

11. Heidelberger Symposium "Neue Entwicklungen in der Hämostaseologie"

vom 28. bis 30. April 1994, Heidelberg

Malignome und Hämostase

Klinische Phänomene und pathobiochemische Mechanismen

Veränderungen des Hämostasesystems bei malignen Erkrankungen und deren klinische Bedeutung

H. D. Bruhn, K.-H. Zurborn

I. Medizinische Universitätsklinik, Schittenhelmstraße 12, 24105 Kiel

Venöse Thromboembolien als Folge von Makrothrombosen sowie akute und chronische Verbrauchskoagulopathien treten als Komplikationen solider Tumoren auf (mit klinisch manifester Symptomatologie in 10 - 20 % der Fälle, biochemisch nachweisbar anhand einer Gerinnungsaktivierung in 70 - 80 % der Fälle). Venöse Thromboembolien und Blutungen (auf dem Boden von Verbrauchskoagulopathien) sind nicht selten Erstmanifestationen und -symptome eines bis dahin okkulten Tumorleidens. Biochemisch ist die Freisetzung von Tumorzellen-Thromboplastinen mit entsprechender Gerinnungsaktivierung und Induzierung einer Tumor-Hyperkoagulabilität ursächlich anzusehen.

Die Gerinnungsaktivierung (und auch Fibrinolyseaktivierung) ist jedoch zusätzlich auch von klinischer Bedeutung für Tumor-Metastasierung und Tumorwachstum. In eigenen Untersuchungen konnte demonstriert werden, daß Thrombin als Wachstumshormon für die Proliferation von Tumorzellen zu gelten hat. Ein vergleichbarer Einfluß des Fibrinolyseystems auf das Tumorzellwachstum ist beschrieben worden. Entsprechende therapeutische Ansätze sind zu diskutieren.

Eine Tumor-induzierte Gerinnungsaktivierung läßt sich mit Hilfe der neueren Thrombinmarker registrieren (Fibrinopeptid A, Thrombin-Antithrombin III Komplexe, Prothrombinaktivierungspeptid F1 + 2). Bei immunologischer Messung mittels monoklonaler Antikörper ist Fibrinmonomer ein wichtiger quantitativer Parameter für eine klinisch relevante Gerinnungsaktivierung bei Tumorpatienten. Die Messung von Fibrinmonomer wird ergänzt durch die Messung eines Parameters für die Fibrinolyseaktivierung oder eines Parameters wie D-Dimer, der eine Gerinnungs- und Fibrinolyseaktivierung widerspiegelt. Die Kombination beider Parameter ist besonders bei Tumorpatienten von hoher diagnostischer Aussagekraft und gestattet auch Hinweise auf notwendige therapeutische Interventionen (Antikoagulantien, Gabe von Fibrinolytika oder Antifibrinolytika je nach klinischer Situation).

Die Rolle der Thrombozyten und des Endothels bei Malignomen

H. Patscheke

Klinikum Karlsruhe, Moltkestraße, 76133 Karlsruhe

Eine hämatogene Metastasierung beinhaltet einen komplexen Mehrschritt-Prozess, bei dem zirkulierende Tumorzellen zunächst in der Mikrozirkulation aufgehalten werden und ins Gewebe gelangen müssen, bevor sie dort proliferieren können. Hierzu sind Interaktionen der Tumorzellen mit anderen Zellspezies erforderlich. Sie reichen von Interaktionen mit dem Endothel oder Blutzellen, um zunächst abgefangen zu werden, bis zur Stimulierung der Angiogenese zur adäquaten Blutversorgung des wachsenden Tumors.

Aus Tiermodellen ist seit mehr als 20 Jahren bekannt, daß Thrombozyten die Entwicklung von Lungenmetastasen fördern können. Eine

Thrombozytopenie oder Hemmung der Plättchenfunktion senkt in vielen Modellen die Metastasierungsrate nach einer Injektion von Tumorzellen. Das gilt jedoch nicht unterschiedslos für alle Tumoren. Für eine Reihe von Tumorzelllinien konnte gezeigt werden, daß sie an aktivierten Endothelzellen adhären und sich insofern ähnlich verhalten wie Leukozyten vor ihrer Extravasation in einem Entzündungsgebiet. Die Erkennungsmechanismen, die dabei zur Leukozyten-Endothelzell-Interaktion führen, sind in den letzten Jahren näher charakterisiert worden. Maßgebend sind dabei Adhäsionsrezeptoren und ihre Liganden auf Leukozyten und Endothelzellen. Für eine wachsende Zahl von Tumorzelllinien wird deutlich, daß sie über ganz ähnliche Bindungen mit Plättchen und Endothelzellen interagieren. Mit Kohlenhydrat- und Peptid-Inhibitoren sowie monoklonalen Antikörpern, die die Funktionen von P-, E- oder L-Selektinen oder von Plättchen-Integrinen hemmen, lassen sich die Interaktionen von Tumorzellen mit Endothelzellen und Plättchen in vitro und eine experimentelle Metastasierung in vivo hemmen. Möglicherweise folgen Tumorzellen bei ihrer Absiedlung ähnlichen Mechanismen der Zell-Zell-Interaktion wie sie physiologischerweise von Granulozyten und Monozyten an der Blutgefäßwand benutzt werden.

Da sich die Präsenz der Erkennungsproteine und ihrer Liganden von Tumor zu Tumor unterscheidet, läßt sich die unterschiedliche Rolle erklären, die den Thrombozyten bei der Metastasierung verschiedener Tumoren zukommt. Auch Endothelzellen exprimieren Adhäsionsmoleküle in den Gefäßen verschiedener Organe in Art und Ausmaß unterschiedlich. Damit könnte auch die Tatsache erklärt werden, daß manche Tumoren bevorzugt in bestimmte Organe metastasieren.

Hämostasestörungen bei myeloproliferativen Erkrankungen

A. Wehmeier

Heinrich-Heine-Universität, Klinik für Hämatologie, Onkologie und klinische Immunologie, Moorenstraße 5, 40225 Düsseldorf

Blutungen und Thrombosen sind die häufigsten klinischen Komplikationen bei chronisch myeloproliferativen Erkrankungen. Sie können zur Invalidisierung führen und stellen bei ca. 30 % der Patienten das zum Tode führende Ereignis dar. Lediglich bei chronisch myeloischer Leukämie (CML) steht der Übergang in die Blastenkrise im Vordergrund der klinischen Entwicklung. Bei CML Patienten sind Thrombosen kaum häufiger als in der Normalbevölkerung, während gut die Hälfte aller Patienten mit Polyzythämie und etwa ein Viertel der Patienten mit essentieller Thrombozythämie im Verlauf ihrer Erkrankung vielfach wiederholt unter venösen oder arteriellen Thrombosen und Embolien sowie Mikrozirkulationsstörungen der Extremitäten leiden. Bei Polycythämia vera (PV) überwiegen dabei die venösen Thrombosen, während Patienten mit essentieller Thrombozythämie (ET) meist über Durchblutungsstörungen im Bereich der Zehen und Finger klagen. Bei primärer Osteomyelofibrose kommt es bei zunehmender Fibrosierung des Knochenmarkes vermehrt zu Blutungen, die durch die Thrombozytopenie noch verstärkt werden. Auch in der ausgebrannten Phase der PV und bei Akzeleration einer CML nimmt die Neigung zu Blutungen und Thrombosen zu.

Außer Typ und Stadium der myeloproliferativen Erkrankung sind allerdings kaum prädiktive Parameter für Hämostasekomplikationen gesichert. Die Abhängigkeit der Thromboseneigung von Hämatokrit konnte in nahezu allen größeren Studien bestätigt werden, doch eine Korrela-

tion mit der Thrombozytenzahl ließ sich bisher nicht eindeutig belegen. Da myeloproliferative Erkrankungen pathogenetisch Folge der klonalen Expansion erkrankter Knochenmarkstammzellen darstellen, wurde die Ursache der Hämostasekomplikationen vorwiegend in einer dem proliferierenden Klon eigenen Thrombozytendysfunktion vermutet. Zahlreiche Anomalien der Morphologie und Funktion der Blutplättchen, wie auch Veränderungen der Thrombozytenmembran und der Speicherorganellen wurden bei MPD dokumentiert. Bisher jedoch ließ sich eine Assoziation zwischen Hämostasekomplikationen und spezifischen Störungen der Blutplättchen in klinischen Studien nicht nachweisen. Dies mag allerdings auf zu geringe Patientenzahlen oder die Verwendung von Funktionstests zurückzuführen sein, die keine Prädiktivität für die In-vivo-Situation besitzen. Beispielsweise ließen sich bei der Thrombozytenaggregation im plättchenreichen Plasma *in vitro* schwere Funktionsdefekte mit mehreren Induktoren nachweisen, die allerdings keine Korrelation zu Blutungen und Thrombosen aufwiesen. Untersuchte man die Thrombozytenfunktion der gleichen Patienten mit einer anderen Methode, so zeigten viele Patienten im Vollblut eine gesteigerte Aggregation im Vergleich zu Normalprobanden. Auch die Plasmaspiegel spezifischer Inhaltsstoffe von Thrombozytengranula (β -Thromboglobulin, Plättchenfaktor 4), die üblicherweise als Indikatoren einer Plättchenaktivierung gelten, sind bei Patienten mit MPD kontinuierlich stark erhöht, und zwar unabhängig von Blutungs- oder Thrombosekomplikationen. Es besteht also entweder eine kontinuierliche erhebliche Thrombozytenaktivierung bei diesen Patienten, oder die Speicher-substanzen werden ständig ohne adäquate Stimulation freigesetzt. Dafür spricht, daß wir eine vermehrte Expression aktivierungsabhängiger Antigene auf der Thrombozytenoberfläche nur bei 2 von 11 Patienten mit MPD nachweisen konnten, und diese beiden Patienten waren polyzythämisch.

In letzter Zeit mehren sich die Hinweise dafür, daß die Komplikationen bei MPD durch eine sekundäre Stimulation von Zellen, die primär nicht klonal verändert sind, bewirkt werden. Neben Fibroblasten und Knochenmarkstromazellen stellt die Endothelzelle einen solchen Angriffspunkt dar, der über Expression von Adhäsionsmolekülen und Modulation von Hämostasefunktionen zur Lokalisation von Thromboseereignissen und Mikrozyklulationsstörungen in bestimmten Gefäßarealen beitragen könnte.

