

Bestimmung von Lipoprotein(a): Vergleich eines neuen latexverstärkten immunoturbidimetrischen Assay mit einem immunoradiometrischen Assay

Determination of Lipoprotein(a): Comparison of a Novel Latex Enhanced Immunoturbidimetric Assay and a Immunoradiometric Assay

R. Siekmeier^{1,2,3}, W. März⁴, H. Scharnagl⁴, M. Nauck⁴, H. Mayer⁴, H. Wieland⁴, W. Groß², U. B. Seiffert¹

Zusammenfassung: Zur Bestimmung von Lipoprotein(a) (Lp(a)) im Serum, einem unabhängigen Risikofaktor für Atherosklerose, steht eine Reihe immunologischer Methoden zur Verfügung, die sich in ihrer Präzision, Richtigkeit und Automatisierbarkeit unterscheiden. Eine neue Methode ist die immunoturbidimetrische Bestimmung von Lp(a). Ziel dieser Studie war der Vergleich dieses neuen, latexverstärkten immunoturbidimetrischen Assays (ITA) mit einer etablierten immunoradiometrischen Methode (IRMA). Die beiden Methoden unterschieden sich praktisch nicht im Hinblick auf die Präzision und die Stabilität der Meßgröße bei Lagerung und Einfrieren der Serumproben. Vergleichsmessungen in 195 Seren des Routinelabors ergaben, daß der Zusammenhang zwischen den Methoden durch die Potenzfunktion $y = 13,74 + 0,086 \times 1,405$ ($r = 0,968$) beschrieben wird. Wegen der Abweichung von der Linearität besteht nur im Bereich zwischen 300 bis 500 mg/l eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse. Bei niedrigeren Konzentrationen waren die Ergebnisse des ITA falsch niedrig, bei höheren Konzentrationen lieferte der ITA falsch hohe Ergebnisse. In Normalkollektiven liegen nur etwa 10% der Lp(a)-Konzentrationen zwischen 300 und 500 mg/l. Bei Anwendung des neuen ITA ist daher in ungefähr 90% der untersuchten Proben mit Fehlbestimmungen des Lp(a) zu rechnen. Der latexverstärkte ITA wird aufgrund seiner fraglichen Richtigkeit zur Anwendung in der Diagnostik nicht empfohlen.

Schlüsselwörter: Lipoprotein(a)/Serum; Lipoprotein(a)/Analytik; Nephelometrie und Turbidimetrie; Latexfixationstest; Immunoradiometrischer Assay; Falsch positive Ergebnisse; Falsch negative Ergebnisse.

Summary: Serum Lipoprotein(a) (Lp(a)) concentration is an independent risk factor of atherosclerosis. It can be determined by different immunological methods which differ with regard to their precision, accuracy and the degree of automation. A novel method allows the determination of Lp(a) by latex enhanced immunoturbidimetry. The purpose of this study was to compare the new immunoturbidimetric assay (ITA) with an established immunoradiometric assay (IRMA) for the quantification of Lp(a). The two methods virtually did not differ with regard to their precision and the stability of the analyte on storage or freezing of the sample. Lp(a) was measured in parallel in 195 samples from the workload of the routine laboratory. Comparison of the methods revealed that the relationship between the results obtained with the ITA and the IRMA could be described by the nonlinear regression formula $y = 13.74 + 0.086 \times 1.405$ ($r = 0.968$). The results of the two methods corresponded well in samples with Lp(a) concentrations ranging from 300 to 500 mg/l. At lower concentrations, the results of the ITA were falsely low, at higher concentrations the ITA provided falsely high values. In normal populations approximately 10% of the Lp(a) concentrations are within the range of 300 to 500 mg/l. This means that the ITA would be inaccurate in approximately 90% of the samples investigated. According to our data, the accuracy of the new latex enhanced ITA remains questionable. It is therefore not recommended for routine diagnostic use.

Keywords: Lipoprotein(a)/serum; Lipoprotein(a)/analysis; Nephelometry and Turbidimetry; Latex Fixation Tests; Immunoradiometric Assay; False Positive Reactions; False Negative Reactions.

¹ Zentrallabor, Zentrum der Inneren Medizin, J.W. Goethe-Universität Frankfurt/Main

² Labor für angewandte Biochemie, Gustav Embden-Zentrum der Biologischen Chemie, J.W. Goethe-Universität Frankfurt/Main

³ Korrespondenzadresse: Dr. med. R. Siekmeier, Labor für angewandte Biochemie, Gustav Embden Zentrum für Biologische Chemie, Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Theodor Stern-Kai 7, D-60590 Frankfurt/Main. Fax: +49-069/6301-5937

⁴ Abteilung Klinische Chemie, Medizinische Klinik, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

Lp(a) stellt einen von den übrigen Plasmalipoproteinen unabhängigen Risikofaktor für die Entstehung von Atherosklerose und koronarer Herzkrankheit dar [1-7]. Der Proteinanteil des Lp(a) besteht aus Apolipoprotein (Apo) B-100 und Apo(a). Apo(a) ist über eine Disulfidbrücke kovalent mit Apo B-100 verknüpft [8-11]. Derzeit steht für die Bestim-

mung von Lp(a) eine Reihe immunologischer Verfahren wie Elektroimmunoassay [1, 12], Nephelometrie [13], Radioimmunoassay [14, 15] und Enzymimmunoassay [14-18] zur Verfügung, die sich im Hinblick auf Richtigkeit, Präzision und Automatisierbarkeit zum Teil erheblich unterscheiden. Eine neue Methode erlaubt nunmehr die Bestimmung von Lp(a) mit einem latexverstärkten immunoturbidimetrischen Assay (ITA). Ziel dieser Studie war der Vergleich des neuen ITA mit einer in früheren Studien mehrfach evaluierten radioimmunometrischen Methode [14, 15] zur Messung des Lp(a).

