom), bei denen trotz frühzeitiger Rezidivdiagnose kein wesentlicher Überlebensvorteil erreicht werden konnte.

**Therapiekontrolle im fortgeschrittenen Tumorstadium:** Es besteht eine gute Korrelation zwischen der Änderung der Tumormarkerkonzentration unter Therapie und dem klinischen Zustandsbild (Remission oder Progression). Nur bei Wiedererreichen der individuellen Basiswerte ist auch eine „biochemischen Remission“ erreicht. In der Überwachung fortgeschrittener Tumorstadium kann der stufendiagnostische Einsatz von onkologischen Biomarkern und Bildgebung zu deutlicher Kostenreduktion führen. Bei gleichbleibender Sympto-

matik und kontinuierlicher Abnahme der Tumormarker kann die bildgebende Diagnostik in wesentlich grösseren Intervallen stattfinden. Aufgrund fehlender Studien ist derzeit die Tumormarker-Änderung allein noch keine Indikation für eine Therapieänderung oder -induktion (Ausnahme HCG beim Hodentumor).

Bei kritischer Auswahl der Tumormarker, Bestimmung eines postoperativen Basiswertes und Beibehaltung des gleichen standardisierten Tests leisten Tumormarker einen wichtigen Beitrag zur Rezidivdiagnostik, Prognosefindung und Therapiebeurteilung.

**Prof. Dr. Gunter Haroske** (*Institut für Pathologie, Krankenhaus Dresden-Friedrichstadt, Dresden*): **Bedeutung von k-Ras Mutationen für die Therapie des Colonkarzinoms.** Histopathologische Diagnosen haben oft auch eine prädiktive Komponente hinsichtlich der Abschätzung des weiteren Verlaufs einer individuellen Erkrankung. Für die Tumordiagnostik wurde in den letzten Jahren eine ganze Reihe von tumorbiologischen „events“ entdeckt, die zunehmend Ansatzpunkte für maßgeschneiderte Therapien sind. Die diagnostische Bewertung zum Vorhandensein derartiger Veränderungen im Tumorgewebe gibt also auch Aufschluss darüber, ob eine bestimmte Therapie überhaupt ansprechen kann. Angesichts sehr hoher Therapiekosten und nicht zu vernachlässigender Nebenwirkungen wird diese Form einer prädiktiven Diagnostik daher immer wichtiger. Für die Chemotherapie der sehr häufigen kolorektalen Karzinome stehen seit zwei Jahren zwei zugelassene Immuntherapeutika (Cetuximab und Panitumumab) zur Verfügung, deren Indikationsstellung den Nachweis der Zielstrukturen am Tumorgewebe einschließt. Das betrifft sowohl den direkten Angriffspunkt des EGF-Rezeptors an der Zellmembran, als auch nachgeschaltete Strukturen in der Signaltransduktion vom Rezeptor bis zur DNA-Synthese. Es hat sich gezeigt, dass Tumoren mit Mutationen im k-Ras-Gen trotz Rezeptorblockade ungehindert weiterwachsen, d. h. für diese Therapie nicht geeignet sind. Der Nachweis des k-Ras-Mutationsstatus im

Tumorgewebe ist also vor einer jeden solchen Therapie zu erbringen. Die dafür erforderlichen molekularpathologischen Verfahren sind morphologiebasiert und stehen qualitätskontrolliert zur Verfügung. Aufgrund der Häufigkeit der o. g. Tumoren zeichnen sich jedoch Kapazitäts- und Kostenprobleme ab. Diese Probleme werden noch dadurch verschärft werden, dass k-Ras ja nur ein Schritt in der Signaltransduktion vom Rezeptor zum Effektor ist, dem mehrere andere Schritte vor- und nachgeschaltet sind, die selbst wiederum durch zahlreiche Rückkoppelungen verbunden ebenfalls sowohl Zielstruktur von neuen Therapien als auch von Einfluss auf die bekannten Rezeptorblockaden sein können. Mit b-Raf wurde bereits ein solcher Faktor identifiziert, dessen Bestimmung zur Vorhersage von Therapieversagen einer EGFR-Blockade bei k-Ras-Wildtyp genutzt wird. Angesichts der Dynamik der Entwicklung neuer maßgeschneiderter Chemotherapeutika ist in naher Zukunft mit einer wachsenden Zahl von subzellulären Strukturen zu rechnen, die selbst oder deren kodierende Gene diagnostisch zugänglich gemacht werden müssen, um eine bestimmte Therapie rechtfertigen zu können.