Diese Befunde könnten verständlich machen, weshalb eine Therapie mit Acetylsalicylsäure (ASS) die Thromboseneigung bei MPD nur teilweise unterdrückt und auch die Plasmaspiegel von β -Thromboglobulin und Plättchenfaktor 4 nur reduziert, aber nicht normalisiert. Besonders wirksam ist ASS zur Verminderung der Mikrozyklulationsstörungen an Zehen und Fingern. Allerdings sollte ASS nicht unkritisch und nicht bei Patienten mit Blutungsanamnese eingesetzt werden, da die Blutungsneigung unter ASS zunimmt. Die wichtigste therapeutische Maßnahme zur Prophylaxe von Blutungen und Thrombosen stellt die Reduzierung, besser Normalisierung der Zellzahlen dar. Dies betrifft vor allem die Polyzythämie, die unbedingt so eingestellt werden sollte, daß der Hämatokrit 45% möglichst nicht überschreitet. Auch die Normalisierung der Thrombozytenzahl ist von Bedeutung. Obwohl bei Aufarbeitung größerer Kollektive die Thrombozytenzahl bei Erstdiagnose keine Korrelation zu Blutungen und Thrombosen ergab, so scheint doch bei einem individuellen Patienten die Absenkung der Thrombozyten mit einer Verminderung des Thrombose- und Blutungsrisikos verbunden zu sein. Früher wurden dazu meist Alkylantien eingesetzt, die aber wegen der bei wiederholter Anwendung doch zunehmenden Leukämieinzidenz heute überwiegend durch Hydroxylharnstoff und alpha-Interferon (IFN) ersetzt werden. Die IFN-Dosen, die zur Kontrolle der Thrombozythämie notwendig sind, liegen deutlich niedriger als zur Behandlung der CML, doch die Nebenwirkungsrate ist trotzdem noch höher als bei Therapie mit Hydroxylharnstoff. Möglicherweise bietet die Interferontherapie aber dadurch einen Vorteil, daß bei einem Teil der Patienten der myeloproliferative Klon langfristig zurückgedrängt werden kann. Speziell antineoplastische wirksame Medikamente wie Anagrelide sind in Deutschland nur im Rahmen von klinischen Studien verfügbar.

Eine konsequente Therapie ist bei symptomatischen oder potentiell gefährdeten Patienten heute unerlässlich, da dadurch Thrombose- neigung, Mikrozyklulationsstörungen und Blutungsbereitschaft drastisch reduziert werden können und so Lebensqualität und Überleben der Patienten verbessert werden.

Pathogenese von Thromboembolie und Verbrauchskoagulopathie bei Malignomen

G. Müller-Berghaus

Kerckhoff-Klinik, Max-Planck-Institut für physiologische und klinische Forschung, Abteilung Hämostaseologie und Transfusionsmedizin, Benekestraße 2 - 8, 61231 Bad Nauheim

Bei Malignomen können sowohl eine hämorrhagische Diathese als auch thromboembolische Komplikationen auftreten. Die Pathogenese dieser Störung des Hämostasesystems ist von der zugrundeliegenden Erkrankung abhängig. So kann ein solider Tumor eine Thrombozytopenie durch Beeinträchtigung der Thrombozytensynthese im Knochenmark hervorrufen oder es kann eine Thrombozytopenie im Rahmen einer Verbrauchskoagulopathie auftreten. Ein Tumor kann prokoagulatorische Substanzen produzieren, die durch eine kontinuierliche, chronische Verbrauchskoagulopathie charakterisiert ist. Ein Verbrauch von Gerinnungskomponenten kann jedoch auch durch Enzyme des Tumors ausgelöst werden, die Gerinnungsfaktoren degradieren, aber nicht aktivieren. Klinisch von größerer Bedeutung ist das Auftreten von thromboembolischen Komplikationen bei gleichzeitiger chronischer Verbrauchskoagulopathie. Die kontinuierliche Aktivierung des Hämostasesystems durch das Malignom führt zu einer Hyperkoagulabilität, die zusammen mit weiteren thrombogenetischen Faktoren, wie verändertem Blutfluß und Gefäßwandveränderungen, lokal eine Thrombose induziert.

Ein typisches Beispiel einer chronischen Verbrauchskoagulopathie beim Malignom ist das schleimproduzierende Karzinom. Es wurde gezeigt, daß die malignen Zellen dieses Tumors Gewebethromboplastin (Tissue Factor) synthetisieren, da durch Antikörper gegen Thromboplastin die prokoagulatorische Aktivität zu inhibieren war. Die Expression von Gewebethromboplastin führt zu einer Aktivierung des Gerinnungssystems mit Entstehung von löslichem Fibrin im Plasma dieser Patienten. Da die Aktivierung in der Regel langsam erfolgt und pro Zeiteinheit keine großen Mengen Fibrin entstehen, wird eine Verlegung der Kapillaren von Organen mit Mikrogerinnseln nur in Ausnahmefällen beobachtet. In der Regel kommen Kompensationsmechanismen ins Spiel: Fibrin wird durch das retikuloendotheliale System aus der Zirkulation geklärt. Kapilläre Mikrogerinnsel werden über eine Proteolyse von Fibrin degradiert. Die Folge ist ein Anstieg der Fibrinolyseprodukte im Plasma. Aus diesen dargelegten Zusammenhängen ergibt sich, daß eine Verlegung der Peripherie mit Fibrin und nachfolgender Organschädigung ein in der Regel nicht beobachtetes Phänomen bei Tumor-assoziiierter Verbrauchskoagulopathie ist. Der Verbrauch von Gerinnungskomponenten und Thrombozyten sowie die Degradation von Fibrin mit Entstehung von Fibrinolyseprodukten führt jedoch bei chronischer Verbrauchskoagulopathie zu einer hämorrhagischen Diathese.

Ein weiterer Mechanismus der Gerinnungsaktivierung stellt ein prokoagulanter Faktor dar, der als „Cancer Procoagulant“ bezeichnet wird, biochemisch definiert ist und bei manchen Tumoren nachgewiesen werden kann. Dieses „Cancer Procoagulant“ vermag Faktor X zu aktivieren und auf diese Art und Weise den Gerinnungsprozeß in Gang zu setzen. Fernerhin kann ein Tumor als Akzelerator einer Gerinnungsaktivierung wirken. Der Tumor bildet einerseits eine Oberfläche, auf der Gerinnungsfaktoren aktiviert oder durch Rezeptoren spezifisch gebunden werden, oder der Tumor präsentiert andererseits eine Oberfläche zum Zusammenfügen des Prothrombinase-Komplexes.

Schließlich sollte ein Mechanismus der Gerinnungsaktivierung durch Zytokine diskutiert werden. Es wurde gezeigt, daß Zytokine, wie IL-1 und TNF, die Expression von Tissue Factor durch Endothelzellen und Monozyten induzieren. Auch wurde in Zellkulturen nachgewiesen, daß Zytokine verschiedene Tumorzellen zu einer verstärkten Produktion von prokoagulanter Aktivität aktivieren. Von besonderem Interesse ist der „Vascular Permeability Factor“, der von Fibrosarkomzellen synthetisiert werden kann und eine Expression von Tissue Factor auf Endothelzellen und Monozyten induziert. Dieser letztgenannte Befund macht deutlich, daß verschiedene Interaktionen zwischen Gefäßwand und humoralen Systemen in Abhängigkeit von Tumor-assoziiierter Modulation des Hämostasesystems zu einer Gerinnungsaktivierung und zu einer Verbrauchskoagulopathie führen können. Die Entscheidung, ob der Gerinnungsprozeß lokal fixiert bleibt oder eine systemische Aktivierung des Hämostasesystems nach sich ziehen, ist von Tumor zu Tumor verschieden und hängt 1. von der Geschwindigkeit der Gerinnungsaktivierung (akute oder chronische Verbrauchskoagulopathie), 2. der

Lokalisation des Gerinnungsprozesses (lokalisierte oder systemische Gerinnungsaktivierung; intravasale oder extravasale Gerinnungsaktivierung) und 3. von Kompensationsmechanismen (RES-Funktion, Fibrinolyse) ab.

Labordiagnostische Parameter in der postoperativen Nachsorge

Aktivierungsparameter des Gerinnungssystems

D-Dimere bei Patienten mit malignen Erkrankungen

G. Oehler, E. J. Schulte
BfA Klinik Föhrenkamp, Birkenweg 24, 23879 Mölln

D-Dimere und höhermolekulare quervernetzte Fibrinolyseprodukte sind mit einem ELISA im Plasma quantitativ nachweisbar. Bei 235 Patienten mit soliden malignen Tumoren und bei 46 Patienten mit malignen hämatologischen Erkrankungen waren D-Dimere signifikant ($p < 0,001$) höher als bei Gesunden und Patienten mit gutartigen, nicht thrombotischen Erkrankungen. Die Höhe quervernetzter Fibrinolyseprodukte ist vom Tumorstadium abhängig. Bei Tumorkranken mit erhöhten D-Dimeren besteht schwach signifikant ($p < 0,05$) häufiger eine Hyperfibrinogenämie, Erniedrigung des Quickwertes oder Verlängerung der PTT. Bei Patienten mit kolorektalem Karzinom waren CEA und D-Dimere positiv korreliert ($p < 0,0001$; $r = 0,6$). D-Dimere bei malignen Erkrankungen sind nicht signifikant verschieden von D-Dimeren bei Thrombosepatienten. Erhöhte quervernetzte Fibrinolyseprodukte bei malignen Erkrankungen werden gedeutet als Ausdruck gesteigerter Gerinnbarkeit und sekundärer Hyperfibrinolyse. Durch die Messung von D-Dimeren können metastasierte Tumoren sensitiv erfaßt werden; gleichzeitig besteht geringe Spezifität, so daß diagnostische Einsatzmöglichkeiten eingeschränkt erscheinen.

