

### **Aktueller Stand der Transplantationsimmunologischen Diagnostik**

PD Dr. med. Joannis Mytilineos  
Prof. Dr. med. Christian Seidl  
Dr. med. Gerd Holzberger  
Dr. med. Xuan Duc Nguyen  
Prof. Dr. med. Dorothee Wernet

### **Aktuelles zur Diagnostik und Therapie der paroxysmalen nächtlichen Hämoglobinurie**

Prof. Dr. med. Hubert Schrezenmeier  
Dr. med. Britta Höchsmann  
Dr. med. Sixten Körper  
Prof. Dr. med. Jörg Schubert

### **In aller Kürze: Was ist neu (bzw. wichtig) in den neuen Richtlinien?**

Jürgen Burkhart  
Dr. med. Detlev Nagl

### **Die „Biobank der Blutspender“ – eine Initiative des BRK-Blutspendedienstes**

Dr. Silke Martin  
Dr. Stephan Rapp  
Dr. med. Franz Weinauer

**Deutsches Rotes Kreuz**  
DRK-Blutspendedienste





## Impressum

### Herausgeber:

Für die DRK-Blutspendedienste  
Prof. Dr. med. Erhard Seifried,  
Sandhofstr. 1,  
60528 Frankfurt/M.

### beteiligte und für die Regionalteile zuständige Blutspendedienste:

DRK-Blutspendedienst  
Baden-Württemberg -  
Hessen gGmbH, Mannheim

Blutspendedienst des Bayerischen  
Roten Kreuzes, München

DRK-Blutspendedienst  
Mecklenburg-Vorpommern gGmbH,  
Neubrandenburg

DRK Blutspendedienst Nord gGmbH,  
Lütjensee

Blutspendedienst der Landesverbände  
des DRK Niedersachsen, Sachsen-  
Anhalt, Thüringen, Oldenburg und  
Bremen gGmbH, Springe

DRK-Blutspendedienst Ost gGmbH,  
Dresden

DRK-Blutspendedienst West gGmbH,  
Ratingen

### Redaktion (verantwortlich):

Dr. Detlev Nagl, Augsburg  
Friedrich-Ernst Düppe, Hagen  
Feithstraße 182, 58097 Hagen  
Tel.: 0 23 31 / 8 07 - 0  
Fax: 0 23 31 / 88 13 26  
Email: f.dueppe@bsdwest.de

### Redaktion:

Dr. Jürgen Erler, Baden-Baden;  
Dr. Robert Deitenbeck, Hagen;  
Ursula Lassen, Springe;  
Jens Lichte, Lütjensee;  
Dr. Markus M. Müller, Frankfurt/M.;  
Dr. Detlev Nagl, Augsburg;  
Prof. Dr. Hubert Schrezenmeier, Ulm;  
Prof. Dr. Sybille Wegener, Rostock.

Mit Autorennamen gekennzeichnete  
Fachartikel geben die Meinung des  
Autors wieder und müssen nicht  
unbedingt die Meinung der Redaktion  
und der Herausgeber widerspiegeln.  
Der Herausgeber der „hämotherapie“  
haftet nicht für die Inhalte der Fach-  
autoren. Die Fachinformationen entbin-  
den den behandelnden Arzt nicht, sich  
weiterführend zu informieren.

### Realisation:

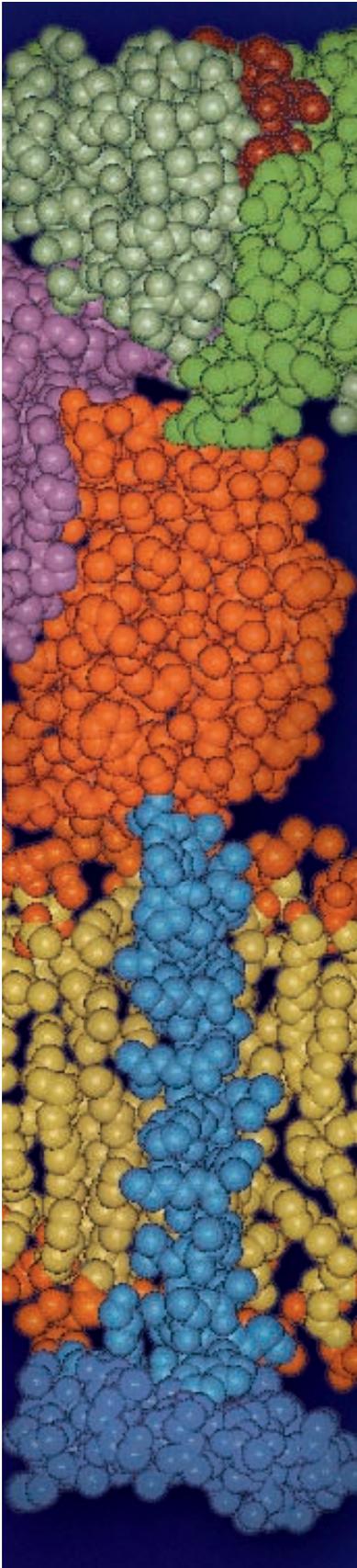
concept-design GmbH & Co. KG  
deltacity.NET GmbH & Co. KG  
SIGMA-DRUCK GmbH  
www.deltacity.net

### Auflagen:

Gesamtauflage: 32.000 Ex.  
ISSN-Angaben auf der Rückseite

### Zitierweise:

hämotherapie, 8/2006, Seite ...



## Inhalt

### Editorial 8/2006

Friedrich-Ernst Düppe

3

### Aktueller Stand der Transplantationsimmunologischen Diagnostik

PD Dr. med. Joannis Mytilineos, Prof. Dr. med. Christian Seidl,  
Dr. med. Gerd Holzberger, Dr. med. Xuan Duc Nguyen  
Prof. Dr. med. Dorothee Wernet

4-16

### Aktuelles zur Diagnostik und Therapie der paroxysmalen nächtlichen Hämoglobinurie

Prof. Dr. med. Hubert Schrezenmeier, Dr. med. Britta Höchsmann  
Dr. med. Sixten Körper, Prof. Dr. med. Jörg Schubert

17-26

++ REGIO-NEWS ++REGIO-NEWS ++REGIO-NEWS ++

### In aller Kürze:

#### Was ist neu (bzw. wichtig) in den neuen Richtlinien?

Jürgen Burkhardt, Dr. med. Detlev Nagl

27-28

### Die „Biobank der Blutspender“ – eine Initiative des BRK-Blutspendedienstes

Dr. Silke Martin, Dr. Stephan Rapp, Dr. med. Franz Weinauer

29-33

### Forschungspreis für neue Erkenntnisse zu Krebstherapien mit Immunzellen

34-35

### Alfred Nobel und die Preisträger

35-36

### Leserbriefe

37-38

### Antworten auf Fragen aus der Leserschaft

### Seminare

39-41

### Die Autoren

42-43



### Sehr geehrte Leserin, sehr geehrter Leser,

Sie halten heute die achte Ausgabe unserer Zeitschrift „**hämotherapie – Beiträge zur Transfusionsmedizin**“ in Händen. Seit 2003 haben die DRK-Blutspendedienste gemeinsam auf über 300 Druckseiten für Sie aktuelle Informationen aus der Transfusionsmedizin aufbereitet. Alle an der Entstehung dieser Hefte Beteiligten freuen sich über das große Interesse, das wir mit den bisherigen Ausgaben und hoffentlich auch dem aktuellen Heft gefunden haben.