**PD Dr. Lutz Jatzwauk** (*Zentralbereich Krankenhaushygiene, Universitätsklinik der TU Dresden*): **MRSA-Screening.** Die kontinuierliche Zunahme von MRSA-Infektionen in deutschen Krankenhäusern lässt eine Veränderung der bisherigen Präventions- und Bekämpfungsmaßnahmen notwendig erscheinen. Während die klassischen Hygienemaßnahmen wie Isolierung und Dekolonisation zunehmend kontrovers diskutiert werden, ist eine Intensivierung des Screenings der Patienten bei der Aufnahme Teil der Empfehlungen aller Fachgesellschaften bzw. Überwachungsbehörden. Man unterscheidet zwischen generellen, selektiven oder sporadischen Untersuchungen der aufgenommenen Patienten auf Kolonisation mit MRSA. *Sporadisches Screening* wird nur bei Verdachtsfällen (bekannter MRSA Patienten) realisiert. Die Gefahr, unerkannt MRSA-Patienten aufzunehmen ist hier am größten. *Selektives Screening* schließt die Untersu-

chung von Patienten mit bestimmten Risikofaktoren ein, *generelles Screening* alle Patienten bestimmter Krankenhausbereiche (Intensivstationen, Dialyse, onkologische Stationen). Letztgenanntes führt zu erheblichen Untersuchungskosten.

In Schweden, Dänemark, den Niederlanden und Großbritannien wird selektives Screening mit präventiver Isolation und MRSA-Sanierung bei Patienten und medizinischem Personal durchgeführt, wobei der Effekt auf die MRSA-Inzidenz unterschiedlich ist. In Deutschland und Frankreich werden meist Risikopatienten auf MRSA-Kolonisation untersucht. In Frankreich gehen die MRSA-Raten zurück. In Deutschland ist dagegen auch in den letzten Jahren ein weiterer Anstieg zu verzeichnen. Als Screeningmethoden kommen kulturelle (Selektivmedien) sowie PCR-basierte Nachweisverfahren (unterschiedliche Primersequenzen) zum Einsatz. Die meisten gentechnischen Verfahren haben einen ausreichend hohen negativen prädikativen Wert und sind damit zum Ausschluss eines MRSA-Trägertums gut geeignet. Hinsichtlich des Ortes, an dem die Screening-Abstriche entnommen werden, unterscheiden sich die Studien deutlich. Die höchste Sensitivität bei minimalen Kosten erscheint die Kombination eines Nasenabstrichs mit eventuell vorhandenen Wunden oder Hautläsionen. Es gibt bisher unterschiedliche Studienergebnisse über die Wirksamkeit von MRSA-Screening-Methoden und deren Einfluss auf die Inzidenz bestimmter nosokomialer Infektionen. Das ist auch nicht verwunderlich, da das anschließende Hygieneregime Unterschiede aufweist. Mit Screening allein, lassen sich keine Infektionen verhüten. Da man mit EUR 5.000 - 10.000 an zusätzlichen Kosten bei Auftreten von MRSA-Infektionen rechnen muss, erscheint das Screening schon dann für ein Krankenhaus kosteneffektiv, wenn dadurch nur wenige MRSA-Infektionen verhindert werden. Besonderes Augenmerk muss allerdings auf die Überwachung von MRSA-Infektionen gelegt werden, um das bestehende antimikrobielle Gesamtkonzept regelmäßig neu zu bewerten.