Determination of plasma soluble fibrin by a newly developed ELISA method in patients with disseminated intravascular coagulation: its clinical usefulness

K. Okajima¹, M. Uchiba², K. Murakami², H. Okabe¹, K. Takatsuki²
Departments of Laboratory Medicine¹ and Medicine², Kumamoto University Medical School, Honjo 1-1-1, Kumamoto 860, Japan

To investigate whether determination of plasma soluble fibrin (FM) can be useful for diagnosis of disseminated intravascular coagulation (DIC), we used newly developed enzyme-linked immunosorbent assay (EnzymunTest[®] FM) to determine the plasma levels of FM in patients suspected of having DIC, and compared the results with those of other homeostatic molecular markers. The patients ($n = 98$) were classified into 4 groups according to their clinical and laboratory findings: overt DIC, subclinical DIC, hypercoagulable state, and non-DIC. FM levels were significantly increased in patients with overt DIC, and the levels were also increased in subclinical DIC and hypercoagulable state when compared with those of non-DIC patients. FM levels significantly increased with the advance of their clinical stages. Although the other homeostatic molecular markers (thrombin-antithrombin III complex (TAT), prothrombin fragment 1 + 2 (PF1 + 2), cross linked fibrin degradation products (XDP) and plasmin-antiplasmin complex (PAP) were significant increased in patients with overt DIC when compared with those of non-DIC patients, the values did not always increase with the advances of their clinical stages. Plasma levels of FM in patients with overt DIC showed a positive correlation with those of TAT, XDP and FDP(E), but did not correlate with

those of PF1 + 2 and PAP. Receiver operating characteristic curve (ROC) generation and calculation of areas under the ROC curves showed that FM was as useful as XDP and more useful than TAT, PF1 + 2, and PAP for diagnosis of DIC. Sensitivity and specificity of FM for the

diagnosis of overt DIC were both higher than 90 % when the cut-off value was set at 65 µg/ml. These values were as high as those of XDP, but were higher than those of PF1 + 2, TAT and PAP.

To examine the prognostic value for diagnosis of DIC, 72 patients of DIC were followed for 4 weeks with measurement of FM levels. About 30 % of patients with FM levels higher than 50 µg/ml advanced DIC within two weeks. Patients with plasma levels of FM higher than 100 µg/ml, 50 % of the patients advanced DIC within a week, and more than 90 % of them advanced DIC within 4 weeks.

These findings strongly suggest that measurement of plasma levels of FM by the Enzymun-Test[®] FM would be useful for the diagnosis of DIC and the evaluation of the clinical conditions.

Fibrinmonomer (FM) als Parameter für eine Aktivierung des Gerinnungssystems

C. E. Dempfle, S. Pfützner, M. Dollmann, H. Lill*, D. L. Heene
Universität Heidelberg, Klinikum Mannheim, I. Medizinische Klinik (Direktor: Prof. Dr. med. Dieter L. Heene)

*Boehringer Mannheim GmbH, Forschungszentrum Tutzing

Beispiele für das Resultat einer Gerinnungsaktivierung sind Thrombosen oder die Gerinselformung im Bereich von Endothelläsionen unterschiedlicher Genese. Disseminierte Aktivierungsvorgänge des Gerinnungssystems werden z. B. durch Einschwemmung von thromboplastischem Material in die Zirkulation, etwa im Rahmen einer Sepsis oder eines Tumorleidens ausgelöst. Verschiedene Testsysteme sind für die Diagnose einer Gerinnungsaktivierung vorgeschlagen worden. Die bei der Aktivierung von Gerinnungsfaktoren freigesetzten Aktivierungspeptide, etwa Prothrombin-Aktivierungspeptid F1 + 2, oder Fibrinopeptid A, zeigen aufgrund ihrer geringen Größe eine rasche renale Elimination, so daß die gemessenen Plasmakonzentrationen sehr gering sind. Außerdem kann bei akuten Ereignissen die Elimination des Peptides zum Zeitpunkt der diagnostischen Blutentnahme bereits abgeschlossen sein, so daß kein Aktivierungsprodukt mehr nachweisbar ist. Günstiger ist die Verwendung eines Aktivierungsparameters mit größerem diagnostischem Fenster.

Fibrinogen ist das Gerinnungsprotein mit der höchsten Plasmakonzentration. Fibrinmonomer ist das direkte Produkt einer Thrombinwirkung auf Fibrinogen. Im Gegensatz zu anderen Aktivierungsparametern in „früheren“ Bereichen der Gerinnungskaskade weist zirkulierendes Fibrinmonomer auf eine Fibrinbildung und damit auf eine relevante Gerinnungsaktivierung hin. Fibrinmonomer zirkuliert als löslicher Komplex mit Fibrinogen und kann mehrere Stunden nach der Entstehung nachgewiesen werden.

Der Normalbereich für Fibrinmonomer liegt bei immunologischer Messung mittels Enzymun-Test[®] FM liegt zwischen 0 und 3,6 µg/ml, bei Patienten mit akuten thromboembolischen Ereignissen oder disseminierter intravasaler Gerinnung (DIC) werden Werte zwischen 30 und 300 µg/ml gemessen. Patienten mit akutem cerebralem ischämischen Insult zeigen innerhalb der ersten 12 Stunden nach Beginn der Symptome eine signifikante Erhöhung von Fibrinmonomer. Die Korrelationen mit Aktivierungsparametern wie dem Thrombin-Antithrombin-III-Komplex (TAT) oder Prothrombin-Fragment F1 + 2 sind mäßig, da von diesen auch Gerinnungsaktivierungen ohne relevante Fibrinbildung erfaßt werden.

Die Messung von Fibrinmonomer als Aktivierungsparameter des Gerinnungssystems wird ergänzt durch die Bestimmung von Fibrinabbauprodukt D-dimer. D-dimer entsteht durch Einwirkung von Thrombin, Faktor XIIIa und Plasmin auf Fibrinogen und ist damit ein globaler Parameter für eine Gerinnungs- und Fibrinolyseaktivierung. Damit ist D-dimer theoretisch eher ein Spätparameter, der auf einen statt gegebenen

Gerinnungsvorgang mit nachfolgender Auflösung der Gerinnung hinweist, während Fibrinmonomer die akute Gerinnungsaktivierung quantitativ erfassbar macht. Eine Erhöhung von Fibrinmonomer kann bereits im Vorfeld auf akute thromboembolische Ereignisse, wie auch auf disseminierte Gerinnungsaktivierung hinweisen, bedeutet jedoch immer eine intravasale Entstehung von Fibrin.

Im Vergleich zu funktionellen Methoden zur Erfassung von löslichen Fibrinkomplexen, die auf der Beschleunigung der tPA-induzierten Plasminogenaktivierung durch Fibrin basieren, erfaßt Enzymun-Test® FM einen definierten Analyten, der mittels monoklonalem Antikörper immunologisch gemessen wird. Wie die bisherigen klinischen Studien zeigen, kann diese Methode bei folgenden Indikationen eingesetzt werden:

- Nachweis einer disseminierten Gerinnungsaktivierung und frühzeitige Diagnose der DIC;
- Nachweis eines präthrombotischen Zustandes zur der Steuerung der postoperativen Thromboseprophylaxe;
- Frühdiagnose von venösen und arteriellen Thrombosen;
- zusätzlich zur Kontrolle der Antikoagulation bei erhöhtem Thromboserisiko.

Der Einsatz von Tumormarkern

Klinische und methodische Voraussetzungen für den Einsatz von Tumormarkern

R. Klapdor
Medizinische Klinik, Universitäts-Krankenhaus, Hamburg-Eppendorf

Von klinischer Seite sind 2 wichtige Voraussetzungen zu fordern: der Bedarf des Kliniklers an Verfahren oder Parametern über die anderen zur Verfügung stehenden Möglichkeiten hinaus (wie Klinik, Endoskopie, bildgebende Verfahren etc.) und die Möglichkeit einer relevanten ergänzenden oder zusätzlichen Information durch Tumormarker (TM). Wünschenswert wäre hier der „ideale“ Tumormarker: 100%ige Tumorspezifität, 100%ige Organspezifität, 100%ige Sensitivität für Frühstadien.

Es kann an Beispielen gezeigt werden, daß der Bedarf an zusätzlichen diagnostischen Verfahren über die Klinik, die Endoskopie und die bildgebenden Verfahren hinaus besteht. Es kann gezeigt werden, daß TM, wie die Tumor assoziierten Antigenen und z. B. die gastrointestinalen Hormone, in der Lage sind, über die genannten Verfahren hinaus zusätzliche und/oder frühzeitigere Informationen dem Kliniker zu liefern. Dies gilt insbesondere für die Tumor-Nachsorge (wie Beurteilung der Radikalität einer Operation, Rezidivdiagnostik, Aussagen zur Prognose) und für die Beurteilung der Wirk-/Unwirksamkeit von Chemo-/Strahlentherapien. Es gibt bis heute aber keinen idealen TM. Voraussetzung für den klinischen Einsatz von TM sind daher kritische Indikationsstellung und Auswertung/Interpretation der Meßergebnisse auf der Basis des jeweils aktuellen Wissensstandes über die einzelnen TM.

Hier sei - ebenso wie hinsichtlich der methodischen Voraussetzungen - auch auf die Arbeiten und Empfehlungen für TM-Bestimmungen der Arbeitsgruppe Qualitätskontrolle und Standardisierung im Rahmen der Hamburger Symposien über TM verwiesen.

Von methodischer Seite sind angesichts des Fehlens „richtiger Werte“ hohe Präzision, Reproduzierbarkeit und relative Richtigkeit eines Assays wesentliche Voraussetzung für die klinische Relevanz einer TM-Bestimmung. Wünschenswert ist, daß darüber hinaus die Assays verschiedener Herstellerfirmen bzw. die manuellen und automatisierten Test-Verfahren einer Herstellerfirma zur Bestimmung ein und desselben TM's vergleichbare Werte liefern. Letzteres ist meist gegeben, ersteres leider noch nicht. Als weitere Voraussetzungen für ein TM-Labor sind zu wünschen, daß der Ausdruck eines aktuellen Meßwertes zusammen mit den Ergebnissen der vorangegangenen 5 bis 10 Bestim-

mungen dem Kliniker mitgeteilt wird und daß zumindest die letzten Blutproben eines Patienten als Aliquots eingefroren werden, um Nach- bzw. Zusatzbestimmungen oder - bei Änderungen eines Assays oder Einführung eines neuen Assays - 2 oder 3 simultane, überlappende Bestimmungen durchführen zu können.