Die Herausgabe von acht Heften ist noch kein Grund, ein Jubiläum zu feiern, aber die Höhe der Druckauflage, je Ausgabe über 30.000 Exemplare, und die große Zahl an Downloads, die wir bislang registriert haben, verdeutlichen Ihr großes Interesse und sind Anlass für uns Danke zu sagen.

Wir danken Ihnen für Ihr Interesse, für Ihre Anregungen und Kritik und für Ihre Fragen, die wir redaktionell oder auch persönlich beantworten konnten. Der Kontakt mit Ihnen hilft uns bei der Planung der Themen zukünftiger Hefte. Senden Sie uns deshalb bitte auch zukünftig Ihre Fragen und Anregungen, wir gehen gerne darauf ein.

Im Jahr 2007 blicken die DRK-Blutspendedienste auf 55 Jahre Blutspende beim Roten Kreuz in Deutschland zurück. In dieser Zeit hat sich vieles verändert. Mit

den Beiträgen in unseren Heften geben wir einen kleinen Einblick in die aktuellen Entwicklungen der Hämotherapie. In den 55 Jahren Blutspende beim DRK ist aber eines geblieben: die Sicherstellung der Versorgung mit Blutpräparaten und Dienstleistungen rund um die Uhr an 365 Tagen im Jahr durch die DRK-Blutspendedienste. Über 3,8 Mio. mal jährlich vertrauen uns Menschen in Deutschland eine Spende ihres Lebenssaftes an. Dahinter steckt der immer wieder zum Ausdruck gebrachte Wille der Spenderinnen und Spender, kranken und verletzten Menschen helfen zu wollen. Darin ist nicht nur die Motivation für die Spender/innen zu sehen, sondern auch die Verpflichtung für uns, sorgfältig und nach den neuesten Kenntnissen von Wissenschaft und Technik mit dem gespendeten Blut umzugehen.

Die Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter der DRK-Blutspendedienste sind sich dieser großen Verpflichtung bewusst, egal ob sie in der Forschung und Entwicklung, in der Tagesroutine von Herstellung und Präparation oder im Bereich der Service-Dienstleistungen tätig sind. Die Arbeit beim DRK-Blutspendedienst ist eine Arbeit für die Menschen, die auf Blutpräparate angewiesen sind.

Unter diesem Gesichtspunkt sind auch die Beiträge des vorliegenden Heftes zu sehen, die sich auf unterschiedlichem

Gebiet mit der Entwicklung von Therapie und Diagnostik in der Transfusionsmedizin beschäftigen. Wir wünschen Ihnen eine spannende Lektüre und hoffen – wie immer – auf Ihre Rückmeldungen und Fragen, die wir gerne beantworten. Im Namen der gesamten Redaktion grüßt Sie herzlich Ihr

  
**Friedrich-Ernst Düppe**

Pressesprecher

DRK-Blutspendedienst West

Feithstraße 182

58097 Hagen

[f.dueppe@bsdwest.de](mailto:f.dueppe@bsdwest.de)



# Aktueller Stand der Transplantationsimmunologischen Diagnostik

**PD Dr. med. Joannis Mytilineos**

Institut für Klinische Transfusionsmedizin und Immunogenetik – Ulm

**Prof. Dr. med. Christian Seidl**

Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie – Frankfurt

**Dr. med. Gerd Holzberger**

Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie – Kassel

**Dr. med. Xuan Duc Nguyen**

Institut für Klinische Transfusionsmedizin und Immunologie – Mannheim

**Prof. Dr. med. Dorothee Wernet**

Zentrum für Klinische Transfusionsmedizin – Tübingen

Die Transplantationsmedizin ist heute ein nicht wegzudenkender Teil der modernen klinischen Versorgung. Eine fachlich und methodisch kompetente Labordiagnostik in diesem Feld ist von großer Bedeutung. Dieser Übersichtsartikel befasst sich mit aktuellen Aspekten der transplantationsimmunologischen Diagnostik. Molekularbiologische Verfahren dominieren zurzeit dieses Gebiet. Serologische Techniken sind jedoch nach wie vor erforderlich, um die humoralen Aspekte der Histokompatibilitätsdiagnostik abzudecken. Organ- und Stammzelltransplantation sind die Hauptdomänen der HLA-Diagnostik. Bei Krankheitsassoziationsstudien, in der Thrombozytensubstitutionsdiagnostik sowie in der Abstammungsbegutachtung werden jedoch weiterhin HLA-Testungen angefordert.

*Transplantation medicine is one of the most important fields in modern clinical care. Appropriate laboratory service support in this area is therefore absolutely indispensable. This review describes the current state of the art diagnostics in immunogenetics and histocompatibility. In the last ten years molecular methods have been increasingly applied for HLA typing purposes although serological techniques are still being widely used, predominantly for humoral compatibility testing in organ transplantation. The main clinical applications for HLA-typing are organ and stem cell transplantation, however, platelet transfusion, disease association testing as well as forensics are still a part of the routine work in clinical HLA-laboratories.*

## Einleitung

Mehrere tausend Patienten verdanken ihr Leben den Erfolgen der modernen Transplantationsmedizin. Die Transplantation wurde zum lebensnotwendigen Therapieverfahren bei diversen Erkrankungen, die andernfalls für den Patienten den sicheren Tod bedeutet hätten. Im vergangenen Jahr wurden in der Bundesrepublik Deutschland 1.974 Nieren-, 355 Herz-, 779 Leber-, sowie insgesamt 400 Pankreas-, Lungen- und Dünndarm-Transplantationen durchgeführt ([http://www.dso.de/main\\_bottom.html](http://www.dso.de/main_bottom.html)). Außerdem wurden insgesamt 2.615 autologe und 2.060 allogene hämatopoietische Stammzelltransplantationen vorgenommen (DRST-Jahresbericht, <http://www.drst.de/download/jb2005.pdf>). Zu den Erfolgen der Transplantationsmedizin hat die Entwicklung der modernen Immunologie und Immunogenetik einen wesentlichen Beitrag geleistet. Bundesweit gibt es mehrere Laboratorien, die heutzutage transplantationsimmunologische Diagnostik betreiben. 47 davon sind von der European Federation for Immunogenetics (EFI) akkreditiert.

## Methodologie im transplantationsimmunologischen Labor

Die Diagnostik in der Transplantationsimmunologie hat sich seit der ersten Entdeckung der HLA-Merkmale durch Jean Dausset im Jahr 1958 stark weiterentwickelt. Hat man in den ersten Jahren ausschließlich mit serologischen Verfahren gearbeitet, so ist die klassische Serologie heutzutage in den Hintergrund getreten. Dafür werden zunehmend immer komplexere molekularbiologische Typisierungsverfahren eingesetzt. Der Durchbruch der molekularbiologischen Typisierung gelang Anfang der 90er Jahre. Zudem konnte eindeutig gezeigt werden, dass die molekularbiologischen Verfahren der konventionellen Serologie überlegen waren (Mytilineos et al., Tissue Antigens 1997, 50: 355-358). Inzwischen wird der überwiegende Anteil der HLA-Diagnostik mit molekularbiologischen Verfahren durchgeführt.