Material und Methoden

Seren

Untersucht wurden 195 konsekutive Seren nüchternter Patienten beiderlei Geschlechts, die aus dem Untersuchungsgut der klinisch-chemischen Routineanalytik entnommen wurden. Die Proben wurden nach vollständigem Ablauf der Gerinnung zentrifugiert und - mit Ausnahme der in den Stabilitätsuntersuchungen eingesetzten Proben - frisch aufgearbeitet.

Immunoturbidimetrischer Assay

Der latexverstärkte ITA für Lp(a) wurde nach Angaben des Herstellers (WAK Chemie, Bad Homburg, FRG) auf einem Hitachi 704 (Boehringer Mannheim, Mannheim, FRG) durchgeführt. Zur Erstellung der Kalibrationskurve wurde der mitgelieferte Kalibrator manuell vorverdünnt. Die Bestimmung der Patientenserien erfolgte ohne weitere Vorbehandlung vollautomatisiert. Der vom Hersteller angegebene Meßbereich liegt zwischen 0 und 1000 mg/l.

Immunoradiometrischer Assay

Die immunoradiometrische Bestimmung des Lp(a) erfolgte mit einem kommerziellen Assay (Mercodia Diagnostics AB, Uppsala, Schweden) nach Anleitung des Herstellers [14, 15, 19]. Im Testansatz sind zwei monoklonale Antikörper gegen Lp(a) im Überschuss vorhanden. Apo(a) reagiert sowohl mit dem an Sepharosepartikel gebundenen monoklonalen Antikörper cl280 (capturing antibody) als auch mit dem ¹²⁵I-markierten monoklonalen Antikörper cl356 (tracer antibody). Nach einer Inkubationszeit von 60 Minuten wurde der an Sepharosepartikel gebundene Antigen-Antikörper-Komplex vom freien Antikörper durch Zentrifugation abgetrennt, der Überstand dekantiert und die Radioaktivität im pellet bestimmt. Die Auswertung wurde anhand einer Standardkurve vorgenommen. Die so in der Einheit U/l erhaltene Lp(a)-Konzentration wurde mit 0,54 multipliziert, um Ergebnisse in mg/l zu erhalten [15].

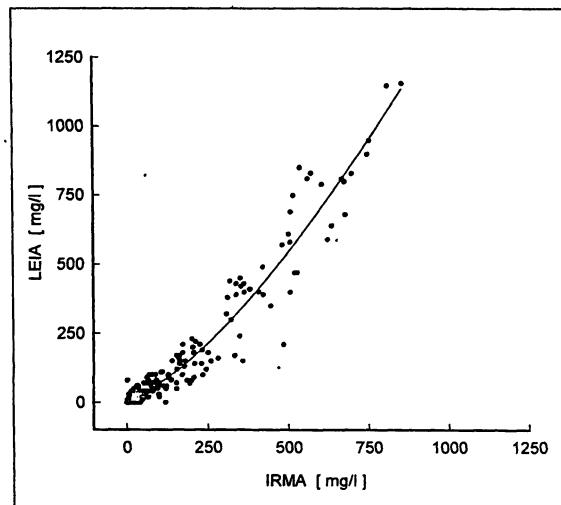


Abbildung 1 Bestimmung von Lp(a) mit einem latexverstärkten immunoturbidimetrischen Assay (LEIA) und einem immunoradiometrischen Assay (IRMA). Die Gleichung der eingezeichneten Regressionsfunktion lautet $y = 13,74 + 0,086 \times 1,405$, der nicht-lineare Korrelationskoeffizient beträgt $r = 0,968$.

Reproduzierbarkeit

Zur Bestimmung der Präzision in Serie wurden vier Proben jeweils achtfach mit beiden Methoden analysiert.

Stabilität

Die Stabilität der Proben bei 4 °C wurde durch Messung fünf verschiedener Proben an fünf aufeinanderfolgenden Tagen ermittelt. Parallel dazu wurden die gleichen Proben frisch und nach einmaligem Einfrieren und Auftauen untersucht.

Linearität

Zur Untersuchung der Linearität beider Bestimmungsmethoden wurde eine Serumprobe mit bekannter hoher Lp(a)-Konzentration in verschiedenen Verhältnissen mit einer Serumprobe sehr niedriger Lp(a)-Konzentration (<20 mg/l) gemischt und Lp(a) in den Mischungen bestimmt.

Statistik

Die statistischen Berechnungen (Rangkorrelation r_s nach Spearman, Wilcoxon's matched pairs signed ranks test und H-Test nach Kruskal-Wallis) wurden mit Systat (5.0) durchgeführt. Nicht-lineare Anpassungen wurden mit dem Programm TableCurve 2D (Jandel Scientific, Erkrath) vorgenommen.

Ergebnisse

In 195 Serumproben aus der Routineanalytik wurde mit beiden Methoden ein Mittelwert von 160 mg/l bestimmt. In Abb. 1 sind die Ergebnisse beider Methoden dargestellt.