Die Notwendigkeit dieser Voraussetzungen wird an Einzelbeispielen demonstriert - Einzelbeispiele die gleichzeitig zeigen, daß eine sinnvolle Umsetzung einer Tumormarkerbestimmung durch den Kliniker eine sich ergänzende Zusammenarbeit von Herstellerfirma, Laborarzt, Kliniker und Patient voraussetzt.

Tumormarker als Hilfsmittel zur individualisierten Tumorthherapie

W. Meier, P. Stieber*, L. Baumgartner*; A. Fateh-Moghadam*
Ludwig-Maximilians-Universität, Klinikum Großhadern, Frauenklinik und Institut für Klinische Chemie*, Marchioninistraße 15, 81377 München

Trotz möglichst radikaler Primärchirurgie und aggressiver postoperativer Chemotherapie konnte bis heute nur für eine kleine Gruppe von Patientinnen mit Ovarialkarzinom die Überlebenszeit signifikant verlängert werden. Dies trifft vor allem auf die Patientinnen zu, die in den fortgeschrittenen Stadien im Erstansatz makroskopisch tumorfrei operiert werden können. Da jedoch auch in großen Zentren mit guter interdisziplinärer Zusammenarbeit nur bei maximal 20 - 40% der Frauen im Stadium IIc eine makroskopische Tumorfreiheit erreicht werden kann, bleibt die Verbesserung der Behandlungsqualität bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom ständig eine Herausforderung in der gynäkologischen Onkologie.

Seit der erstmaligen Beschreibung durch BAST 1983 wurde eine Vielzahl von Untersuchungen über die verschiedenen Einsatzmöglichkeiten des Tumormarkers CA125 beim Ovarialkarzinom publiziert. Da sich bald herausstellte, daß CA125 auch in Kombination mit dem vaginalen Ultraschall nicht als Screeningmethode einzusetzen war, konzentrierte man sich hauptsächlich auf die frühe Rezidiverkennung über einen kontinuierlichen Tumormarkeranstieg. Der bisherige Einsatz in der Primärtherapie dient lediglich der Therapieverlaufs kontrolle, wobei über den CA125 Verlauf frühzeitig die Effektivität der Therapie beurteilt werden kann. Nachdem die prognostische Bedeutung des prä- bzw. des direkten postoperativen Wertes nicht nachgewiesen werden konnte, wurde auch der CA125-Kinetik lange Zeit zu wenig Aufmerksamkeit gewidmet. Es konnte jedoch in neuerer Zeit gezeigt werden, daß es über die Bestimmung einer individuell errechneten CA125-Halbwertszeit bzw. der Beachtung des CA125-Wertes nach Abschluß der 3. Chemotherapie möglich ist, vor allem bei Patientinnen mit initialem Tumorstadium prognostisch günstige und prognostisch ungünstige Gruppen zu unterscheiden und die Therapieplanung dementsprechend individualisiert zu gestalten. Ebenso wie in der Primärtherapie kommt dieser CA125-Kinetik auch vor sekundären Debulkingoperationen und in der Rezidivtherapie eine prognostische Bedeutung zu, die in die weitere Therapieplanung Eingang finden muß.

Mit Hilfe von auf CA125-Werten basierenden Prognosemodellen stehen Parameter zur Verfügung, mit deren Hilfe vor allem bei Patientinnen mit initialem Tumorstadium eine Individualisierung der Therapie erreicht werden kann. Bei konsequenter Beachtung dieser Prognosemodelle kann definiert werden, welche der Patientinnen engmaschig und welche eher großzügig in der Nachsorge geführt werden können. Bei allen Bemühungen einer Verbesserung der Therapie ist zu beachten, daß neue diagnostische und therapeutische Maßnahmen nicht ausschließlich unter dem Aspekt einer Lebenszeitverlängerung zu beurteilen sind. Vielmehr entscheidend muß sein, durch die vorhandenen Möglichkeiten eine Individualisierung der Therapie und damit eine Verbesserung der Lebensqualität zu erzielen.

Die Varianzanalyse als statistisches Verfahren zur Beurteilung von Tumormarker-Tests

H. Scheurlen
Universität Heidelberg, Institut für med. Biometrie und Informatik

Der Schwerpunkt des Einsatzes von Tumormarker-Testmethoden liegt in der Verlaufskontrolle. Dabei kommt es darauf an, schon möglichst geringe Veränderungen der Konzentration des Tumormarkers als klinisch relevant zu erkennen. Konzentrationsänderungen bzw. Proben unterschiedlicher Konzentration werden jedoch im Variationskoeffizienten nicht berücksichtigt. Es wurde deshalb nach einem besseren Beurteilungskriterium für eine Testmethode in der Verlaufskontrolle gesucht. Die Unterscheidungsfähigkeit einer Testmethode zwischen echter Konzentrationsänderung und Meßschwankungen hängt ab von dem Verhältnis zwischen Versuchsfehler und Konzentrationsunterschieden verschiedener Proben. Diese beiden Varianzkomponenten, nämlich die Varianz innerhalb einer Meßreihe bei einer Konzentration ($\text{Var}[\text{Meßreihe}]$ = Versuchsfehler) und die Varianz zwischen verschiedenen Konzentrationen ($\text{Var}[\text{Konz}]$) werden mit Hilfe der Varianzanalyse quantifiziert und als Gütemaß (G) dargestellt.

$$G = \frac{\text{Var}_{(\text{Konz})}}{\text{Var}_{(\text{Meßreihe})}}$$

Als dimensionslose Größe kann das Gütemaß primär zum Vergleich von Parametern und Testmethoden eingesetzt werden. Je höher der Wert des Gütemaßes ist, um so geringer sind die Konzentrationsänderungen, die als tumorbedingt erkannt werden können.

Im Rahmen einer zur Zeit laufenden Multicenter-Studie wurde ein Vergleich für die Tumormarker CA 72-4, CA 19-9, CA 125 und CEA durchgeführt. Hierzu wurden drei lyophilisierte Poolseren mit unterschiedlichen Tumormarker-Konzentrationen hergestellt und in den teilnehmenden Labors an zehn aufeinanderfolgenden Tagen parallel mit den zu vergleichenden Methoden gemessen. Aus den Meßdaten wurde eine deskriptive Statistik und für die einzelnen Methoden das Gütemaß aus der Varianzanalyse berechnet. Zum Beispiel wurden bei Anwendung eines ELISA folgende Daten erhalten:

CA 72-4: G = 423 (N = 25); CEA: G = 368 (N = 26); CA 19-9: G = 453 (N = 21); CA 125: G = 170 (N = 23) (N = Anzahl der Labors).

Die Ergebnisse zeigen, daß für die verschiedenen Tumormarker auch bei vergleichbarer Meßmethodik unterschiedliche Werte für das Gütemaß erhalten werden können. Daraus läßt sich ableiten, daß die Tests verschiedene Trennschärfen für Konzentrationsänderungen aufweisen. Beim Vergleich unterschiedlicher Testmethoden von verschiedenen Herstellern ergeben sich zum Teil noch größere Differenzen bei den Gütemaßen. Die zeigen die bisher orientierenden Ergebnisse aus den laufenden Untersuchungen, die fortgeführt werden.

Die Varianzanalyse liefert ein zusätzliches Beurteilungskriterium, das besonders bei Parametern und Testmethoden in der Verlaufskontrolle angewendet werden kann. Die klinische Bedeutung dieses Kriteriums zur Beurteilung von Tumormarker-Testmethoden wird im zweiten Teil der laufenden Multicenter-Studie untersucht.

Molekulare Analytik mit Cytokeratin-Tests

H. Bodenmüller, F. Donié, M. Kaufmann, D. Banauch
Boehringer Mannheim GmbH, Bahnhofstraße 9 - 15, 82327 Tutzing

Von den kommerziell verfügbaren Tumormarkertests TPA, TPS, TPA_{CYK} und CYFRA 21-1 ist bekannt, daß sie mit Keratinen (K) des einfachen Epithels reagieren. Aus vergleichenden klinischen Studien kann abgeleitet werden, daß das von den verschiedenen Tests erkannte Keratinmuster unterschiedlich sein muß. Um diese unterschiedlichen Reaktivitäten quantitativ und qualitativ zu ermitteln, haben wir die verschiedenen Tests auf Spezifität und Sensitivität gegenüber gereinigten Fragmentkombinationen KS/K18 und KS/K19 überprüft. Zusätzlich wurden die aus den Tests verfügbaren löslichen Antikörper auf ihre Reaktivität gegenüber gereinigtem K8, K18 und K19 in Immunoblots untersucht. Die Analysen zeigten, daß TPS und CYFRA 21-1 deutlich zwischen der Fragmentkombination KS/K18 (TPS) und KS/K19 (CYFRA 21-1) unter-

scheiden. TPA und TPACYK reagierten mit beiden Kombinationen, jedoch mit unterschiedlichen Intensitäten. Die Untersuchungen aus den Immunoblots ergaben, daß die CYFRA 21-1 Antikörper ausschließlich mit K19 reagieren, währenddem die Antikörper der übrigen Tests mit mindestens 2 der untersuchten Keratinen reagieren.