Bei der zeitgemäßen HLA-Typisierungsdiagnostik unterscheidet man zwei Ebenen der Auflösung: Eine niedrigauflösende HLA-Typisierung liegt dann vor, wenn nur die ersten zwei Ziffern der vierstelligen Zahl, aus der die

Bezeichnung eines HLA-Allels besteht (**Abbildung 1**), berichtet wird. Diese entspricht auch im weitesten Sinne der Nomenklatur, wie sie bisher für die Serologie eingesetzt wurde (z. B. serologisch HLA-A2, niedrigauflösend molekularbiologisch: HLA\*02). Eine hochauflösende Typisierung liegt dann vor, wenn alle vier Ziffern, aus denen ein HLA-Allel besteht, be-

richtet werden (z. B. niedrige Auflösung: HLA-A\*02, hohe Auflösung: HLA-A\*0201). Je nach klinischer Notwendigkeit wird eine Typisierung niedrig- oder hochauflösend durchgeführt. Im Prinzip kann man sagen, dass für die SZ-Transplantation von nicht verwandten Spendern eher eine hochauflösende Typisierung erforderlich ist, während für alle anderen

Anwendungen eine niedrigauflösende Typisierung ausreichend ist.

### Serologische Diagnostik

Das serologische Typisierungsverfahren heißt Mikrolymphozytotoxizitätstest (LCT). Bei diesem Test werden Lymphozyten zuerst



Abbildung 1

#### Die aktuelle Nomenklatur für die Faktoren des HLA-Systems (Marsh SGE et al., Tissue Antigens 2005, 65:301-368) sieht folgende Regeln vor:

- Bei der Benennung eines HLA-Antigens/Allels muss am Anfang immer das Wort „HLA“ stehen: **HLA**
- Es folgt der Name des Genortes oder des untersuchten Genproduktes, der vom Wort „HLA“ durch einen Bindestrich getrennt wird: **HLA-A**
- Wenn eine molekulargenetische Testung erfolgte, dann wird dies durch ein „\*“-Zeichen signalisiert. Wenn nur das Genprodukt auf der Zelloberfläche getestet wurde (serologisch oder biochemisch), dann wird das Zeichen „\*“ nicht aufgeführt: **HLA-A\*** bzw. **HLA-A**
- Es folgt eine zweistellige Ziffer, die die „grobe“ Antigengruppe wiedergibt. Diese Gruppe kann sowohl molekularbiologisch als auch serologisch getestet werden (niedrige Auflösung): **HLA-A\*29** bzw. **HLA-A29**
- Es folgen zwei weitere Ziffern, die spezifisch für jedes Allel sind. Diese Ziffern werden vom Nomenklaturkomitee nach der Reihenfolge der Entdeckung innerhalb einer Allelgruppe vergeben (hohe Auflösung). Das erste entdeckte Allel der Allelgruppe A\*29, heißt demnach: **HLA-A\*2901**
- Stumme Mutationen, also solche, die auf Nukleotidsequenzunterschiede hinweisen, die keine unterschiedliche Aminosäuresequenz bewirken, werden durch zwei weitere sequentielle Ziffern wiedergegeben. Demnach unterscheidet sich A\*2901 01 von A\*2901 02 in dessen Nukleotidsequenz. Die Aminosäuresequenz beider Allele ist jedoch identisch: **HLA-A\*2901 01**
- Es folgt eine Ziffer für Polymorphismen innerhalb des Introns oder der regulatorischen Bereiche: **HLA-A\*2901 01 02**
- Gelegentlich wird ein Buchstabe (N, S oder L) am Ende eines Allels eingefügt. Ein N bedeutet, dass das Genprodukt nicht exprimiert wird („Null“-Allel), ein S dass es nur in löslicher Form (Soluble) vorkommt und ein L, dass es eine niedrige (Low) Expression aufweist: **HLA-A\*2901 01 02 N**



mit Antiseren und dann mit Komplement inkubiert. Finden die im Serum enthaltenen Antikörper ein entsprechendes Histokompatibilitätsantigen auf der Zelloberfläche der Lymphozyten, so binden sie dort. Dadurch wird Komplement aktiviert. Die im letzten Teil der Komplementkaskade auftretenden lytischen Produkte können die Zellmembran der Lymphozyten durchbohren. Es kommt zur Lyse der Zellen. Die Lyse der Lymphozyten kann durch Zugabe eines Vitalfarbstoffes wie Eosin sichtbar gemacht werden. Der Farbstoff dringt in lysierte Zellen ein und färbt sie an, während er von intakten Zellen nicht aufgenommen wird. Abschließend wird mikroskopisch abgelesen, ob die Lymphozyten durch die verschiedenen Antiseren lysiert sind. Dabei beurteilt man, wie viel Prozent der Zellen in einer Kavität lysiert und wie viele intakt geblieben sind. Bei über 20 % lysierten Zellen zählt die Reaktion als positiv. Je nach Reaktionsmuster der Antiseren wird der HLA-Typ der Testperson festgelegt. Das serologische Verfahren wird gegenwärtig nur noch für die Bestimmung von HLA-Klasse I-Merkmalen eingesetzt.

Darüber hinaus wird der LCT auch für das lymphozytotoxische Antikörper-Screening sowie bei dem Crossmatch eingesetzt. Beim Ak-Screening wird das Serum des Patienten mit einer Reihe von HLA-typisierten „Panel“-Zellen inkubiert. In der Regel werden 30 bis 60 verschiedene Zellen eingesetzt. Die weiteren methodischen Schritte sind identisch wie bei der serologischen Typisierung. Aufgrund der Reaktivität mit den einzelnen Panel-Zellen, kann man den Prozentsatz positiv reagierender Panel-Zellen ermitteln. Dies ergibt den so genannten „PRA“-Wert (= Panel Reaktive Antikörper). Eine Spezifizierung erfolgt durch die Analyse der einzelnen Reaktionen. Aufgrund der Komplexität des Polymorphismus im HLA-System wird in der Regel hierfür eine Computersoftware benötigt. Wenn man die Antikörperklasse (IgG- oder IgM-Antikörper) differenzieren möchte, wird das Screening unter Zugabe von Dithiotreitol (DTT) wiederholt. DTT spaltet die Disulfidbrücken des IgM-Moleküls und inaktiviert somit IgM-Antikörper. Diese werden in der Transplantationsmedizin häufig als irrelevante Autoantikörper angesehen und deren Präsenz ist oft für die Interpretation des Antikörperstatus eines Patienten entscheidend.

Beim lymphozytotoxischen Crossmatch testet man das Serum des Patienten gegen Spenderlymphozyten, die entweder aus dem peripheren Blut oder aus Milz bzw. Lymphknoten des Spenders stammen. Komplementzugabe, Färbung und Ablesung sind identisch wie bei der Typisierung bzw. dem Ak-Screening. DTT-Zugabe kann auch hier zwischen IgG- und IgM-Antikörpern differenzieren. Als Zielzellen können ungetrennte Lymphozyten, bzw. getrennten T- und B-Lymphozyten aus peripherem Blut bzw. Milz eingesetzt werden. Bei nichtimmunisierten Patienten gilt der Crossmatch mit ungetrennten Zellen als klinisch relevant. Bei immunisierten oder retransplantierten Patienten wird jedoch dem B-Zell-Crossmatch eine größere Bedeutung beigemessen.