Nicht standardisierte Abkürzungen: Apo, Apolipoprotein; Lp(a), Lipoprotein(a); IRMA, Immunoradiometrischer Assay; ITA, Immunoturbidimetrischer Assay.

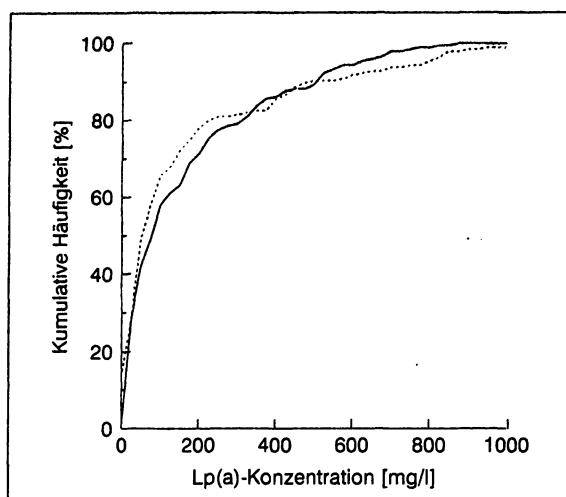


Abbildung 2 Kumulierte Häufigkeitsverteilungen der Lp(a)-Konzentrationen in 195 Serumproben. Durchgezogene Linie: Meßergebnisse des latexverstärkten immunoturbidimetrischen Assays (ITA); gestrichelte Linie: Meßergebnisse des immunoradiometrischen Assays (IRMA).

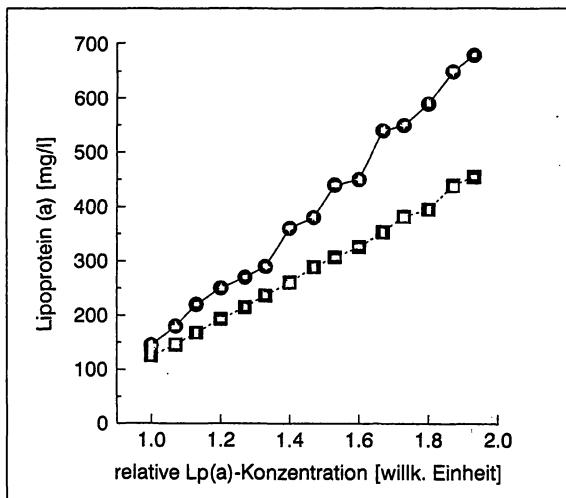


Abbildung 3 Prüfung der Linearität der Bestimmung von Lp(a) mit einem latexverstärkten immunoturbidimetrischen Assay (ITA, durchgezogene Linie) und mit einem immunoradiometrischen Assay (IRMA, gestrichelte Linie). Aliquots einer Probe mit Lp(a) < 10 mg/l und einer Probe mit hoher Lp(a)-Konzentration wurden in unterschiedlichen Verhältnissen miteinander gemischt.

den gegeneinander aufgetragen. Die beiden Verfahren stimmten damit auf den ersten Blick gut miteinander überein. Der nicht-parametrische Korrelationskoeffizient (*Spearman's Rangkorrelation*) betrug $r_s = 0,899$; der Pearson'sche Korrelationskoeffizient betrug $r = 0,956$. Wie in Abb. 1 zu erkennen ist, besteht jedoch zwischen den beiden Methoden offensichtlich keine lineare Beziehung. Der Zusammenhang zwischen beiden Methoden wird gut durch eine Potenzfunktion ($y = 13,74 + 0,086 \times x^{1,405}$; $r = 0,968$) beschrie-

ben. Abb. 2 zeigt die kumulierten Häufigkeiten der mit beiden Methoden erhaltenen Lp(a)-Konzentrationen. 79% bzw. 81,5% (IRMA bzw. ITA) der Meßwerte lagen unter 300 mg/l; 10,8% bzw. 9,7% (IRMA bzw. ITA) der Meßwerte lagen über 500 mg/l. Wie aufgrund der Abweichung der Regressionsfunktion von der Linearität zu erwarten war, mißt der ITA Lp(a) im Bereich zwischen 0 und 300 mg/l falsch niedrig ($n = 154$; Mittelwerte: IRMA 74 ± 71 mg/l und ITA 57 ± 57 ; $p < 0,001$ im Rangsummentest nach *Wilcoxon*). Zwischen 300 und 500 mg/l stimmten die beiden Methoden gut überein. Über 500 mg/l wird Lp(a) im ITA zu hoch bestimmt ($n = 21$; Mittelwerte: IRMA 619 ± 106 mg/l und ITA 751 ± 195 mg/l; $p < 0,001$ im Rangsummentest nach *Wilcoxon*).

Die Variationskoeffizienten in Serie wurden durch achtfache Bestimmungen in vier Proben mit Lp(a)-Konzentrationen zwischen 127 mg/l und 386 mg/l bestimmt; sie betragen zwischen 1,3% und 3,4% im ITA und zwischen 2,8% und 4,4% im IRMA (manuell durchgeführt). Variationskoeffizienten von Tag zu Tag wurden in fünf verschiedenen Proben bestimmt. Jede Probe wurde an fünf aufeinanderfolgenden Arbeitstagen analysiert. Die Variationskoeffizienten betragen zwischen 2,4% und 8,0% im ITA bzw. zwischen 3,7% und 9,2% im IRMA, wobei niedrige Lp(a)-Konzentrationen mit hohen Variationskoeffizienten, hohe Lp(a)-Konzentrationen mit niedrigen Variationskoeffizienten einhergingen.