Cytokeratin-Fragmente als neue Tumormarker

P. Stieber, H. Dienemann, U. Hasholzner, A. Zimmermann, A. Fateh-Moghadam
Ludwig-Maximilians-Universität, Klinikum Großhadern, Institut für Klinische Chemie, Chirurgische Klinik und Poliklinik, Marchioninstraße 15, 81377 München

Cytokeratine und andere Intermediärfilamente wie Vimentin und Desmin sind seit langem in der Histopathologie zur Differenzierung physiologischer und pathologischer Gewebe etabliert. Wie sich in den letzten Jahren gezeigt hat sind jedoch entgegen ursprünglichen Annahmen Fragmente der Cytokeratine im Gegensatz zu den Cytokeratinen selbst serumlöslich und können mit Hilfe monoklonaler Antikörper im Serum nachgewiesen werden. Nachdem wiederholt auf das gehäufte Vorkommen von Cytokeratin 19 im Lungengewebe hingewiesen wurde entwickelten Bodenmüller et al. mit CYFRA 21-1 einen enzymimmunologischen Test, der mit Hilfe von 2 monoklonalen Antikörpern (Ks 19.1 und BM 19.21) ein serumlösliches Cytokeratin 19-Fragment nachweist. Cytokeratine sind, ähnlich wie fast alle tumorassoziierten Antigene, nicht organspezifisch, so daß zunächst im Rahmen einer Pilotstudie anhand eines Kollektives von 1700 Serumproben den klinischen Stellenwert von CYFRA 21-1 allgemein bei den häufigsten soliden malignen Tumoren untersucht wurde. In dieser Studie erwies sich CYFRA 21-1 als ein „Pan-Marker“ beim Bronchialkarzinom, wobei diesem Marker besonders beim nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinom und hier speziell beim Plattenepithelkarzinom eine große Bedeutung zukommt. Mit TPA (tissue polypeptide antigen) und TPS (tissue polypeptide specific antigen) stehen 2 weitere Assays zur Verfügung, die - wie man erst seit kürzerer Zeit weiß - im Serum Bruchstücke unterschiedlicher Cytokeratinfragmente nachweisen. Es stellte sich nun die Frage nach der Vergleichbarkeit von CYFRA 21-1, TPA und TPS bezüglich der klinischen Relevanz beim Bronchialkarzinom.

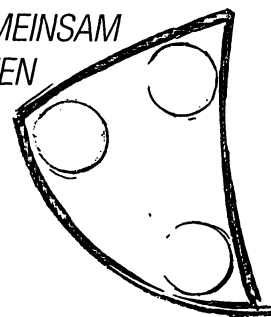
Zur Abklärung der Spezifität wurden neben 50 gesunden Kontrollpersonen verschiedene Gruppen von Patienten mit benignen Erkrankungen untersucht: 58 benigne Lungenerkrankungen, 46 benigne gastrointestinale Erkrankungen, 30 Patientinnen mit mastopathischen Veränderungen, 73 benigne urologische Erkrankungen, 31 Patienten mit Niereninsuffizienz und 30 Patientinnen mit benignen gynäkologischen Erkrankungen. Um die 3 Marker unter den gleichen Bedingungen vergleichen zu können, wurde die Spezifität generell für jedes einzelne Referenzkollektiv auf 95 % festgelegt und anhand der daraus ermittelten cut off-Werte die Sensitivitäten ermittelt. Es zeigte sich, daß verglichen mit dem Normalkollektiv für alle 3 Marker die Referenzbereichsgrenze (bei einer 95%igen Spezifität) bei allen benignen Erkrankungen in unterschiedlichem Ausmaß angehoben werden mußte. Insbesondere bei den benignen gastrointestinalen Erkrankungen mußte der 95%-Grenzwert bei TPA auf 713 U/l und bei TPS auf 2021 U/l festgelegt werden!

Anhand der Seren von 218 Patienten mit Bronchialkarzinom (Histologie: kleinzellig = 62; Adeno = 67, Plattenepithel = 66, Großzeller = 17; undifferenzierte Karzinome = 6) untersuchten wir die klinische Bedeutung von CYFRA 21-1, TPA und TPS im Vergleich zu den bisher etablierten Tumormarkern CEA, SCC und NSE beim Bronchialkarzinom.

Unter Zugrundelegung einer allgemeinen Spezifität von 95 % gegenüber benignen Lungenerkrankungen ergaben sich folgende cut off-Werte: CYFRA 21-1: 2,1 ng/ml, TPA: 131 U/ml; TPS: 237 U/ml; CEA: 7,4 ng/ml; SCC: 2,4 ng/ml; NSE: 18 U/ml. Unabhängig von der Histologie errechneten sich daraus folgende Gesamtsensitivitäten beim Bronchialkarzinom: CYFRA 21-1: 61 %, TPA: 51 %, TPS: 22 %, CEA: 29 %, SCC: 18 % und NSE: 19 %. Bei nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen (NSCLC) führte weiterhin CYFRA 21-1 (64 %) gegenüber TPA (50 %), TPS (17 %), CEA (33 %), SCC (19 %) und NSE (5 %). Beim Plattenepithelkarzinom der Lunge betrug die Anzahl richtig positiver Testergebnisse für CYFRA

wenn es um die Automatisierung in der
TUMORMARKERROUTINE geht...

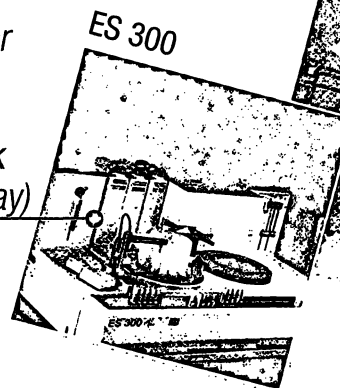
GEMEINSAM
ECKPUNKTE SETZEN



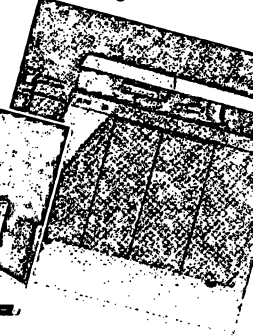
Alles
aus einer
Hand...

Eine breite Testpalette
für alle wichtigen soliden Tumoren:
CEA · CA 125 · CA 19-9 · CA 15-3
CA 72-4 · PSA · hCG · AFP ·
CYFRA 21-1
der innovative Marker

Die rationelle und wirtschaftliche Analytik
– auf bewährten Gerätesystemen (walk away)
– Einpunktkalibrierung
mit Einfachbestimmungen



ES 700



wenn es um die Automatisierung in der
GERINNUNGSANALYTIK geht...

Immer
die richtige
Antwort...

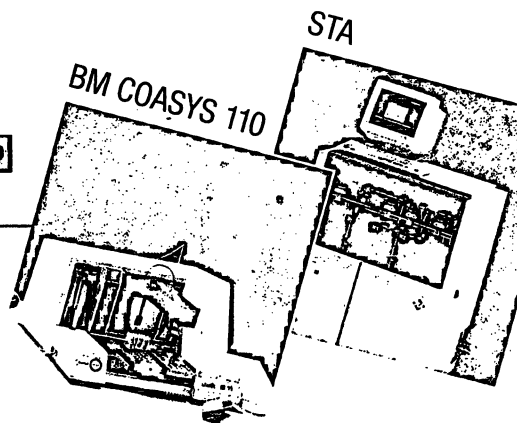
STA
der Großanalyzer ist
– vollautomatisiert
– vollselektiv
– mit barcodierten
Systemreagenzien

bis zu 350 Tests/h

BM **Coasys**® 110

der kompakte Analyzer ist
– vollautomatisiert
– für Clottingtests
– einfach zu bedienen

bis zu 130 Tests/h



STA



BOEHRINGER MANNHEIM GmbH

Sandhofer Straße 116
D-68298 Mannheim

REAGENZIEN SYSTEME SERVICE

Qualität von SERONO

**MAIA, MAIA CLONE,
BRIDGE, SERIA und
SEROZYME**

Die Immunoassays



Das vollautomatische
EIA-Testsystem



Das intelligente
Hämatologie-System

Jetzt neu:

SRI Freies Östrial

Serono
DIAGNOSTICS

**Erfahrung
schafft
Fortschritt®**

XII

SERONO Diagnostika GmbH
Merzhauser Straße 134, D-79 100 Freiburg
Tel. 07 61/45 81-0, Fax 07 61/45 81-190



**Umfassendes Wissen
für die tägliche Laborpraxis**



NEU

H. Huber, Universität Wien; H. Löffler,
Universität Kiel; V. Faber, Wien (Hrsg.)

Methoden der diagnostischen Hämatologie

1994. Etwa 230 S. 52 Abb., 339 Tab. Geb. DM 148,-; öS 1154,40; sFr 148,-
ISBN 3-540-57493-X

Mit diesem separat publizierten Methodenteil der *Diagnostischen Hämatologie* erhalten
Diagnoselabors in Kliniken und Praxen eine direkte Arbeitsvorlage zur Durchführung diagnosti-
scher Laboruntersuchungen. Neben den aktualisierten hämatologischen, cytochemischen und
immunologischen Techniken werden ausführlich neueste molekularbiologische Diagnose-
methoden beschrieben.

Leicht nachvollziehbare Protokolle und eine logische Strukturierung mit Marginalien zur
raschen Orientierung machen dieses Methodenbuch zu einer unentbehrlichen Arbeitsgrundlage.

H. Huber, Universität Innsbruck; H. Löffler, Universität Kiel;
D. Pastner, Universität Innsbruck (Hrsg.)

Diagnostische Hämatologie

Laboratoriumsdiagnose hämatologischer Erkrankungen

3. Aufl. 1992. XXXIV, 854 S. 182 Abb., 211 Tab. Geb. DM 248,-; öS 1934,40; sFr 244,-
ISBN 3-540-54403-8

Aus den Besprechungen:

„...Für den Arzt am Krankenbett und für den klinischen Laboratoriumsdiagnostiker ist dieses
Buch ein hervorragendes Nachschlagewerk, es dient zur Rekapitulation und dürfte besonders
wertvoll für eine primäre Literatur-Recherche sein. Die Ausstattung des Buches ist vorzüglich...“

Laboratoriumsmedizin



Springer

Preisänderungen vorbehalten.

rb 2148.MNTV/2h

Springer-Verlag □ Heidelberger Platz 3, D-14197 Berlin, F.R. Germany □ 175 Fifth Ave., New York, NY 10010, USA
□ Sweetapple House, Gatteshall Road, Godalming, Surrey GU7 3DJ, England □ 26, rue des Carmes, F-75005 Paris, France
□ 3-13, Hongo 3-chome, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan □ Room 701, Mirror Tower, 61 Mody Road, Tsimshatsui, Kowloon,
Hong Kong □ Avinguda Diagonal, 468-4° C, E-08006 Barcelona, Spain □ Wesselyi u. 28, H-1075 Budapest, Hungary

21-1 79 %, für TPA 62 %, TPS 18 %, CEA 25 %, SCC 38 % und NSE 5 %. Anhand der ermittelten Sensitivitäts-Spezifitäts-Daten sowie der erstellten ROC-Kurven zeigt somit CYFRA 21-1 ein besseres Diskriminanzvermögen beim NSCLC insbesondere beim Plattenepithelkarzinom der Lunge gegenüber benignen Lungenerkrankungen als TPA und TPS.