#### **ELISA und weiteren alternativen Verfahren zum Ak-Screening**

In den letzten Jahren hat sich gezeigt, dass neben dem klassischen lymphozytotoxischen Ak-Screening (LCT) auch weitere Verfahren eine wichtige Rolle bei der Charakterisierung von transplantationsrelevanten Antikörpern spielen. Von Süsal et al. wurde berichtet, dass bei Nierenempfän-



gern, die Antikörper gegen HLA-Klasse I- und II- Merkmale mittels ELISA aufweisen, ein signifikant schlechteres Transplantatüberleben beobachtet werden kann als bei Patienten, die keine Antikörper bzw. nur Antikörper gegen eine der beide Merkmalsklassen tragen (Susal et al., Transplantation 2002, 73:1269-1273). ELISA-Techniken sind empfindlicher als der lymphozytotoxischer Test, allerdings scheint letzterer wiederum Antikörper zu detektieren, die von ELISA nicht erfasst werden und trotzdem transplantationsrelevant sind (Opelz, Lancet 2005, 365:1570-1576). Aus diesen Gründen wird empfohlen, dass beim Nierentransplantationscreening sowohl der LCT als auch der ELISA-Screening mindestens einmal jährlich parallel durchgeführt werden sollen. Anstatt des ELISA können auch weitere „Solid-phase“ Assays (Luminex, FACS) zum Ak-Screening eingesetzt werden.

### PCR-SSO

Die Einführung der PCR als labortechnisches Werkzeug hat die HLA-Diagnostik revolutioniert. Die nachfolgend beschriebenen Verfahren (PCR-SSO, PCR-SSP und SBT) basieren auf dem Prinzip der PCR und haben in den letzten zehn Jahren Einzug in die HLA-Routine-diagnostik gehalten.

Die PCR-SSO Methode zeichnet sich dadurch aus, dass zunächst ein vollständiges Exon eines zu typisierenden HLA-Genortes amplifiziert wird. Das PCR-Produkt wird auf ein Trägermaterial (Nylonmembran oder Kunststoffplatte) übertragen und mit markierten Allel- oder Allelgruppen-spezifischen Oligonukleotiden hybridisiert („Dot-Blot-Verfahren“). Wenn die Oligonukleotide selbst bereits auf der Trägermatrix fixiert sind, spricht man von einem „Reverse Dot Blot“ (RDB). In diesem Fall

werden die fixierten Sonden mit dem während der PCR-Reaktion markierten Amplifikationsprodukt hybridisiert. Positiv verlaufende Hybridisierungsreaktionen werden über eine Färbereaktion sichtbar gemacht. Der RDB-Assay hat sich in vielen Laboren als ein hervorragend geeignetes Verfahren zur routinemäßigen Abarbeitung von Proben bewährt (*Abbildung 2*).

Die PCR-SSO-Methode erlaubt eine niedrig- bis hochauflösende Typisierung für HLA-Klasse I & II Merkmale. Eine hochauflösende Typisierung kann allerdings damit eher in wenigen Fällen erreicht werden. Die Auswertung der Typisierungsergebnisse erfordert den Einsatz speziell geeigneter Computersoftware, die in der Regel von den Kit-Herstellern zur Verfügung gestellt wird.



Abbildung 2

HLA-A-, -B-Typisierung mittels Reverse Dot Blot (Dyna-Reli). Jeder Strich auf dem Nitrozellulose-Membranstreifen entspricht einem positiven Hybridisierungssignal mit einem anderem Oligonukleotid. Das gescannte Bandenmuster wird automatisch interpretiert und das Ergebnis als niedrigauflösende Typisierung angegeben.

**Typing Results**  
Type summary HLA-A\*11 & 24



**Typing Results**  
Type summary HLA-B\*35 & 56





Eine Abwandlung des PCR-SSO-Verfahrens ist die Typisierung mittels der Luminex-Technologie. Für Typisierungsassays werden fluoreszierende Luminex Beads mit spezifischen Oligonukleotidsonden gekoppelt, die anschließend mit einem Biotin-markierten PCR-Produkt hybridisieren. Die Fluoreszenz der einzelnen Beads in Kombination mit dem Farbstoff eines Avidin-Biotin-PCR-Produktes ergibt ein Doppelsignal, das vom Luminex-FACS-Gerät detektiert und per Spezialsoftware ausgewertet wird.

### PCR-SSP

1992 wurde von Olerup die PCR-Methode mittels sequenzspezifischer Primer (PCR-SSP) zur Identifizierung der HLA-DRB1 Merkmale publiziert (Olerup et al., Tissue Antigens 1992, 39:225-235). Diese Methode bietet ein schnelles und relativ unkompliziertes, jedoch spezifisches Verfahren zur HLA-Typisierung. Die PCR-SSP-Methode basiert auf einer PCR-Reaktion, bei der es durch Einsatz von sequenz-spezifischen Primern nur dann zu einer Ampli-

fikation der genomischer DNA kommt, wenn Zielsequenz und Primersequenz auf beiden DNA-Strängen komplementär sind, also das zu testende Individuum das entsprechende, durch die Primersequenzen definierte HLA-Allel aufweist. Die positive bzw. ausgebliebene Amplifikationsreaktion wird durch eine Agarosegelelektrophorese nachgewiesen und mittels Polaroidfotografie dokumentiert (**Abbildung 3**).

Die PCR-SSP-Methode ist von den hier beschriebenen das am leichtesten durchzuführende Verfahren und eignet sich vor allem für die schnelle Typisierung von HLA-Merkmalen. Man erhält innerhalb von 2-3 Stunden vom Zeitpunkt der Blutentnahme ein Ergebnis, das auch manuell leicht zu interpretieren ist. Daher hat

sich dieses Verfahren für den routinemäßigen Einsatz in der Diagnostik weitgehend durchgesetzt. Auch ist dieses Verfahren das einzige DNA-gestützte Verfahren, das wegen seiner Geschwindigkeit für den Einsatz im Rahmen der Organspendertypisierung im Rufbereitschaftsdienst eingesetzt werden kann. Mittels der PCR-SSP-Methode können sämtliche HLA-Genorte typisiert werden. Auch andere immungenetischen Parameter, wie KIR-Rezeptorengene bzw. Zytokingene werden mittels dieses Verfahrens getestet. Die PCR-SSP-Technik erzielt eine variable Auflösung, je nach der Zahl der eingesetzten Primer-Kombinationen. Ein Nachteil ist, dass für eine hohe Auflösung viele PCR-Reaktionen gleichzeitig eingesetzt werden müssen. Dies führt zu einem relativ hohen DNA-Verbrauch.

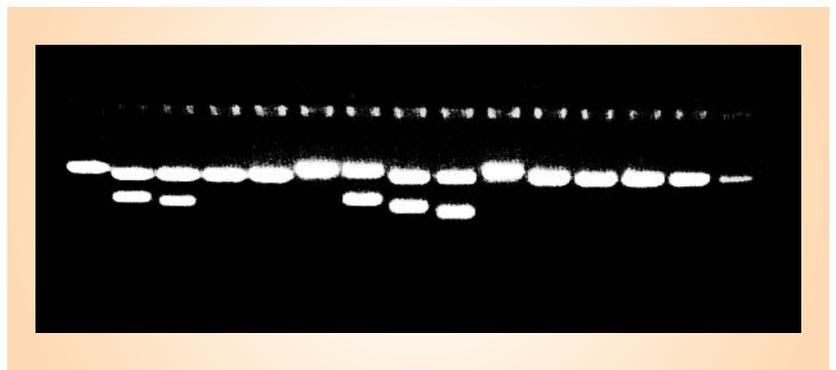


Abbildung 3

HLA-DRB1\*04 Subtypisierung mittels PCR-SSP. Die punktförmigen Stellen auf der Oberkante des Fotos stellen die Auftragsstellen der PCR-Produkte dar. Die Banden, die ungefähr an einer Linie liegen, sind die Kontrollamplifikationen. Die kürzeren fünf Amplifikate, sind die spezifischen Banden.