**Prof. Dr. Detlef Michel** (*Institut für Virologie, Universitätsklinikum Ulm*): **Virusinfektionen in der Schwangerschaft (Teil I: CMV, Parvovirus, HCV)**. Bei viralen Infektionen in der Schwangerschaft ist dem Infektionszeitpunkt großes Augenmerk beizumessen, da eine Infektion im ersten Trimenon unter Umständen andere klinische Auswirkungen haben kann als im zweiten oder dritten Trimenon, wie dies z.B. bei einer Rötelninfektion der Fall ist. Zu unterscheiden sind diaplazentar übertragbare Viren, die entweder teratogen (z.B. Rubellavirus, Zytomegalievirus, Varizella-Zoster-Virus) oder primär nicht teratogen sind (z.B. Parvovirus B19, HIV und HCV) und hauptsächlich perinatale Infektionen (z.B. HSV-2, HIV, HPV, HBV, HCV).

Serologische Untersuchungen in der Schwangerschaft bringen oft „zufällig“ positive IgM-Antikörper-Befunde zutage. Hier gilt es, durch eine gute Anamnese und eine geeignete virologische Stufendiagnostik (z.B. Aviditäts-Blots mit dem Nachweis neutralisierender Antikörper, Komplementbindungsreaktion oder Neutralisationstests) den Infektionszeitpunkt einzugrenzen oder zu zeigen, dass es sich um bereits länger persistierende IgM-Antikörper handelt. Im Rahmen *konnataler Zytomegalievirus-Infektionen* haben in neuerer Zeit intrauterine Heilungsversuche mit Hyperimmunglobulinen Erfolge erbracht. Eine antivirale Behandlung zeigte positive Ergebnisse mit Hörverbesserungen allerdings auch deutliche Leukopenien. Das Fehlen von IgM-Antikörpern trotz einer Infektion kann ebenfalls ein diagnostisches Problem darstellen. So bedürfen *Infektionen mit Parvoviren* einer besonderen Aufmerksamkeit, da sich etwa der fetale Hydrops in der Regel erst 2-6 Wochen nach der akuten Infektion der Schwangeren manifestiert. Zu dieser Zeit können die spezifischen IgM-Antikörper im mütterlichen Serum bereits nicht mehr nachweisbar sein. Auch hier sind eine gute Anamnese und Zusatzuntersuchungen essentiell, da ein Heilungsversuch durch eine intrauterine Bluttransfusion meist zu einer Rückbildung des Hydrops führt, wogegen schwere Fälle unbe-

handelt fast immer zum intrauterinen Fruchttod führen.

Ein weiteres Feld virologischer Probleme stellt das *Stillen* dar. Auch hierzu einige Beispiele.

Über 90% aller Zytomegalievirus-seropositiven Schwangeren reaktivieren das Virus lokal im Brustgewebe, ohne eine systemische Infektion zu zeigen. Virushaltige Zellen werden mit der Milch an das Neugeborene weitergegeben, stellen aber für einen normal entwickelten Säugling kein Problem dar. Untergewichtige Frühgeborene sollten dagegen keine unbehandelte Muttermilch oder nur Milch einer sero-negativen Frau bekommen. HIV-positive Mütter sollten nicht stillen. Bei HCV-positiven Müttern hat sich gezeigt, dass (i) eine Entbindung durch einen Kaiserschnitt hinsichtlich einer HCV-Übertragung auf das Kind keinen Vorteil bringt, (ii) invasive diagnostische Eingriffe das intrauterine Infektionsrisiko erhöhen und (iii) bisher keine Hinweise bestehen, dass HCV-haltige Zellen mit der Milch übertragen werden. Daher spricht momentan nichts gegen eine Stillempfehlung bei diesen Frauen.

**Prof. Dr. Barbara Pustowitz** (*Medizinische Fakultät, Universität Leipzig*): **Virusinfekte in der Schwangerschaft (Teil II: Röteln)** Am Beispiel der *Rötelnstufendiagnostik* wird die Vielfalt von verschiedenen serologischen Tests sowie die Vergleichbarkeit von Testergebnissen untereinander erörtert. Für Röteln wird derzeit der Immunstatus von Schwangeren mittels Hämagglutinationshemmungstest (HHT) mit einem Titer von mindestens 1:32 als positiv bewertet. Eine Festlegung von festen Schwellenwerten für Rötelnimmunität (10 bzw. 15 IU/ml) im Röteln-IgG-ELISA ist jedoch aufgrund vieler Einflussgrößen (Puffer, Antigene, Detektionssysteme, Standardseren u.a.) insbesondere bei niedrigen Antikörperspiegeln schwierig. Um dem Rechnung zu tragen, sollte nach der Empfehlung des Fachausschusses „Virusinfektion und Schwangerschaft“ der DVV und GfV die Mutterschaftsrichtlinie geändert werden. Die Überprüfung der Rötelnimmunität soll künftig mittels zugelassenen Tests erfol-