Die deutlich unterschiedlichen diagnostischen Spezifitäten und Sensitivitäten von CYFRA 21-1, TPA und TPS können damit begründet werden, daß TPA neben Cytokeratin 19 auch 8 und 18 nachweist, wohingegen TPS fast ausschließlich CK 18 detektiert.

CYFRA 21-1 beim Bronchialkarzinom - Ergebnisse einer prospektiven Multicenterstudie

W. Ebert, P. Drinks
Thoraxklinik der LVA Baden, Heidelberg

In einer internationalen Multicenterstudie wurde der Stellenwert des neuen Tumormarkers CYFRA 21-1 (CYFRA) für Diagnostik, Abschätzung der Tumorausbreitung (TNM-Stadium) und damit der Prognose, sowie zur Verlaufskontrolle im Serum von 244 Patienten mit Bronchialkarzinom im Vergleich mit den etablierten Markern CEA, SCC und NSE evaluiert.

Anhand einer Gruppe von 562 klinisch gesunden Personen konnte zuvor gezeigt werden, daß die CYFRA-Konzentrationen sich unabhängig von Alter, Geschlecht und Rauchgewohnheiten verhalten. Die Schwellenwerte zur Berechnung der Tumorsensitivitäten wurden in einem Referenzkollektiv von 526 Patienten mit benignen Lungenerkrankungen unterschiedlicher Ätiologie ermittelt. Basierend auf der 95%igen Spezifität der Marker-assays in diesem Kollektiv, ergaben sich die Schwellenwerte 3,3 ng/ml für CYFRA, 7,8 ng/ml für CEA, 1,9 ng/ml für SCC und 13,7 ng/ml für NSE. Unter Berücksichtigung dieser Diskriminationswerte wurden erhöhte CYFRA-Spiegel bei 46 % (CEA: 32 %, SCC: 25 %, NSE: 28 %) der Gesamtpopulation der Tumorpasienten gefunden. Bei der Gesamtgruppe der Patienten mit nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom (NSCLC, n = 177) betrug die Tumorsensitivität für CYFRA 50 % (CEA: 33 %, SCC: 24 %, NSE: 12 %). Die Positivitätsrate von CYFRA für das Plattenepithelkarzinom (n = 81) war 58 % (CEA: 23 %, SCC: 32 %, NSE: 14 %), für das Adenokarzinom (n = 63) 42 % (CEA: 44 %, SCC: 14 %, NSE: 9 %) und für die Gruppe der übrigen NSCLC (n = 33) 45 % (CEA: 36 %, SCC: 24 %, NSE: 14 %). Das kleinzellige Bronchialkarzinom (SCLC, n = 55) wurde von CYFRA in 36 % der Fälle (CEA: 28 %, SCC: 32 %, NSE: 77 %) erkannt. Gemäß den Ergebnissen dieser Multicenterstudie kann CYFRA im Vergleich zu CEA und SCC als Marker der ersten Wahl für NSCLC, insbesondere für das Plattenepithelkarzinom, angesehen werden. Als überlegener Marker für SCLC erwies sich einmal mehr die NSE. Im Gegensatz zu SCC stiegen die Konzentrationen von CYFRA und CEA mit zunehmenden TNM Stadien der Patienten mit NSCLC an. Beide Marker können jedoch nicht zur Stadieneinteilung, einem potentiell wichtigen Einsatzgebiet der Tumormarker, herangezogen werden, da statistisch eindeutige Unterschiede zwischen den Stadien nicht zu erkennen waren. Die Marker eignen sich auch nicht zur Früherkennung des Bronchialkarzinoms, da die Tumorsensitivität von CYFRA und CEA für das Stadium TNM I nur 23 % (SCC: 18 %) betrug. In einem Kollektiv von 108 Patienten mit NSCLC der Thoraxklinik Heidelberg-Rohrbach wurde die prognostische Bedeutung der Tumormarker untersucht. Im Gegensatz zu SCC und CEA kann prätherapeutisch bestimmtes CYFRA zur Prognoseabschätzung herangezogen werden. Patienten mit CYFRA-Spiegel $\geq 3,3$ ng/ml lebten signifikant kürzer ($p = 0,035$) (Median: 204 Tage) als solche mit CYFRA-Werten $\leq 3,3$ ng/ml (Median: 440 Tage). In der Multivarianzanalyse (Cox-Modell) erwies sich CYFRA zudem als ein von Histologie und Tumorausbreitung unabhängiger prognostischer Faktor.

In der perioperativen Verlaufskontrolle von 90 Patienten mit NSCLC konnte gezeigt werden, daß präoperativ erhöhte CYFRA-Konzentrationen innerhalb eines Tages nach Tumorsektion signifikant abfielen ($p < 0,001$). Der Erfolg einer Radiotherapie oder neoadjuvanten Chemotherapie wurde von CYFRA verläßlich angezeigt. Allerdings fielen die

CYFRA-Spiegel sowohl bei kompletter wie partieller Remission in den Normbereich ab, so daß CYFRA-Bestimmungen das klinische Restaging nicht ersetzen können.

Metastasen bzw. Rezidive wurden durch ansteigende CYFRA-Spiegel mit einer Vorwarnzeit von bis zu 60 Tagen erkannt. Die generelle Bedeutung serieller CYFRA-Bestimmungen für die frühzeitige Rezidivdiagnostik bei Patienten in der Nachsorge muß jedoch durch weitere Studien belegt werden.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, daß gemäß den Ergebnissen dieser Multicenterstudie CYFRA als der zur Zeit beste Marker für Diagnostik, Prognoseabschätzung und Verlaufskontrolle von Patienten mit NSCLC, insbesondere mit Plattenepithelkarzinom, angesehen werden kann.

Automation und neue Technologien

Einsatzmöglichkeiten des Enzymun-Systems zur Bestimmung immunologischer Parameter

R. Schenk
Boehringer Mannheim GmbH, Nonnenwald 2, 82377 Penzberg

Mit dem Enzymun-Test[®]-System bietet Boehringer Mannheim eine umfangreiche Systemfamilie mit einem breiten Testmenue an. Das gegenwärtige Testmenue umfaßt 40 Parameter und wird weiter ausgebaut. Im Zuge der weiteren Testverbesserungen werden dann die meisten Tests in der bewährten Streptavidin Tube Technologie angeboten.

Mit dem Enzymun-Test[®]-System ES 300 und ES 700 stehen vollautomatisierte Systeme für die Bearbeitung der Enzymuntersuchen im mittleren bis hohen Durchsatzbereich zur Verfügung. Die Leistungsfähigkeit der Enzymun-Systemfamilie wird durch Autoloader und Software-Neueinführungen in 1994 weiter gesteigert werden.

- Autoloadersysteme ES 300 AL und ES 700 AL

Die Systeme ES 300 und ES 700 (ES 600) können mit den beiden Autoloadersystemen im Feld nachgerüstet werden. Ein Autoloader kann mit bis zu 150 barcodierten Primärubes in 15 Racks bestückt werden. Durch Verwendung von Wegwerfspitzen und einer Drucksensor überwachten Pipettierung ist er in der Lage, verschleppungs- und gerinseltfrei Probenmaterial vom Autoloader auf die ES-Systeme in der benötigten Menge zu transferieren. Der Durchsatz der beiden Autoloader-Systeme beträgt ca. 100 Proben/130 min. Das Beladen des ES-Systeme und die notwendige manuelle Vorbereitungszeit wird dadurch drastisch verkürzt.

- Erweiterung der Systemsoftware TWIN

Barcodeübertragung von Testinformation

Mit der Einführung der Autoloader wird eine Erweiterung der User-Software realisiert. Die Software wird über einen manuellen Barcode-laser alle Herstellerinformationen zu Applikationen und Reagenzdaten automatisiert einlesen und verwalten. So entfällt z. B. das Einlesen von Sollwerten und Chargennummern.

Weiter wird nun das Reagenzverfallsdatum durch das System überwacht werden.

- Nachlademöglichkeit von Proben

Durch die Softwareerweiterung wird das bisherige starre RUN-Konzept der ES-Systeme überwunden. Die Software bietet dem Anwender nun an, größere Reagenzmengen auf dem System vorrätig zu halten und

entweder manuell oder via Autoloader Nachzüglerproben in einem bereits gestarteten Lauf zu integrieren.

- Etrus 300 -

Neue bedienerfreundliche Software in Window-Technologie

Mit der Etrus wird für ES300-Kunden eine bedienerfreundliche Software zur Verfügung gestellt werden. Sie ist leicht erlernbar und zeichnet sich durch eine gute Benutzerführung aus.

Neue Aspekte der Automation im Gerinnungslabor

P. Hellstern, B. Faller, F. J. L. M. Haas, B. van Sterkenburg, W. Speiser, S. Handler, H. Hubbuch, B. Zawta
Städt. Klinikum Ludwigshafen, Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie, Bremerstraße 79, 67063 Ludwigshafen

In vier europäischen Laboratorien wurden die analytische Performance und die Praktikabilität eines neuen selektiven Mehrkanal-Analysensystems STA (Boehringer Mannheim Diagnostica STAGO) beurteilt. Vergleichsuntersuchungen wurden mit den Geräten ACL 300R, KC 10 und KC 40 durchgeführt. Mit dem Analysensystem können sowohl Clotting-Tests wie auch chromogene Assays mit hoher Präzision gemessen werden.

Auf der Grundlage eines Evaluierungsprotokolls gemäß ECCLS-Empfehlungen wurden 17 verschiedene Meßgrößen untersucht.