Abbildung 4

Hochdurchsatzsequenzierer mit 48 Kapillaren für die hochauflösende HLA-Klasse I Diagnostik mittels SBT (links) HLA-B exon2, reverse-Sequenz eines BC-Motiv-Amplifikats mit den H-Seq-ABC Sequenzierkit des IKT Ulm (rechts)

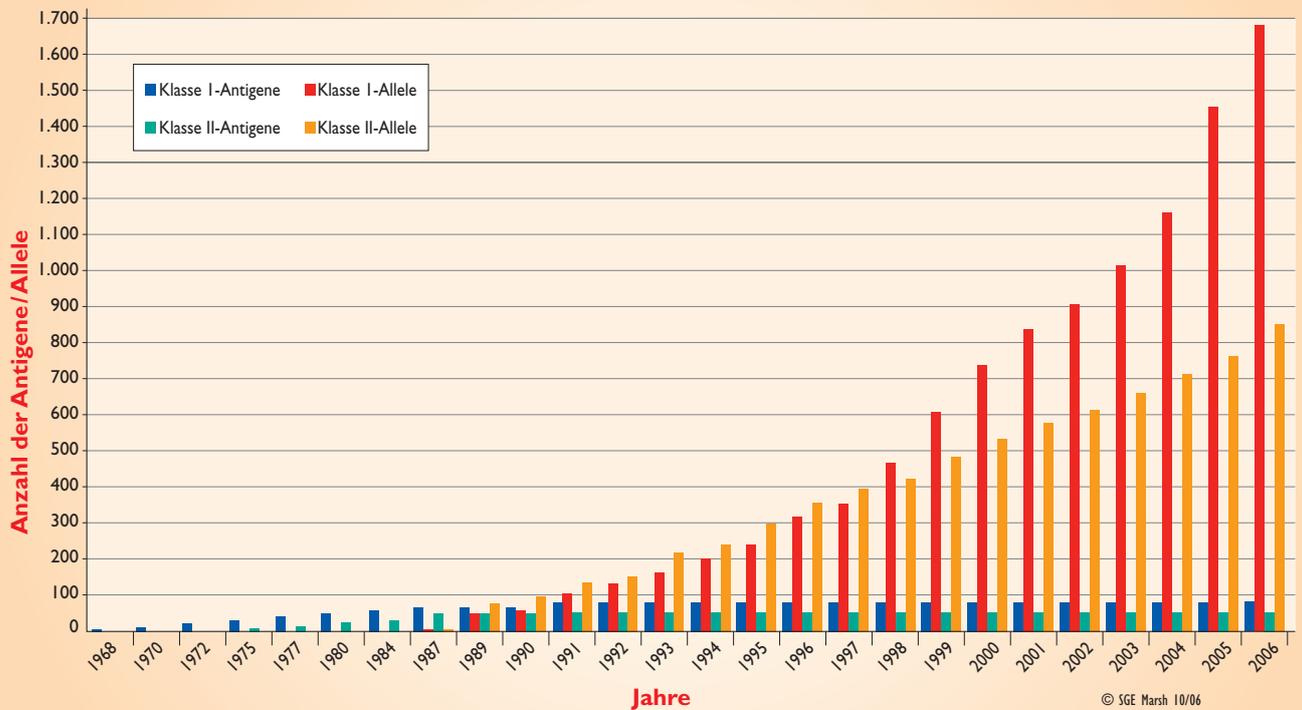
## HLA-Sequenzierung (SBT)

Pere Santamaria beschrieb 1993 die direkte Sequenzierung als eine Alternative zu den bisher angewandten molekularbiologischen Verfahren der HLA-Klasse II-Typisierung (Santamaria et al. Hum Immunol 1993, 37:39-50). Mittlerweile gibt es zahlreiche Sequenzierungsstrategien, die bei der HLA-Typisierung eingesetzt werden. Bei der SBT-Technik startet man mit der Amplifizierung des zu typisierenden Genortes. Da der polymorphe Bereich, der für die Typisierung von Interesse ist, in den Exonen liegt, konzentriert man sich hauptsächlich auf die Amplifizierung der Exone 2 und 3 für HLA-Klasse I-Gene und des Exon 2 für HLA-Klasse II-Gene. Nach der PCR wird eine Sequenzierungsreaktion nach Sanger (Sanger et al. Nature 1977, 265:687-695) durchgeführt. Hierbei wird das

Produkt der Sequenzierungsreaktion, also ein weiteres Amplifikat, markiert. Heute werden hierfür Fluoreszenzmarkierten ddNTP's eingesetzt. Für jedes der ddNTP's wird ein anderer Farbstoff genutzt, so dass man am Schluss die Abfolge der eingebauten Nukleotide anhand der fluoreszierenden Farben unterscheiden kann. Nach einer Reinigung des Sequenzierproduktes, bei der die nicht eingebauten ddNTP's entfernt werden, kann die Auswertung in einem Sequenzierautomaten erfolgen (**Abbildung 4**). Dies geschieht mittels einer Kapillargelelektrophorese und des in dem Automaten eingebauten Laser/Detektor Konstrukts, das die unterschiedlichen Farben der markierten ddNTP's erfasst und über eine Software ein Diagramm und die entsprechende Sequenzabfolge zeichnet (**Abbildung 4**). Die Sequenzabfolge wird anschließend mittels einer weiteren Software mit allen vorhandenen HLA-

Allelsequenzen verglichen. Als Ergebnis erhält man die Allelkombination, die am besten zur ermittelten Testsequenz passt.

Die Sequenzierung ist die eleganteste aller beschriebenen Methoden. Obwohl sie technisch anspruchsvoll ist und entsprechend geschultes Personal sowie teure Ausrüstung (Sequenzierer) erfordert, liefert sie zweifelsohne die höchstmögliche Auflösung. In Anbetracht der ständig wachsenden Zahl von neuen HLA-Allelen (**Abbildung 5 – Tabelle 1**) erscheint dieses Verfahren von allen oben erwähnten am interessantesten. Auch das Potential für eine Automatisierung dieses Verfahrens ist gegeben, womit ein verhältnismäßig hoher Durchsatz zu gewährleisten wäre.



© SGE Marsh 10/06

Abbildung 5

HLA-Antigene und -Allele, die seit 1968 jährlich registriert wurden. Anfang der 90er Jahren sind die ersten molekularbiologischen Verfahren zur HLA-Typisierung eingeführt worden. Ende der 90er wurde die direkte Sequenzierung in die HLA-Diagnostik eingeführt. (Grafikquelle: <http://www.anthonynolan.org.uk/HIG/>).

## Klinische Unterteilung der transplantations-immunologischen Leistungen

Die transplantationsimmunologische Diagnostik bedient zwei große Patientengruppen: zum einen die Knochenmark (KM)-/Blutstammzelltransplantations (PBSZ)-Diagnostik, zum anderen die Diagnostik im Rahmen der Or-

gantransplantation. Die forensische Diagnostik, sowie Untersuchungen im Zusammenhang mit Thrombozytensubstitution gehören eben-

falls zum Spektrum der immunge-netischen Diagnostik. Schließlich ist die Bestimmung von HLA-Markern, die mit diversen Krankheiten

>  
Tabelle I

Aktuelle Anzahl der HLA-Klasse I- und II-Allele, Stand 10/06  
([www.anthonynolan.org.uk/HIG/index.html](http://www.anthonynolan.org.uk/HIG/index.html))

HLA-Genort	Anzahl der Allele	Anzahl Proteine	Anzahl NULL-Allele
<b>A</b>	489	390	36
<b>B</b>	830	711	27
<b>C</b>	266	210	6
<b>DRB</b>	545	451	7
<b>DQBI</b>	78	57	1
<b>DQAI</b>	34	25	1
<b>DPBI</b>	125	112	2



assoziiert sind (z. B. HLA-B27 mit Morbus Bechterew), eine weitere Domäne der transplantationsimmunologischen Labore. Aus Platzgründen wird in diesem Bericht nur auf die transplantationsrelevante Diagnostik eingegangen.