gen, wobei bei positivem Röteln-IgG-Antikörper-Nachweis entsprechend der Vorgaben der Hersteller Immunität anzunehmen ist. Bei einem negativen Testergebnis ist nach Beendigung der Schwangerschaft unbedingt eine Rötelnimpfung vorzunehmen.

Die effektivste Maßnahme, das kongenitale Röteln Syndrom zu verhindern, ist die zweimalige Rötelnimpfung in der Kindheit. Umfassende epidemiologische Erhebungen, die die aktuelle gute Durchseuchungslage und Impfrate bei Frauen im gebärfähigen Alter in Deutschland aufzeigen, ermöglichen die Abschaffung des generellen Röteln-Antikörper Screenings in der Schwangerschaft. Durch Dokumentation im Impfpass können außerdem geschützte von ungeschützten Schwangeren unterschieden werden. Zukünftig sollte nur bei Schwangeren mit unbekanntem Impfstatus ein Test auf Röteln-IgG-Antikörper durchgeführt werden. Bei Verdacht auf eine Rötelninfektion in der Schwangerschaft muss jedoch weiterhin die komplexe Rötelnstufendiagnostik mit Immunblot, Aviditätsbestimmung und Elispot Anwendung finden.

Unter Berücksichtigung der Inzidenz aller Infektionskrankheiten in Deutschland sollte zukünftig anstelle des Röteln-Antikörper Screenings eine generelle Testung aller Schwangeren auf CMV-, Parvovirus B19- und Toxoplasmaantikörper durchgeführt werden.

**Prof. Dr. Gabriele Siegert** (*Institut für Klinische Chemie und Labormedizin, Universitätsklinik der TU Dresden*): **Neue Antikoagulantien.** Antikoagulantien werden sowohl in der Thromboseprophylaxe als auch in der Therapie thromboembolischer Ereignisse im venösen und arteriellen Gefäßsystem eingesetzt. Zu den *herkömmlichen Antikoagulantien* werden die Vitamin-K-Antagonisten und die Standardheparintherapie mit unfraktioniertem Heparin gerechnet. Nachteile der Cumarintherapie sind die erforderliche Überlappung mit Heparin in der Einstellungsphase nach einer Thrombose, ein Monitoring über die INR sowie das Risiko für gastrointestinale und cerebrale Blutungen insbesondere bei Patienten über 65

Jahre. Die Therapie mit Standardheparin erfordert eine parenterale Applikation der sulfatierten Glycosaminoglykane uneinheitlicher Molekülmasse. Probleme des Monitorings ergeben sich insbesondere aus der unterschiedlichen Empfindlichkeit von aPTT-Reagenzien.

*Neue Antikoagulanzen* werden nach der Art ihrer Wirkung (direkt oder indirekt), nach dem Zielfaktor (Faktor Xa- oder Thrombin-Inhibitoren) sowie nach der Gabe (parenteral oder peroral) unterschieden.

Niedermolekulare Heparine sind Fragmente mit einer Molekülmasse von 4 – 8 kDa, sie besitzen eine besser kalkulierbare antikoagulatorische Wirkung, sind biologisch besser verfügbar und haben eine längere Halbwertszeit. Ihre Affinität zu Faktor Xa ist höher als zu Thrombin. Laborkontrollen sind nur in Sonderfällen wie bei Verdacht auf Dosierungsfehler, Niereninsuffizienz, Körpergewicht < 50 kg oder > 100 kg oder mangelhafter Compliance des Patienten erforderlich. Die Kontrolle des Wirkspiegels erfolgt über die Anti Xa-Aktivität bei einem Wirkspiegel 3 h nach Injektion.