Für die Globaltests Thromboplastinzeit, Hepato-Quick, aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT), Thrombinzeit mit 2 verschiedenen Thrombinkonzentrationen sowie Fibrinogen (nach Clauss) lagen die Variationskoeffizienten bei der Ermittlung der Interassay-Impräzision bei Auswertung auf Sekundenbasis deutlich unter 5 %. Gleich gute Variationskoeffizienten wurden bei der Ermittlung der Intraassay-Impräzision für mit chromogenen Tests bestimmtes Antithrombin III und Protein C im Entscheidungsbereich erhalten. Die Variationskoeffizienten bei der Ermittlung der Interassay-Impräzision lagen ebenfalls unter 5 % mit Ausnahme von Protein C, bestimmt mit dem Clotting-Test. Die Gerinnungsfaktoren II, V, VII und X konnten wesentlich präziser bestimmt werden (Variationskoeffizient unter 5 % bei serieller sowie Tag-zu-Tag-Impräzision) als die Gerinnungsfaktoren VIII, IX, XI und XII (Variationskoeffizienten von 5 % seriell und < 9 % von Tag zu Tag).

Alle Methoden waren über einen weiten Meßbereich linear, so daß Probenverdünnungen selten erforderlich waren. Die mit dem STA ermittelten Meßbereiche waren deutlich weiter als diejenigen, die mit den jeweiligen Vergleichsgeräten ermittelt wurden.

Es zeigten sich keine probenbedingten und den Routineablauf störenden Verschleppungseffekte. Vergleiche mit routineüblichen Geräten ergaben eine hohe Übereinstimmung ($r = 0,93$ bis $1,00$), sofern identische Meßprinzipien angewandt und identische Reagenzien benutzt wurden.

Die Prüfung unter Routinebedingungen hat bestätigt, daß das Analysensystem STA hinsichtlich Präzision, Analysenfrequenz und Weite des Meßbereiches den routineüblichen Vergleichsgeräten überlegen war.

Hämostasesystem - Tumorwachstum - Metastasierung: neue therapeutische und diagnostische Aspekte

Bedeutung von Tissue Factor in der Tumorbologie

P. Nawroth, Y. Zhang, J. Deng, V. Borcea, R. Ziegler
Univ. Heidelberg, Med. Klinik I, Bergheimer Str. 58, 69115 Heidelberg

Tissue Factor (TF) ist ein „immediate early gene“, das unabhängig von Proteinsynthese sofort mit Beginn der Zellteilung aktiviert wird. Um die Bedeutung von TF für die Tumormetastasierung und das Tumorwachstum zu untersuchen, wurden Maus Tumormodelle (Meth-A Sarkome und B-16 Melanom Zellen) mit TF cDNA in der sense-Orientierung (führt zur Überexpression biologisch aktiven TF), der antisense-Orientierung (blockiert TF Expression) und als Kontrollen mit TF truncated-sense und Vector alleine stabil transfiziert. Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

1. Tumorwachstum

TF Überexpression führt zu einem vermehrten Tumorwachstum in vivo, aber nicht in vitro. Das in vivo Wachstum läßt sich dadurch erklären, daß durch Überexpression von TF Angiogenese vermehrt ist, während antisense TF sie blockiert. TF-sense Transfektion induziert den Angiogenese Faktor VEGF, während TF-antisense VEGF supprimiert. Dies ist nicht von der Thrombinbildung abhängig.

Zusammenfassend:

TF ist ein immediate early gene, dessen Aktivierung an die Zellteilung gekoppelt ist, da Tumorwachstum nicht nur von der Zellteilung, sondern auch von ausreichender Gefäßneubildung abhängt. Der zentrale Initiator der Blutgerinnung ist demnach auch ein Regulator der Angiogenese.

2. Metastasierung

Die oben erwähnten stabilen Transfektanten wurden in einem in vivo Metastasierungsmodell getestet. TF-sense Zellen metastasieren etwas weniger als Kontrollen, TF-antisense Zellen metastasierten am meisten. Die TF exprimierenden Zellen (sense, truncated sense and Vector) konnten durch Antikoagulation der Tiere (oder durch Kaninchen anti-TF) an der Metastasierung gehemmt werden. Aber die vermehrte Metastasierung der TF-antisense Zellen wurde nicht durch Antikoagulation (oder Antikörper) verhindert. Die vermehrte Metastasierung nach Ausschalten von TF ist auf eine vermehrte Adhäsivität der Zellen zurückzuführen, da antisense-TF Thrombospondin Transkription stimuliert.

Zusammenfassend:

TF reguliert Metastasierung auf 2 Wegen:

Einer, der von seiner extrazellulären Domäne und Aktivierung der Gerinnung abhängig ist und ein zweiter, der unter Kontrolle der intrazellulären Domäne, die Adhäsivität der Tumorzellen reguliert.

Clotting Factors in Tumor Tissue: Implications for Cancer Therapy

Leo R. Zacharski, M. D.
VA Medical & Regional Office Center, Research Service, White River Function

It is common knowledge that blood coagulation and fibrinolysis are activated systematically in patients with malignancy. Recent studies have elucidated the complex and heterogeneous interactions between malignancy and coagulation or fibrinolysis reactions in humans that have clarified the pathogenesis of disseminated intravascular coagulation

that occurs with malignancy. These studies have revealed evidence for two distinct pathways that include either production by tumor cells of initiators of thrombin formation or plasminogen activators on the tumor cells in situ within intact tumor tissue. Studies in specific in vitro and animal models of malignancy have implicated either tumor cell procoagulants or urokinase in promoting malignant disease progression, because of the participation of one or the other of these in mechanisms of tumor cell proliferation, invasion, and metastasis. Inhibition of these pathways blocks tumor progression in experimental animals. We have formulated a classification of human tumor types based on detection of components of either of these pathways in situ. Type I tumors are those in which the tumor cells are associated with an intact coagulation pathway that leads to thrombin formation at the tumor periphery but in which the tumor cells lack urokinase. Examples of tumors in this category include small cell carcinoma of the lung, malignant melanoma, and renal cell carcinoma. Type II tumors are those in which the tumor cells express urokinase but lack an associated coagulation pathway leading to thrombin formation. Examples of type II tumors include prostate cancer, colon cancer, breast cancer, and non-small cell lung cancer. Type III tumors are those that express neither of these

pathways, or exhibit some other pattern of interaction.

Mounting evidence suggests that anticoagulant therapy is capable of ameliorating the clinical course of a procoagulant tumor type namely, small cell carcinoma of the lung. Clinical trials of agents capable of inhibiting urokinase-initiated proteolysis are required to clarify cause/effect relationships in urokinase-expressing tumors.

Exploration of the coagulation-cancer interaction holds considerable promise for gaining new understanding of both the coagulation mechanism and tumor biology. Most intriguing is the prospect that imaginative approaches to cancer treatment may be devised that are not only relatively nontoxic and low cost, but also effective because they interrupt fundamental mechanisms of malignant growth control.

Changes of platelet membrane integrins in patients with acute leukemia

E. Seifried
Red Cross Donor Service and Inst. of Immunohematology, University Frankfurt/Main

Introduction

Platelet membrane glycoproteins (GP) play a key role in platelet adhesion and aggregation. The molecular defects of these GPs may result in abnormal hemostasis. Since patients with acute leukemia often reveal an unclear hemorrhagic diathesis, we analyzed different platelet membrane glycoproteins using flow cytometry.

Patients

47 consecutive patients with AML (AML M1 n = 9, AML M2 n = 14, AML M3 n = 5, AML M4 n = 11, AML M5 n = 5, AML M6 n = 2, AML M7 n = 1), 16 patients with ALUUAUL.

Results

Antibodies %	GP Ib %	GP IIb/IIIa %	GP Ia/IIa %	GP IV %
AML n = 47	49 ± 11*	79 ± 8	66 ± 9	79 ± 11*
ALUUAUL n = 16	66 ± 5*	83 ± 10	66 ± 14	84 ± 9
Normal controls n = 24	98 ± 11	97 ± 14	74 ± 11	98 ± 12

* p < 0.05

Mean ± SD

Conclusion

The results suggest that in AML- and ALL-patients as compared to controls membrane glycoproteins, in particular GP Ib and GP IV are decreased. This effect is most pronounced in AML-patients.

We hypothesize that there may be three possibilities at least for this reduction:

- (1) a pathological clone of megakaryocytes, in which distinct platelet membrane glycoproteins are absent, might be produced.
- (2) proteolytic activity in plasma might degrade membrane glycoproteins
- (3) platelets passing through microcirculation, in which disseminated microthrombi had formed, lost their membrane GPs.

Prophylaxe und Therapie der Thrombose bei Malignomen

J. Harenberg
I. Medizinische Klinik, Klinikum Mannheim

Die Thrombose und Lungenembolie als paraneoplastisches Syndrom bei Malignomen stellen eine ernst zu nehmende Komplikation dar. Eine Chemotherapie und immunstimulierende Therapie maligner Erkrankungen verstärkt die Hyperkoagulabilität. Bei Vorliegen weiterer Risikofaktoren zur Thrombogenese steigt das Thromboembolierisiko zusätzlich. Weiterhin ist von Bedeutung, daß sowohl Thrombininhibitoren als auch Vitamin-K-Antagonisten antineoplastische und antimetastatische Effekte besitzen. Die vorliegenden klinischen Studien zur Thromboembolieprophylaxe bei Malignomen lassen folgende Strategien für die Klinik zu:

1. Eine primäre Thromboembolieprophylaxe bei Malignompatienten ist bei Vorliegen zusätzlicher Risikofaktoren wirksam und streng indiziert.
2. Eine Rezidivprophylaxe bei Malignompatienten richtet sich nach den bekannten Indikationen und Kontraindikationen für Antikoagulantien.
3. In der Akutphase sind Thrombininhibitoren und in der Rezidivprophylaxe Vitamin-K-Antagonisten die Substanzen der Wahl.

Die Therapie der akuten, manifesten Thrombose bei Malignompatienten ist unter Berücksichtigung der Kontraindikationen für Antikoagulantien und Fibrinolytika konsequent durchzuführen. Die Indikation zur aggressiven Therapie mit fibrinolytisch wirksamen Substanzen ist aufgrund der höheren Nebenwirkungsrate strenger zu überdenken als bei Patienten ohne Malignome. Bei Antikoagulantien können Blutungskomplikationen aufgrund vielfältiger Mechanismen häufiger auftreten, so daß eine weniger strenge Antikoagulation durchgeführt werden sollte. Die klinische Datenlage zur Beeinflussung des Tumorstadiums und der Reduzierung des Grades der Metastasierung ist derzeit noch nicht überzeugend, wenn auch experimentelle Befunde zu einzelnen Tumoren positiv sind.