### **KM- bzw. Stammzelltransplantation**

Bei einer KM- oder einer PBSZ-Transplantation handelt es sich um ein Therapieverfahren zur Behandlung maligner Erkrankungen oder angeborener bzw. erworbener Defekte der Lymphohämopoese. Meistens geht einer Stammzelltransplantation eine Hochdosis-Chemotherapie voraus. Die anschließend durchzuführende Transplantation von KM bzw. PBSZ kann entweder autolog oder allogene sein. Im Jahr 2005 wurden mehr als 60 % der allogenen Ersttransplantationen von unverwandten Spendern durchgeführt. Da mittlerweile in Deutschland 85 % aller Transplantationen hämatopoietischer Stammzellen durch die Übertragung von PBSZ erfolgen (der Rest durch die Gabe von KM-DRST-Jahresbericht, <http://www.drst.de/download/jb2005.pdf>), wird in diesem Bericht der Einfachheit halber von Stammzell

(SZ)-Transplantation und SZ-Spendern die Rede sein, obwohl damit sowohl die KM- als auch die PBSZ-Transplantation gemeint ist.

Bei einer KM-Transplantation ist eine möglichst vollkommene HLA-Kompatibilität zwischen Spender und Empfänger anzustreben. Schon geringe Differenzen können bewirken, dass die Immunzellen des Spenders, die sich aus dem Transplantat entwickeln, eine starke Graft-versus-Host-Reaktion (GvHD) bewirken, die beim Patienten je nach Stärke auch zum Tode führen kann.

Die Diagnostik im Bereich der SZ-Transplantation wird in drei Gruppen unterteilt:

- Diagnostik im Rahmen einer Suche nach einem kompatiblen Spender innerhalb der Familie
- Diagnostik im Rahmen einer Suche nach einem nicht-verwandten, allogenen SZ-Spender
- Diagnostik im Rahmen der Rekrutierung von freiwilligen, nicht-verwandten SZ-Spendern

#### **KM-/PBSZ-Transplantation von verwandten Spendern**

Bei der Diagnostik im Rahmen der allogenen-verwandten Stamm-

zelltransplantation erfolgt (möglichst vor Einleitung einer Chemotherapie) die Bestimmung der Gewebemerkmale HLA-A, -B, -DRB1 und -DQB1 des Patienten. Eine Bestimmung dieser Merkmale auf einem niedrigen Auflösungs-niveau ist in dieser Phase vollkommen ausreichend. Zusammen mit der Blutprobe des Patienten sollte auch das Blut von allen direkten Verwandten (Eltern, Geschwister, Kinder) untersucht werden. Dies ermöglicht zum einen die Identifizierung von voll kompatiblen potentiellen Spendern, zum anderen die Darstellung von Haplotypen, die häufig die Unterscheidung einer genotypischen Identität von einer „Scheinidentität“ (phänotypische Identität) ermöglicht (**Abbildung 6**). Vor einer geplanten Transplantation müssen Patient und Spender erneut für die gleichen Genorte typisiert werden (Bestätigungstestung). Die Bestätigungstestung soll sicherstellen, dass dem Patienten nicht auf Grund einer Fehltypisierung das falsche KM übertragen wird. Gibt es keinen kompatiblen Spender innerhalb der Kernfamilie, so ist es empfehlenswert, für Patienten kaukasischer Herkunft möglichst zeitnah die Einleitung der Suche nach einem nicht-verwandten Spender vorzunehmen, falls die



	Mutter		Vater	
HLA-A	1	29	2	3
HLA-B	8	35	8	60
HLA-Cw	7	4	3	7
HLA-DRB1*	0701	0301	1301	0801
HLA-DQA1*	0201	0501	0103	0401
HLA-DQB1*	0303	0201	0603	0402
HLA-DPBI*	0901	0401	0401	1501

	Kind 1		Kind 2	
HLA-A	29	3	1	3
HLA-B	35	60	8	60
HLA-Cw	4	7	7	7
HLA-DRB1*	0301	0801	0701	0801
HLA-DQA1*	0501	0401	0201	0401
HLA-DQB1*	0201	0402	0303	0402
HLA-DPBI*	0401	1501	0901	1501

	Kind 3		Kind 4	
HLA-A	29	3	1	2
HLA-B	35	60	8	8
HLA-Cw	4	7	7	3
HLA-DRB1*	0301	0801	0701	1301
HLA-DQA1*	0501	0401	0201	0103
HLA-DQB1*	0201	0402	0303	0603
HLA-DPBI*	0401	1501	0901	0401

Abbildung 6

Beispiel einer Familientypisierung mit 4 Haplotypen. Die Typisierung der HLA-Klasse I-Merkmale ist serologisch durchgeführt worden, während die HLA-Klasse II-Merkmale molekularbiologisch bestimmt wurden. Die Kinder 1 und 3 haben von den Eltern die gleichen HLA-Haplotypen geerbt und sind demnach HLA-identisch. Kind 4 hat auf dem Genort HLA-B das gleiche Merkmal (B8) von beiden Elternteilen geerbt und ist daher für dieses Merkmal homozygot.

Indikation für eine Stammzelltransplantation von einem unverwandten Spender gegeben ist. Bei nicht-kaukasischen Patienten, bzw. bei Patienten mit seltenen Gewebemerkmale, bei denen innerhalb der Kernfamilie sowie in den internationalen Registern kein kompatibler Spender gefunden werden kann, wäre eine erweiterte Familienspendersuche denkbar. Hierbei versucht man aus dem erweiterten Verwandtenkreis einen möglichst phänotypisch identischen Spender ausfindig zu machen.

#### KM-/PBSZ-Transplantation von nicht-verwandten Spendern

Die Diagnostik im Rahmen der Suche nach einem nicht-verwandten SZ-Spender wird in dem „DGI-DAG-KBT Konsensus-Paper“ geregelt. ([http://www.immunogenetik.de/data/Konsensus\\_Version\\_AugustFinal\\_2005.pdf](http://www.immunogenetik.de/data/Konsensus_Version_AugustFinal_2005.pdf)). Das aktuelle Prozedere sieht vor, dass vor Einleitung einer Suche der Patient ein zweites Mal typisiert wird. Diesmal handelt es sich um eine hochauflösende Typisierung für alle untersuchten Genorte (HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1). Ist die Typisierung der Zweittestung mit dem Ergebnis der Ersttestung identisch, kann mit der Einleitung der Suche fortgefahren werden. So genannte

Sucheinheiten sind Service-Einrichtungen, meistens assoziiert mit HLA-Laboren, in denen speziell geschulte Mitarbeiter die Aufgabe haben, Kontakt zu den nationalen und internationalen Spender-Datenbanken aufzunehmen und somit unter den inzwischen über zehn Millionen weltweit registrierten, nicht-verwandten freiwilligen SZ-Spendern einen passenden für den aktuellen Patienten ausfindig zu machen. Mittlerweile wird für über 80% der Patienten, für die eine nicht-verwandte Stammzellspender-Suche eingeleitet wird, ein passender Spender gefunden. Im Rahmen der nicht-verwandten SZ-Spender-Suche werden nach der Identifizierung von potentiellen kompatiblen Spendern Blutproben aus den jeweiligen Dateien/Registern angefordert. Sobald diese Proben im Labor der Sucheinheit eintreffen, wird eine HLA-Testung vorgenommen, die Bestätigungstypisierung oder confirmatory typing (CT) heißt. In der nicht-verwandten Situation wird im Rahmen der CT-Testung, ähnlich wie bei der Retypisierung des Patienten, eine hochauflösende Klasse I- und Klasse II-Testung durchgeführt. Anders als bei der verwandten Situation, wird hier seit April 2005 regelmäßig auch der HLA-C-Genort untersucht.