Lagerung der Proben bei $+4^{\circ}\text{C}$ über einen Zeitraum von fünf Tagen beeinflußte die mit beiden Methoden gemessenen Lp(a)-Konzentrationen nicht. Auch einmaliges Einfrieren und Auftauen führte bei keiner der beiden Methoden zu praktisch relevanten Veränderungen der Lp(a)-Konzentrationen.

Wie die Abb. 3 zeigt, war der IRMA im gesamten Meßbereich linear; dies trifft für den ITA nicht zu. Im Bereich hoher Weite werden mit dem ITA die Lp(a)-Konzentrationen falsch hoch bestimmt.

Um einen Einfluß der Triglyceridkonzentration auf die Bestimmung des Lp(a) auszuschließen, haben wir die mittleren Triglyceridkonzentrationen in Proben mit Lp(a) bis 300 mg/l mit denjenigen in Proben mit Lp(a) über 300 mg/l verglichen. Wie Tabelle 1 zeigt, waren die Triglyceride in beiden Gruppen praktisch gleich. Interessanterweise fanden wir in den Proben mit Lp(a) über 300 mg/l signifikant erhöhte Konzentrationen an Cholesterin und HDL-Cholesterin ($p < 0,05$ im nicht-parametrischen Test nach *Kruskal und Wallis*).

Diskussion

Ziel dieser Studie war die Evaluierung eines neuen ITA zur Bestimmung des Lp(a). Als Referenzmethode diente ein mehrfach evaluerter IRMA [14, 15]. Korrelationsanalyse, Vergleich der mit beiden Methoden erhaltenen kumulierten relativen Häufigkeitsverteilungen und Prüfung der Linearität ergaben überein-

stimmend, daß der ITA hohe Lp(a)-Konzentrationen um etwa 20 % überschätzt. Im Gegensatz dazu sind die mit dem ITA erhaltenen Werte im Bereich zwischen 0 mg/l und 300 mg/l um etwa 23 % zu niedrig.

Die Triglyzeride unterschieden sich nicht zwischen Proben mit hohen und niedrigen Lp(a)-Konzentrationen. Aus diesem Grund ist es unwahrscheinlich, daß die falsch hohen Werte des ITA im hohen Meßbereich durch hohe Triglyzeride und damit eine hohe Eigentrübung der Proben bedingt sind. Auch die Ergebnisse der Linearitätsprüfung, die mit normotriglyzeridämischem Serum durchgeführt wurde, machen es unwahrscheinlich, daß die falsch hohen Meßwerte des ITA auf eine trübungsbedingte Beeinflussung der Messung zurückzuführen sind. Vielmehr sprechen sie dafür, daß es im ITA bei hohen Lp(a)-Konzentrationen zu einer überproportionalen Erhöhung des Meßsignals zu kommt.

Wie wir mehrfach gezeigt haben, unterscheiden sich die zur Zeit kommerziell verfügbaren Meßsysteme für Lp(a) um bis zu 100 % in ihrer Kalibration [15]. Aus diesem Grund herrscht in der Praxis derzeit beträchtliche Unsicherheit bei der Interpretation von Lp(a)-Konzentrationen, ganz besonders dann, wenn Messungen aus verschiedenen Laboratorien miteinander verglichen werden. Erfreulicherweise bestehen zwischen den meisten Assays lineare Korrelationen über den gesamten Meßbereich, so daß die Ergebnisse ineinander konvertierbar sind und die Unterschiede in den Kalibrationen durch Verwendung eines einheitlichen Standards leicht beseitigt werden könnten. Dies trifft für den ITA aufgrund der deutlichen Abweichungen von der Linearität nicht zu.

Eine mögliche Ursache für die Abweichung des ITA von der Linearität könnte die Heterogenität des Lp(a) sein. Apo(a) ist homolog zum Plasminogen [20]. Es enthält eine interindividuell variable, genetisch determinierte Anzahl von kringle IV-Domänen, eine kringle V-Domäne und eine Proteasedomäne [20]. Die unterschiedliche Anzahl von kringle IV-Einheiten resultiert in einem Längenpolymorphismus des Apo(a), dessen molare Massen zwischen 400 und 700 kD liegen können [21]. Der Polymorphismus des Apo(a) ist mit der Konzentration des Lp(a) invers korreliert, d.h. Isoformen mit einer geringen Zahl von

kringle IV-Domänen liegen in hoher Konzentration, große Isoformen dagegen in niedriger Konzentration im Plasma vor [1]. Weil die kringle IV-Domänen untereinander homolog sind, enthält Apo(a) eine variable Zahl repetitiver Epitope. Assays für Lp(a), die nur auf der Detektion von Apo(a) beruhen, könnten damit durch den Längenpolymorphismus des Apo(a) beeinflußt werden [1]. Wird die Standardisierung mit einer Apo(a)-Isoform mittlerer molarer Masse vorgenommen, so sollten die Ergebnisse immunologischer Messungen bei Isoformen mit hoher molarer Masse (niedrige Konzentrationen im Plasma) höher ausfallen als aufgrund der molaren Konzentration zu erwarten wäre. Umgekehrt sollte bei Isoformen mit niedriger molarer Masse (und damit hohen Konzentrationen im Plasma) der Meßwert scheinbar niedriger ausfallen.