Die vorliegenden klinischen Studien zeigen, daß durch eine konsequente Thromboembolieprophylaxe bei Patienten mit Malignomkrankungen und die Therapie der akuten Thrombose und Lungenembolie ohne Zunahme von Nebenwirkungen ein gesichertes therapeutisches Konzept darstellen.

Das Urokinase-Urokinase-Rezeptor-System (CDB7): eine neue Zielgröße der Krebstherapie?

M. Schmitt, O. Wilhelm, F. Jänicke, U. Weidle, H. Graeff
Frauenklinik und Poliklinik der Technischen Universität München, Klinik rechts der Isar, Ismaninger Straße 22, 81675 München

Die Malignität solider Tumoren ist eng verknüpft mit einer erhöhten Proliferationsrate und der Fähigkeit der Tumorzellen zur Gewebeanvasion und Metastasierung. Diese zwei Möglichkeiten der Tumorausbreitung können den Tod des Tumorpatienten bewirken. Die Fähigkeit der Tumorzellen, die Basalmembran, das umliegende Gewebe und

die extrazelluläre Matrix zu durchdringen, wird durch von den Tumorzellen ausgeschütteten Proteasen bestimmt. Proteasen (z. B. Plasmin, Kathepsine, Metalloproteasen) werden als inaktive Vorstufen (Proenzyme) synthetisiert, welche dann durch aktive Proteasen in ihre Wirkform überführt werden. Die enzymatische Aktivität der Proteasen kann durch Interaktion mit speziellen Protease-Inhibitoren blockiert werden (limitierte Proteolyse).

Plasminogen wird durch den Urokinase-Typ Plasminogenaktivator (uPA) in Plasmin überführt. Beide, uPA und Plasmin, binden an Rezeptoren auf normalen und auf Tumorzellen uPA und sein Inhibitor PAI-1 sind entscheidend bei der tumorassoziierten Proteolyse beteiligt. Dies wird durch klinische Daten belegt: Eine erhöhte Konzentration an uPA und/oder PAI-1 in Patienten mit Brustkrebs, Magenkrebs, Lungenkrebs oder Eierstockkrebs ist mit einer schlechten Prognose (Rezidivhäufigkeit, Überleben) korreliert. Die Beobachtung, daß sowohl uPA als auch PAI-1 starke und unabhängige prognostische Faktoren für Rezidivhäufigkeit und Überlebenswahrscheinlichkeit sind, sind durch mehrere Arbeitsgruppen bestätigt worden. Für nodalnegative Brustkrebspatientinnen ist in Deutschland durch uns, zusammen mit 12 anderen Universitätskliniken, eine multizentrische Therapiestudie gestartet worden. Nodalnegative Brustkrebspatientinnen werden immer dann adjuvant mit Chemotherapeutika behandelt, wenn ein bestimmter Stellenwert (cut-off) für uPA und/oder PAI-1 überschritten wird.

Die spezifische, hochaffine Interaktion von uPA mit dem Rezeptor uPA-R (CD87) auf Tumorzellen ist sehr gut bekannt. In Tiermodellen (Nacktmäuse) konnte gezeigt werden, daß die Tumorausbreitung und die Metastasierung durch Unterbrechung der uPA/uPA-R Interaktion vermindert werden kann. Somit eröffnet sich für die Zukunft die Möglichkeit, die Unterbrechung der uPA/uPA-R Interaktion als eine an der Tumorbiologie orientierte Therapieform einzusetzen. Dazu werden 3 unterschiedliche Strategien verfolgt:

1. Einbringen von Antisense-Oligonukleotiden gegen uPA bzw. uPA-R in die Tumorzelle, mit dem Ziel, die Synthese von uPA oder uPA-R zu blockieren.
2. Unterbrechung der Interaktion von uPA/uPA-R durch folgende Reagenzien, Antikörper gegen uPA oder uPA-R, löslicher uPA bzw. uPA-Peptidanaloga, löslicher uPA-R bzw. uPA-R-Peptide.
3. Inaktivierung der enzymatischen Aktivität durch natürliche (z. B. PAI-1, PAI-2) oder chemisch-synthetisierte uPA-Inhibitoren.

Immunologische Reaktionsabläufe bei malignen Erkrankungen

V. Schirmmayer

Deutsches Krebsforschungszentrum, Abteilung Zelluläre Immunologie, Im Neuenheimer Feld 280, 69120 Heidelberg

Die therapeutischen Möglichkeiten zur Bekämpfung von Krebs und seinen Metastasen sind durch Immuntherapien und kürzlich durch eine neue Technologie, die als Gentherapie bezeichnet wird, erweitert worden. So können beispielsweise Gene, die für immunologisch relevante Moleküle kodieren, in Tumorzellen, akzessorische Zellen oder in Effektorzellen eingeführt werden, um entweder in aktiven Immunisierungsverfahren oder in passiven (adoptiven) Zelltransferverfahren zum Einsatz zu kommen.

Als immunologisch relevante Moleküle können die folgenden zur Zeit benannt werden: Tumor-assoziierte Antigene, Histokompatibilitätsantigene, Zelladhäsionsmoleküle, kostimulatorisch wirksame Moleküle, Wachstumsfaktoren, Zytokine und biologische Response-Modifikator. Tumor-assoziierte Antigene können spezifisch von Antikörpern oder von T-Zellen über deren T-Zellrezeptorkomplex erkannt werden. Auf beiden Ebenen wurden in den letzten Jahren erhebliche Fortschritte erzielt, wenngleich eine absolute Spezifität derartiger Antigene für Tumorzellen bisher nicht erkennbar ist. Oft mag es sich um quantitative Veränderungen in der Expression bestimmter Differenzierungs-Antigene handeln oder um Veränderungen in der posttranslationalen Modifikation entsprechender Genprodukte. Von besonderer Bedeutung erscheinen natürlich solche Antigene, die von dem Tumor-tragenden Wirt selbst als immunogen erkannt werden können. Unter den verschiedenen Arten von Antitumor-Immunantworten

erscheinen jene besonders relevant, die zu einer Tumorabstoßung und zu einem immunologischen Gedächtnis führen. Derartige Tumor-assoziierte Transplantationsantigene (TATA) wurden sowohl auf chemisch induzierten wie auch auf durch Virus oder UV-Bestrahlung induzierten Tiertumoren beschrieben. TATA werden im allgemeinen von T-Zellen erkannt. Kürzlich wurden die ersten Gene identifiziert, die von autologen T-Zellen auf humanen Melanomzellen für Tumorantigene kodieren.

Auch von Tumorzellen direkt sekretierte Lymphokine können eine wichtige Rolle bei der Tumorabwehr spielen. Dieses wurde in den letzten Jahren in einer Vielzahl von Tumoren, in denen Zytokine transgenisiert wurden, nachgewiesen. Neben den Tumorantigenen und Zytokinen sind auch Zelladhäsionsmoleküle wie zum Beispiel ICAM und kostimulatorisch wirksame Moleküle, wie B7, das mit CD28 auf T-Zellen interagiert oder LFA-3, das mit CD2 auf T-Zellen interagiert, kloniert und charakterisiert worden, so daß sie ebenfalls für Gentransferansätze zur Verfügung stehen.

Bei der Vielzahl von Immuntherapien erscheint es sinnvoll, zwischen aktiven und passiven Verfahren zu unterscheiden. Aktive Immuntherapieverfahren lassen sich noch einmal in spezifische und unspezifische Verfahren unterteilen je nach dem, ob das immunmodulierende Agens Tumor-assoziierte Antigene enthält oder nicht. Bei den passiven Immuntherapieverfahren kann wiederum zwischen Antikörper-vermittelten Verfahren (Immunseren, monoklonale Antikörper, Immuntoxine etc.) und adoptiven Immuntherapieverfahren, die auf dem Transfer von Effektorzellen basieren, unterschieden werden. Einige unterschiedliche Strategien der Immuntherapie bei Krebserkrankungen seien kurz genannt:

- a) aktiv-spezifische Immuntherapien (ASI) unter Verwendung von modifizierten Tumorstoffen oder von Antidiotypvakzinen
- b) unspezifische Immunstimulanzien mit biologischen Response-Modifiern
- c) Tumortargeting mit radioaktiv-markierten monoklonalen Antikörpern (Radio-Immuntherapie) oder mit Immuno-Toxinen
- d) ex vivo Behandlung von patienteneigenem Plasma zur Entfernung von suppressiven Faktoren
- e) ex vivo Stimulierung von patienteneigenen Leukozyten zur Verstärkung ihrer Antitumoreigenschaften und zur Vermehrung ihrer Zahl zwecks Re-Infusion in den Patienten
- f) immunologische Rekonstitution von durch Hochdosis Chemo- oder Strahlentherapie behandelten Patienten durch autologe Knochenmarkszellen nach ex vivo Tumorzellzerstörung oder durch allogene Knochenmarkszellen zur Erzielung eines Graft versus Leukämie (GVL-Effekts) und
- g) zellvermittelte Zytokin-aktivierte Immuntherapien nach allogener Knochenmarkstransplantation.

Klinische Krebsimmuntherapie sollten mit einem guten immunologischen Monitoring begleitet werden. Da immunologische Reaktionsabläufe bei malignen Erkrankungen sehr komplex sind, gilt dieses auch für immunologische Reaktionsabläufe als Folge von immuntherapeutischen Eingriffen. Es geht hier beispielsweise darum, Antitumor-Effektorzellen zu charakterisieren und zu quantifizieren, die Beteiligung von Zytokinen zu messen, Immunreaktionen gegen tumorassoziierte Antigene zu bestimmen und möglicherweise Immunescape-Mechanismen von Seiten des Tumors zu verfolgen. Immuntherapie, Immunmodulation und immunologisches Monitoring gehören eng zusammen. Nur so kann allmählich eine Immuntherapie etabliert werden, die neben den herkömmlichen Therapiestrategien zum Standard gehören wird.

Korrespondenzadresse:

Dr. E. Spanuth
Boehringer Mannheim GmbH
Sandhofer Straße 116
68305 Mannheim

(Ein ausführlicher Symposiumsbericht befindet sich in Vorbereitung)