Die aktuellen Kompatibilitätskriterien bei einer nicht-verwandten SZ-Transplantation sehen als Mindestanforderung vor, dass Spender und Empfänger für HLA-A und -B eine Kompatibilität auf niedrigauflösendem Niveau und für die HLA Klasse II-Merkmale (HLA-DRB1 und -DQB1) auf hochauflösendem Niveau aufweisen müssen. Die internationale Datenlage über den Einfluss einer hochauflösenden HLA Klasse I-Kompatibilität auf das Ergebnis der SZ-Transplantation wird gegenwärtig widersprüchlich diskutiert. Die Mehrheit der Autoren geht jedoch von einem Einfluss der Kompatibilität auf der Allel-Ebene auf den Erfolg der Stamm-

zelltransplantation aus (Flomenberg et al., Blood 2004, 104:1923-1930; Ottinger et al., Transplantation 2004, 78:1077-1080) (**Abbildung 7**). Neuerdings wird auch der Kompatibilität von Spender und Empfänger bezüglich der Rezeptoren von Natürlichen Killerzellen (KIR) und deren Liganden zunehmend Bedeutung zugemessen (Ruggeri et al., Transpl Immunol 2005, 203-206), weshalb viele der Transplantationskliniken eine solche Untersuchung bei den HLA-Laboren in Auftrag geben, sobald HLA-kompatible Spender identifiziert werden konnten.

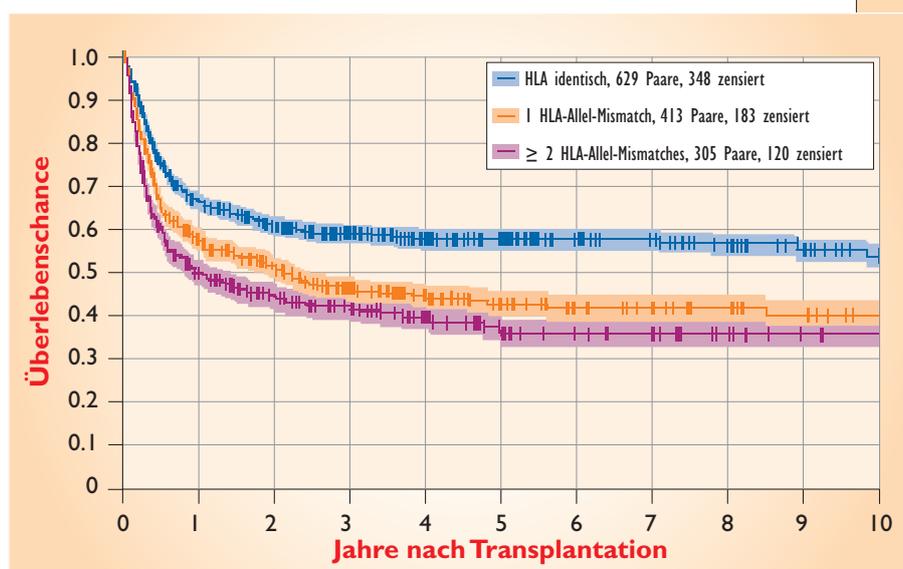


Abbildung 7

Einfluss der HLA-Kompatibilität auf das Überleben von Patienten nach allogener, nicht verwandter Stammzelltransplantation. Patienten mit vollkommener Identität für HLA-A-, -B-, -C-, -DRB1- und -DQB1-Allele (blaue Kurve) zeigen einen eindeutig besseren Verlauf als Patienten mit 1 oder mehr Allel-Mismatches ([www.ncbi.nlm.nih.gov/mhc/MHC](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mhc/MHC)).



Für Patienten, für die weder ein verwandter noch ein nicht-verwandter, kompatibler Spender gefunden werden konnte, werden vereinzelt Inkompatibilitäten in Kauf genommen. Bei bestimmten Krankheitsbildern ist es sogar möglich, eine halb-identische Spender/Empfänger-Kombination zu akzeptieren. Dies ist vor allem bei pädiatrischen Patienten mit einem SCID (angeborenen Immundefekt) der Fall. In allen inkompatiblen Spender-Empfänger-Fällen, wird in der Regel auch ein lymphozytotoxischer Crossmatch durchgeführt, um Spender-spezifische Antikörper des Patienten auszuschließen.

#### Diagnostik im Rahmen der Registrierung von freiwilligen, nicht-verwandten SZ-spendern

Nicht-verwandte, freiwillige SZ-Spender werden durch die Presse und die Medien mobilisiert und im Rahmen von „Spende-Aktionen“ registriert. Eine Typisierung von nicht verwandten SZ-Spendern zur Aufnahme in eine Spenderdatei sieht in erster Linie eine HLA-A, -B-Testung vor. Zu einem späteren Zeitpunkt kann eine prospektive Typisierung von HLA-DRB1 durchgeführt werden. Je höher der Prozentsatz von HLA-DR-typisierten

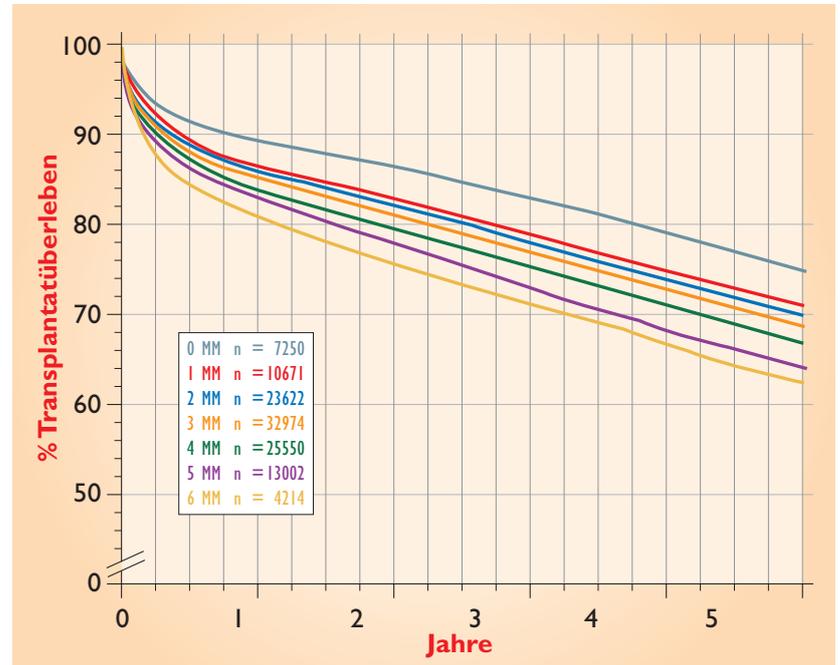


Abbildung 8

Einfluss der Gewebekompatibilität auf das Überleben von Leihnierenentransplantaten bei ersttransplantierten Patienten. Berücksichtigt wurden für diese Grafik die Gewebemerkmale HLA-A, -B und -DR. Je größer die Zahl der Inkompatibilitäten (Mismatches = MM), desto schlechter das Transplantatüberleben. Die Auswertung stammt aus der Datenbank der Collaborative Transplant Study ([www.ctstransplant.org](http://www.ctstransplant.org) CTS-K-21101-0805).