Sandwich-Immunoassays, bei denen Lp(a) mit Antikörpern gegen Apo(a) immobilisiert wird und die Detektion mit Antikörpern gegen Apo B-100 erfolgt, sind gegenüber dem Größenpolymorphismus des Apo(a) insensitiv [14, 15]. Interessanterweise scheint aber auch der in dieser Arbeit als Vergleichsmethode eingesetzte IRMA vom Größenpolymorphismus des Apo(a) nicht beeinflußt zu werden [14, 15]. Bei allen bisher in unseren Laboratorien durchgeführten Vergleichsuntersuchungen erhielten wir lineare Beziehungen zwischen dem IRMA und Assays, die vom Apo(a)-Polymorphismus unabhängig sind [14, 15, Siekmeier und März, unveröffentlicht]. Wir nehmen daher an, daß der monoklonale Antikörper, der im IRMA zur Detektion von Apo(a) dient, ein singuläres Epitop erkennt [14]. Die Ursache für die nicht-lineare Beziehung zwischen IRMA und ITA ist damit kaum beim IRMA zu suchen.

Es ist auch unwahrscheinlich, daß die nicht-lineare Beziehung zwischen dem ITA und dem IRMA auf die Größenheterogenität des Apo(a) zurückzuführen ist. In einem solchen Fall wäre zu erwarten, daß die Ergebnisse des ITA im hohen Konzentrationsbereich unterhalb, bei niedrigen Konzentrationen dagegen oberhalb einer linearen Regressionsgeraden liegen. Tatsächlich wurden aber genau umgekehrte Abweichungen beobachtet. Die Ursache für die Abweichung des ITA von der Linearität bleibt damit ungeklärt. Die Frage, ob das Prinzip der latexvermittelten Präzi-

Tabelle 1 Konzentrationen von Lipiden und Lipoproteinen in n = 195 Serumproben mit Lp(a)-Konzentrationen von 0 mg/l bis 855 mg/l und Darstellung in zwei Untergruppen mit Lp(a)-Konzentrationen ≤ 300 mg/l oder > 300 mg/l

Lp(a) ^a (mg/l)	0 bis 855 Anzahl	0-300 195	301-855 154	p ^c
Gesamt-Triglyceride (g/l)	1,79 \pm 1,30 ^b	1,82 \pm 1,35	1,65 \pm 1,09	0,680
Gesamt-Cholesterin (g/l)	2,18 \pm 0,57	2,11 \pm 0,53	2,44 \pm 0,06	0,001
HDL-Cholesterin (g/l)	0,47 \pm 0,17	0,45 \pm 0,15	0,55 \pm 0,21	0,027
Lp(a) _{IRMA} (mg/l)	160 \pm 200	70 \pm 70	500 \pm 150	
Lp(a) _{ITA} (mg/l)	160 \pm 240	60 \pm 60	560 \pm 250	

^a Stratifizierung anhand der Ergebnisse des IRMA.

^b Mittelwerte \pm Standardabweichungen.

^c Proben mit Lp(a) ≤ 300 mg/l (n=154) versus Proben mit Lp(a) > 300 mg/l (n = 41).

pitatverstärkung mit der Quantifizierung des Lp(a), eines an sich schon sehr hochmolekularen Antigens, inkompatibel ist, bedarf weiterer systematischer Überprüfung.

Die Variationskoeffizienten in Serie und von Tag zu Tag waren für beide Methoden zufriedenstellend. Sowohl IRMA als auch ITA sind weitgehend robust gegenüber einmaligem Einfrieren und Aufthauen der Proben. Auch die Aufbewahrung der Proben bei 4 °C über einen Zeitraum von fünf Tagen hatte keinen Einfluß auf die Ergebnisse. Ein wesentlicher Vorteil des neuen, latexverstärkten ITA für Lp(a) liegt in der vollständigen Mechanisierbarkeit der Messungen. Eine Vorverdünnung der Proben ist nicht notwendig.

Leider zeigte der ITA eine gute Übereinstimmung mit der Referenzmethode nur im Bereich von Lp(a)-Konzentrationen zwischen 300 mg/l und 500 mg/l. Damit liefert er in etwa 90 % aller untersuchten Proben entweder falsch niedrige oder falsch hohe Lp(a)-Werte. Aus diesem Grund kann die Anwendung dieser neuen Methode in der klinisch-chemischen Routine-diagnostik nicht empfohlen werden.

Danksagung

Die Autoren danken Frau *Bossa Becker*, Frau *Bettina Donnerhak* und Frau *Daniela Wittmann* und für die Durchführung der Bestimmungen.