Eine *alternative Antikoagulation bei Heparin induzierter Thrombozytopenie* kann mit dem Danaparoid (Orgaran®), dem direkten Thrombininhibitor Lepirudin (Refludan®) sowie dem univalenten, reversiblen Thrombininhibitor Argatroban (Argatra®) erfolgen. *Danaparoid* ist ein Heparinoid, das den Faktor Xa und in geringem Maß Thrombin hemmt. Die Therapie erfolgt als Dauerinfusion nach einem Bolus. Die Halbwertszeit ist lang, bei Niereninsuffizienz ist eine Dosisanpassung erforderlich. Das Monitoring erfolgt durch Bestimmung des Anti Xa-Spiegels nach spezieller Kalibration. *Lepirudin* ist ein aus Hefezellen hergestelltes rekombinantes DNA-Produkt. Die Therapie erfolgt nach einem Bolus gefolgt von Dauerinfusion mit dem Ziel einer gegenüber dem Ausgangswert um das 2,5-fache verlängerten aPTT (Reagenzabhängigkeit), Thrombinzeit oder Ecarin-Clotting-Time, mit erster Kontrolle 4 Stunden nach Therapiebeginn. *Argatroban* ist ein synthetisches Arginderivat, dessen Wirkungsmaximum unmittelbar nach i. v. Gabe erreicht

wird, die Halbwertszeit beträgt 40 – 50 min. Die Metabolisierung erfolgt in der Leber, die Ausscheidung über Faeces und Urin. Therapieziel ist eine 1,5- bis 3,0-fach verlängerte aPTT (Achtung: Reagenzunterschiede). Eine Dosisanpassung ist bei Leberinsuffizienz erforderlich, jedoch nicht bei Niereninsuffizienz. Als Thrombininhibitor hemmt Argatroban die Prothrombinzeit sehr stark (Thromboplastinzeit < 10 %, INR ~ 4), die Bestimmung von Antithrombin über Hemmung von Thrombin führt zu falschen Ergebnissen.

*Pentasaccharide*: Aus der Beobachtung, dass für die Wirkung der Heparine die Bindung einer Sequenz von 5 Zuckermolekülen an das Antithrombin verantwortlich ist, folgte die Synthese kurzer Sequenzen. In Deutschland zugelassen ist *Fondaparinux* (Arixtra®), eine Substanz, die Antithrombin-vermittelt ausschließlich Faktor Xa hemmt. Der Wirkungseintritt erfolgt rasch bei hoher Bioverfügbarkeit. Das Monitoring ist über Anti Xa-Spiegel nach spezieller Kalibration möglich. Der Abnahmezeitpunkt 4 h nach der Injektion als Wirkspiegel oder vor der nächsten Gabe als Talspiegel ist für die Dosierung sehr wichtig.

*Oral zu verabreichende Faktor Xa- und Thrombin-Inhibitoren*: *Rivaroxaban* (Xarelto®) ist der erste orale direkte F.-Xa-Inhibitor mit den Eigenschaften: täglich einmalige Einnahme, vorhersagbare Pharmakokinetik, hohe orale Bioverfügbarkeit, schneller Wirkungseintritt sowie einer fixen Wirkstoffdosis. Ein Monitoring ist nicht erforderlich. Das Medikament hat seit Oktober 2008 eine Zulassung zur Thromboseprophylaxe bei orthopädischen Eingriffen. Eine Zulassung für Therapieindikationen wird nicht vor 2010, bei Vorhofflimmern nicht vor 2011 und für weitere Prophylaxeindikationen nicht vor 2012 erfolgen. Für Gerinnungsuntersuchungen unter der Medikation ist zur Zeit bekannt, dass eine Wirkungskontrolle über die Thromboplastinzeit mit dem Reagenz Neoplastin über die Gerinnungszeit (13–25 Sek.) möglich ist, eine Kontrolle über Anti-Xa befindet sich in Vorbereitung. Die aPTT ist verlängert, Angaben zum Reagenz liegen nicht vor.