Literatur

1. Kostner GM, Avogaro P, Cazzolato G, Marth E, Bittolo-Bon G. Lipoprotein Lp(a) and the risk for myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1981;38:51-61.
2. Dahlén GH, Guyton JR, Attar M, Far Goto AM. Association of levels of lipoprotein Lp(a), plasma lipids, and other lipoproteins with coronary artery disease documented by angiography. *Circulation* 1986;74:758-65.
3. Armstrong VW, Cremer P, Eberle E, Manke A, Schulze F, Wieland H, Kreuzer H, Seidel D. The association between serum Lp(a) concentrations and angiographically assessed coronary atherosclerosis. Dependence on serum LDL levels. *Atherosclerosis* 1986;62:249-57.
4. Seed M, Hoppichler F, Reaveley D, McCarthy S, Thompson GR, Boerwinkle E, Utermann G. Relation of serum lipoprotein(a) concentration and apolipoprotein (a) phenotype to coronary heart disease in patients with familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 1990;322:1494-9.
5. Wiklund O, Angelin B, Olofsson SO, Eriksson M, Fager G, Berglund L, Bondjers G. Apolipoprotein(a) and ischemic heart disease in familial hypercholesterolemia. *Lancet* 1990;335:1360-3.
6. Sandkamp M, Funke H, Schulte H, Köhler E, Assmann G. Lipoprotein(a) is an independent risk factor for myocardial infarction at a young age. *Clin Chem* 1990;36:20-3.
7. Müller HM, Dickstall FF, Schmidt E, März W, Canzler H, Demeler U. Lipo protein (a), a risk factor for retinal vascular occlusion. *German J Ophthalmol* 1992;1:338-41.
8. Utermann G. The mysteries of lipoprotein(a). *Science* 1989;246:904-10.
9. Fless GM, ZumMallen ME, Scanu AM. Physicochemical properties of apolipoprotein (a) and lipoprotein (a-) derived from the dissociation of human plasma lipoprotein (a). *J Biol Chem* 1986;261:8712-18.
10. Armstrong VW, Walli AK, Seidel D. Isolation, characterization and uptake in human fibroblasts of an apo(a)-free lipoprotein obtained on reduction of lipoprotein(a). *J Lipid Res* 1985;26:1314-23.
11. Sommer A, Gorges R, Kostner GM, Paltauf F, Hermetter A. Sulfhydryl-selective fluorescence labeling of lipoprotein (a) reveals evidence for one single disulfide linkage between apoproteins(a) and B-100. *Biochemistry* 1991;30: 11245-9.
12. März W, Groß W. Quantification of human serum lipoprotein Lp(a): zone immunolectrophoresis assay, a new sensitive method as compared to electroimmuno assay. *Clin Chim Acta* 1983;134:265-79.
13. Cazzolato G, Prakasch G, Green S, Kostner GM. The determination of lipoprotein Lp(a) by rate and endpoint nephelometry. *Clin Chim Acta* 1983;135:203-8.
14. März W, Siekmeier R, Groß E, Groß W. Determination of lipoprotein (a): enzyme immunoassay and immunoradiometric assay compared. *Clin Chim Acta* 1993;214:153-63.
15. März W, Siekmeier R, Groß W, Kostner GM. Determination of Lipoprotein(a): evaluation of three methods. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1993;31:295-301.
16. Duvic CR, Smith G, Sledge WE, Lee LT, Murray MD, Roheim PS, Gallaher WR, Thompson JJ. Identification of a mouse monoclonal antibody, LHLP-1, specific for human Lp(a). *J Lipid Res* 1985;26:540-8.
17. Labeyre C, Michiels G, Bury J, Usher DC, Rosseneu M. Lipoprotein(a) quantified by an enzyme-linked immunosorbent assay with monoclonal antibodies. *Clin Chem* 1989;35:1380-4.
18. Vu Dac N, Mezdour H, Parra HJ, Luc G, Luyeye I, Fruchart JC. A selective bi-site immunoenzymatic procedure for human Lp(a) lipoprotein quantification using monoclonal antibodies against apo(a) and apo B. *J Lipid Res* 1989;30:1437-43.
19. März W, Trommlitz M, Scharrer I, Groß W. Apolipoprotein (a) concentrations are not related to the risk of thrombosis. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 1991;2:595-9.
20. McLean JW, Tomlinson JE, Kuang W-J, Eaton DL, Chen EY, Fless GM, Scanu AM, Lawn RM. cDNA sequence of human apolipoprotein (a) is homologous to plasminogen. *Nature* 1987;330:132-7.
21. Koschinsky ML, Beisiegel U, Henne-Bruns D, Eaton DL, Lawn RM. Apolipoprotein (a) size heterogeneity is related to variable number of repeat sequences in its mRNA. *Biochemistry* 1990;29:640-4.
22. Utermann G, Kraft HG, Menzel HJ, Hopferwieser T, Seitz C. Genetics of the quantitative Lp(a) lipoprotein trait. I. Relation of Lp(a) glycoprotein phenotypes to Lp(a) lipoprotein concentrations in plasma. *Hum Genet* 1988;41:6.
23. Albers JJ, Marcovina SM. Lipoprotein (a) quantification. Comparison of methods and strategies for standardization. *Curr Opin Lipidol* 1994;5:417-21.

MEDICA BADEN-BADEN '96 -Anmeldung

Hiermit melde ich mich verbindlich für den 23. Seminarkongress für ärztliche Fortbildung in Baden-Baden an.
Wir bitten Sie, nachfolgend Ihre Kartenbestellung vorzunehmen und durch Ihre Unterschrift zu bestätigen.

Kongreßgebühr DM 300,— (7 Tage)

Tageskarte DM 70,-

Kurse	Leiter	Datum	Uhrzeit	zusätzliche Schutzgebühr
<input type="checkbox"/> Sonographie-Grundkurs	Dr. v. Klinggräff	07.07.-09.07.96 und 10.07.96	09.00 - 20.00 h 09.00 - 12.00 h	DM 450,-*
<input type="checkbox"/> Sonographie-Aufbaukurs	Dr. Blank	10.07.96 u. 11.07. - 13.07.	15.00 - 19.30 h 09.00 - 19.30 h	DM 500,-*
<input type="checkbox"/> " Grund- u. Aufbaukurs		07.07.-13.07.96		DM 750,-*
<input type="checkbox"/> " Refresher-Kurs	PD. Dr. Börner	11. - 13.07.96	14.00 - 16.00 h	DM 100,-
<input type="checkbox"/> Stresschokardiographie/Aufbauk.	Dr. Lieberknecht	12.07.96	09.00 - 18.00 h	DM 500,-*
<input type="checkbox"/> Stresschokardiographie/Abschlußk.	Dr. Lieberknecht	13.07.96	09.00 - 18.00 h	DM 500,-*
<input type="checkbox"/> " Einführungs- u. Abschlußkurs	Dr. Lieberknecht	12.07./13.07.96	09.00 - 18.00 h	DM 900,-*
<input type="checkbox"/> Arzt im Rettungsdienst	Dr. Leonhardt u. a.	06.07.96 und	12.00 - 19.00 h	
<input type="checkbox"/> " Teil A		07.07.-08.07.96	09.00 - 19.00 h	DM 200,-*
<input type="checkbox"/> " Teil B		09.07.-10.07.96	09.00 - 19.00 h	DM 200,-*
<input type="checkbox"/> " Teil C		11.07.-12.07.96	09.00 - 19.00 h	DM 200,-*
<input type="checkbox"/> " Teil D		13.07.-14.07.96	09.00 - 19./12.00 h	DM 200,-*
<input type="checkbox"/> " Gesamtkurs		06.07.-14.07.96		DM 600,-*
<input type="checkbox"/> Sportmedizin / Ergometrie	Dr. Pabst /Dr. Philippi	07.-10.07.	14.00 - 18.00 h	keine
<input type="checkbox"/> 24-Std.-Blutdruckmessung	Prof. Anlauf	11.07.-12.07.96	14.00 - 16.00 h	DM 50,-
<input type="checkbox"/> Dermatomikrobiologie	Prof. Nolting	07.-10.07.96	16.00 - 17.00 h	keine
<input type="checkbox"/> Gastroskopie	Prof. v. Gaisberg	07.-10.07.96	09.00 - 13.00 h	DM 250,-
<input type="checkbox"/> EKG-Grundkurs	Prof. Behrenbeck	07.-10.07.96	14.00 - 16.00 h	keine
<input type="checkbox"/> Akupunktur-Grundkurs	Dr. Schmitz- Harbauer	07.-10.07.96	09.00 - 12.00 h	keine
<input type="checkbox"/> Akupunktur-Aufbaukurs	St. Kirchhoff	10. - 13.07.96	14.00 - 17.00 h	keine
<input type="checkbox"/> Lungenfunktionsmessung	Dr. Mitfessel	12. u. 13.07.96	14.00 - 16.00 h	keine
<input type="checkbox"/> Bronchoskopie	Dr. Greschuchna	07. - 10.07.96	14.00 - 18.00 h	DM 200,-
<input type="checkbox"/> Doppler-Echokardiographie (nachm. klin. Demonstration)	Dr. Geibel	07. - 10.07.96	09.00 - 12.00 h	DM 250,-
<input type="checkbox"/> Manuelle Medizin	Dr. Wolff	11. - 13.07.96	14.00 - 18.00 h	keine
<input type="checkbox"/> Biolog. Heilverfahren UVB / HOT	Dr. Turowski	12.07.96	09.00 - 13.00 h	DM 50,-
<input type="checkbox"/> JUPRA-Intensivseminar für rationelle Praxisführung	AKAMED	12.07.96 und	14.00 - 18.00 h	
<input type="checkbox"/> Kommunikation u. Selbstbewußtsein (f. Arzthelf.)	AKAMED	13.07.96	09.00 - 18.00 h	DM 95,-*
<input type="checkbox"/> 11.07.96	AKAMED	11.07.96	09.00 - 18.00 h	DM 250,-*

Arzthelferinnen-Fortbildung am 13.7.96:

<input type="checkbox"/> 9.30 - 12.30 h	Vom Problem zum Ziel - die Kommunikationskunst des NLP	Tagesgebühr:
<input type="checkbox"/> 14.00 - 16.00 h	Arzthelferin - ein Beruf mit Zukunft?!	<input type="checkbox"/> BdA-Mitgl./Mitgl. „Ration. Arztpraxis“ <input type="checkbox"/> Nichtmitglieder
<input type="checkbox"/> 14.30 - 16.00 h	Notfälle in der Arztpraxis	DM 25,- DM 50,-
<input type="checkbox"/> 14.00 - 18.00 h	24-Std. Blutdruckmessung	<input type="checkbox"/> 24-Std. Blutdruckm./Zertifikat
		DM 30,- (zusätzl.)

Änderungen und Ergänzungen des Programmes bleiben vorbehalten.

- * Bei diesen Kursen entfällt die Kongreßgebühr. Ebenfalls für Ärzte im Ruhestand und arbeitslose Ärzte.
- 50 % Ermäßigung auf die Kongreßgebühr erhalten: AiP, Studenten, Med. Assistenzberufe, in der Praxis des Ehegatten tätige Ärzte, Mitglieder der „Rationalen Arztpraxis“ – Nachweispflicht.