Eine Antithrombin-Bestimmung über Xa ist nicht möglich. *Dabigatran* (Pradaxa®), hemmt freies und an Fibrin gebundenes Thrombin durch reversible Bindung an die „active site“ des Thrombins. Seine Eigenschaften sind: Einfache Anwendung, kein Routine-Monitoring der Antikoagulation, keine Restriktionen in der Nahrungsaufnahme, niedriges Potenzial für Medikamenten-Interaktionen, rascher Beginn und rasches Ende der Antikoagulations-Wirkung, Halbwertszeit 14 – 17 Stunden, Wirkungsmaximum nach 2 Stunden. *Dabigatran* ist in Deutschland seit April 2008 zur Thrombose-Primärprophylaxe nach Knie- oder Hüftgelenkersatzoperation zugelassen. Es wird derzeit in weiteren Studien zur Schlaganfallprävention bei Vorhofflimmern untersucht. Mit ersten Ergebnissen rechnet man Ende 2009. Die Langzeitdaten für die Sicherheit von *Dabigatran* fehlen noch. Eine Laborkontrolle ist noch nicht einheitlich geklärt. Gerinnungszeiten von Thromboplastinzeit und aPTT sind verlängert (auch bei Einzelfaktoranalyse), die Thrombinzeit ist verlängert, Fibrinogen nach Clauss ist falsch vermindert, eine Antithrombinbestimmung über Thrombin ist nicht möglich. Auch wenn bei der Verabreichung neuer Antikoagulanzen kein Monitoring erforderlich ist, muss ihr Einfluss bei der Bewertung von Laborergebnissen beachtet werden um Fehlinterpretationen zu vermeiden.

**Peter J. Kuhl** (*Bioscientia GmbH, Ingelheim*): **Labor-Prävention. - Der ideale IGeL-Einstieg.** Es werden drei Ebenen der Prävention unterschieden: *Primärprävention* bezeichnet die generelle Vermeidung auslösender oder vorhandener Teilursachen (Risikofaktoren) bestimmter Erkrankungen bzw. Gesundheitsstörungen. *Sekundärprävention* bezieht sich zum einen auf die Entdeckung eines noch symptomlosen Frühstadiums einer Krankheit und vor allem deren erfolgreiche Frühtherapie, zum anderen die Verhinderung eines Wiedereintritts eines Krankheitsereignisses nach erfolgter Ersterkrankung. *Tertiärprävention* wird

häufig verstanden als die Behandlung einer symptomatisch gewordenen Erkrankung mit dem Ziel, ihre Verschlimmerung zu verhüten. Prävention muss neben der Kuration, Pflege und Rehabilitation zur vierten Säule im Gesundheitswesen werden, wenn wir die gesetzliche Krankenversicherung (GKV) zukunftssicher machen wollen. Gesellschaftlich und ökonomisch kann diese Herausforderung nur bewältigt werden, wenn heute die Investitionen, die derzeit für den gesamten Gesundheitsschutz und Prävention lediglich 3,8% der Gesundheitsausgaben betragen, für lang- und mittelfristig wirksame Prävention verstärkt werden. 25–30 % der heutigen Gesundheitsausgaben ließen sich in Deutschland dadurch theoretisch vermeiden. Der Nachweis konkreter finanzieller Entlastung, die für die Primärprävention schwer zu führen ist, wird durch moderne labordiagnostische Verfahren für die Sekundärprävention schon erbracht. Besondere Präventionspotentiale bestehen dabei im Bereich der Früherkennung von Krebserkrankungen, der Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Diabetes mellitus, Nierenerkrankungen und Osteoporose. Nicht alle gesetzlichen Vorsorgeprogramme sind auf dem neusten Stand und sie decken bei weitem nicht alles ab, was inzwischen an sinnvoller Diagnostik möglich ist. Damit bietet sich den Ärzten die Chance, ihre Patienten im Einzelfall sinnvolle labordiagnostische Maßnahmen als Selbstzahlerleistung anzubieten. Ein gutes IGeL-Konzept muss allen Beteiligten – Patient, Arztpraxis und Labor – Transparenz, Rechtssicherheit und vereinfachte Abläufe bieten, von der Auftragserteilung bis zur Rechnungsstellung.

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

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

## 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 Bürosoftware

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 Entwicklungswerkzeuge 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**

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.