Auf Tageskarten und Schutzgebühren wird in **keinem Fall** eine Ermäßigung gewährt; Ausnahme: Mitglieder der „Rationalen Arztpraxis“ erhalten auf die Tageskarte eine 50 %ige Ermäßigung (bitte Nachweis beifügen).

Kurszusagen können erst nach Eingang der vollen Teilnehmergebühr erfolgen.

Bei Rücktritt berechnen wir generell eine Bearbeitungsgebühr in Höhe von DM 50,-. Rücküberweisungen bereits eingezahlter Teilnehmergebühren werden bei Rücktritt nach Abzug der Bearbeitungsgebühr unmittelbar nach dem Kongress vorgenommen. Ein Anspruch auf Rücküberweisung besteht nur, wenn der Antrag **vor** Beginn des Kongresses schriftlich beim Veranstalter eingereicht wird und bereits zugesandte Kongress- bzw. Teilnehmerkarten zurückgeschickt wurden.

Anmeldung bitte absenden an: MEDICA Deutsche Gesellschaft zur Förderung der Medizinischen Diagnostik e. V.
Postfach 700149, 70571 Stuttgart, Tel. 0711/763443/7651454/Fax 0711/766992

- Interesse an folgenden Seminaren:

Datum

Arztstempel / Name / genaue Anschrift

Unterschrift

MEDICA BADEN-BADEN '96

23. Seminarkongress für ärztliche Fortbildung vom 7. bis 13. Juli 1996 im Kongresshaus Baden-Baden

MEDICA Deutsche Gesellschaft zur Förderung der Medizinischen Diagnostik e. V., Stuttgart
Wegen der Disposition möchten wir Sie auf folgende Seminare hinweisen:
(bei Interesse bitte ebenfalls Anmeldung vornehmen)

Seminarthemen:

- Chronische Herzinsuffizienz
- Kardiovaskuläres Intensivseminar
- Kardiologisches Seminar
- Hochdruck und Niere
- Gastroenterologische Diagnostik
- Schilddrüsenerkrankungen
- Dismanagement: Der alte Patient
- Neurologisch psychiatr. Probleme
- Neurologischer Untersuchungskurs
- Neuro-Immunologie
- Leitsymptom Schwindel: Diagnostik u. Therapie
- Praktische Pneumologie
- Interstitielle Lungenerkrankungen
- Immunologie kompakt
- Rheumatologie (mit klinischer Visite)
- Umwelt und Allergie
- Palliativmedizin

Satellitensymposien / Sonderveranstaltungen:

- Onkologische Primärtherapie erfolgreich, was nun?
- Neues aus der Gastroenterologie / Hepatologie
- Mikrobiologische Aspekte in der Gastroenterologie
- Intensivmedizinische Strategien zur Behandlung der myokardialen Insuffizienz
- Wundversorgung mit Hydrokolloid-Verbänden und Kompressionstherapie beim Ulcus-cruris venosum
- Homotoxikologie
- Ärztliche Niederlassung heute
- Praxisabgabe/-übergabe
- Ärztliche Kooperationen
- Kooperation zwischen Ärzten u. anderen Heilberufen
- Wie kann sich der Arzt oder Tierarzt auf den Wandel zur Informationsgesellschaft einstellen?

- Psychoonkologie
- Möglichkeiten u. Risiken einer Hormonbehandlung
- Proktologie
- Problem der lumbalen Bandscheibenoperation
- Erwachsenen-Schutzimpfungen u. Reiseimpfungen
- Klinisch-Hämatologisches Seminar
- Hörprüfungen bei kleinen Kindern
- Therapeut. Lokalanästhesie / Neural- u. Schmerzth.
- Stellenwert von Phytopharmaka
- Homöopathie (mit Besichtigung der Produktion DHU)
- Praxis der Ozontherapie
- Unternehmen Arztpракти
- Ärztliche Tätigkeit mit begrenzten Ressourcen
- Neue vertragsärztliche Rechtsprobleme aus dem GSG '93 im Jahre 1996
- Organisation im Krankenhaus / ABC für Klinikärzte
- Praxismanagement
- Abrechnung u. Praxismanagement für den akupunktierenden Arzt

Assistenzpersonal / Arzthelferinnen:

- Vom Problem zum Ziel - die Kommunikationskunst des NLP
- Arzthelferin - ein Beruf mit Zukunft?
- Notfälle in der Arztpракти
- 24-Std.-Blutdruckmessung
- Kommunikation & Selbstbewußtsein

Fortbildung für Pflegekräfte am 11.7.1996:

- Validation - der würdevolle Umgang mit desorientierten alten Menschen / Naomi Feil / USA
Information und Anmeldung:
W. Kohlhammer GmbH, Pflegezeitschrift,
Frau U. Schrader, Postfach, 70549 Stuttgart
Tel. 0711/78 63-472, Fax 0711/78 63-436.

Arzt-Patienten-Veranstaltungen:

- Sarkoidose und das Immunsystem
- Therapiemöglichkeiten bei Fibromyalgie / generalisierte Tendomyopathie im ambulanten Bereich

MEDISOFT GmbH, Frankfurt, erstellt kostenfrei auf CD-ROM „Literatur-Recherchen“ zu Kongress- und Wunschthemen. Das Ergebnis erhalten Sie als Computerausdruck oder auf Diskette.

Zimmer-Reservierung:

Baden-Baden Marketing GmbH, Augustaplatz 8, 76530 Baden-Baden,
Tel. 07221/275-200, Fax 07221/275-202.