Spendern in einer Datei ist, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, dass Spender aus dieser Datei für eine tatsächliche Spende herangezogen werden. Abgesehen von den Hochdurchsatztypisierungen für HLA-A, -B und (nachgeschaltet) für -DRB1 ergeben sich bei der Spenderdatei-Diagnostik gelegentlich HLA-Typisierungsaufträge für sämtliche HLA-Genorte und Auflösungsgrade, die mit gezielten Anfragen verschiedener Sucheinheiten zusammenhängen.

#### Organtransplantation

Der zweite wichtige Pfeiler der transplantationsimmunologischen Diagnostik befasst sich mit Untersuchungen im Rahmen von Organtransplantationen. Die überragende Zahl dieser Eingriffe betrifft die Transplantation von Nieren. Anders als bei der SZ-Transplantation ist bei einer Nierentransplantation die Kompatibilität nicht so streng zu bewerten. Selbst eine vollkommene Inkompatibilität zwischen Spender und Empfänger stellt bei der Organtransplantation keine Kontraindikation dar. Zwar

gibt es eine eindeutige Korrelation zwischen dem Erfolg einer Nierentransplantation und dem Grad der Kompatibilität zwischen Spender und Empfänger (**Abbildung 8**), jedoch zwingen klinische Gründe zu der Entscheidung, nicht immer auf das optimale Organangebot zu warten, sondern teilweise einen sofort verfügbaren, jedoch vollkommen inkompatiblen Spender vorzuziehen. Gegenwärtig konzentriert sich die (Organ-)transplantationsimmunologische Diagnostik fast ausschließlich auf die Nierentransplantation, da eine Kompatibilitätsvorgabe für Herz- und Lebertransplantationen (sowie für Lunge, Darm und Hornhaut) nicht existiert. Lediglich bei immunisierten Pankreastransplantationskandidaten wird ein prospektiver Crossmatch gefordert.

In Deutschland wird die Organtransplantation und die Verteilung von Organen durch die Organisation EURORTRANSPLANT (ET) koordiniert, die in Leiden/Niederlande lokalisiert ist. Die Aufgabe von ET ist es, verfügbare Organe aus Deutschland, den Benelux-Staaten, Österreich und Slowenien an den jeweils kompatibelsten Empfänger innerhalb dieses Einzugsbereiches zu vergeben (Organallokation). Hierfür gibt es ein

ausgeklügeltes Punktesystem, das außer der Kompatibilität zum gegebenen Spender auch die Wartezeit des Patienten auf der Transplantationsliste, die Häufigkeit des HLA-Typs des Patienten und dessen Immunisierungsstatus berücksichtigt (de Meester et al., Transplantation 1998, 66:1154-1159). Der Patient, der für einen bestimmten verfügbaren Spender die höchste Punktzahl erreicht hat, erhält das Organ.

Die immungenetische Diagnostik im Rahmen der Organtransplantation befasst sich zum einen mit der Untersuchung des Patienten vor der Transplantation, und zum anderen mit der Untersuchung des Spenders. Ein weiterer Aspekt befasst sich mit dem Immun-Monitoring nach der Transplantation, das in verschiedenen Transplantationszentren, zunehmend verlangt wird.

#### **Diagnostik beim Organtransplantationsempfänger**

Für die Aufnahme eines Organtransplantationspatienten in die Transplantationswarteliste ist die Bestimmung seiner Gewebemerkmale, insbesondere HLA-A, -B und -DRB1 erforderlich. Die Typisierung wird mit niedriger Auflösung

durchgeführt. Abgesehen von der Bestimmung der HLA-Gewebemerkmale ist bei Nieren und Pankreasempängern eine regelmäßige Überwachung der lymphozytotoxischen Antikörper von Bedeutung. Das Antikörper-Screening wird in 3-monatigen Abständen durchgeführt. Patienten, bei denen lymphozytotoxische Antikörper detektiert wurden, bekommen zusätzliche Punkte bei der Organallokation. Besonders wichtig ist es auch, bei vorhandenen Antikörpern diese möglichst gut zu spezifizieren, da dadurch das Angebot eines Organs vermieden wird, gegen das der Patient spezifische Antikörper haben könnte. Seren von immunisierten Nieren- bzw. Pankreaspatienten werden an alle HLA-Labore, die Organspender-Diagnostik in-nerhalb des ET-Verbundes durchführen, versendet, damit bei einem eventuellen Organ-Angebot für diese Patienten im Spenderzentrum eine lymphozytotoxische Kreuzprobe durchgeführt werden kann. HLA-Labore, in denen nur Empfängerdiagnostik betrieben wird, versenden darüber hinaus eine Serumprobe jedes Nierenpatienten der lokalen Transplantationswarteliste an die Regionallabore (s. unten).



### Organspenderdiagnostik

Die Organisation der Organspende innerhalb von Deutschland wird von der Deutschen Stiftung Organtransplantation (DSO) durchgeführt. Die DSO hat das Bundesgebiet in sieben Transplantationsregionen unterteilt (Bayern, Baden-Württemberg, Mitte, Nordrhein-Westfalen, Nord, Nord-Ost, Ost) und innerhalb jeder Region 1-2 Gewebetypisierungs-Labore unter Vertrag genommen (= Regionallabore), deren Aufgabe es ist, eine adäquate Organspenderdiagnostik auf 24-Stunden Basis sicherzustellen. Für eine erfolgreiche Organtransplantation müssen entnommene Organe möglichst schnell (innerhalb von 48 Stunden für Nieren bzw. 8 Stunden für Herz, Leber, Pankreas und Lunge) an den Patientenkreislauf angeschlossen werden. Regional-Labore müssen im Falle eines verstorbenen (hirntoten) Organspenders eine Gewebetypisierung des Spenders für die HLA-Merkmale A, B und DR möglichst schnell durchführen, und die Ergebnisse an das DSO-Regionalbüro bzw. das Zentral-Transplantationsbüro von ET melden. Anhand einer Rangliste, die von ET an das Regionallabor gesendet wird, müssen anschließend lymphozytotoxische

Crossmatches für alle Patienten, die in der entsprechenden Region als beste Empfängerkandidaten in Frage kommen, durchgeführt werden. Auch für immunisierte Patienten aus anderen Regionen, die ebenfalls als mögliche Empfänger berücksichtigt werden müssen, werden im Regionallabor, das die Spenderdiagnostik durchführt, Crossmatches angesetzt. Ein positiver Crossmatch stellt eine Kontraindikation zur Nierentransplantation dar. Wenn der potentielle Empfänger in einer anderen Region als der Spenderregion registriert ist bzw. seit dem letzten Antikörper-Screening ein immunisierendes Ereignis stattgefunden hat (z. B. Bluttransfusionen, Transplantationen, Schwangerschaft etc), muss der Crossmatch im Empfänger-Regionallabor wiederholt werden. Die Organe werden an die punkthöchsten, crossmatch-negativen Empfänger innerhalb des gesamten ET-Verbundes vergeben. Die Kriterien für die Freigabe eines Organ-Transplantats sind mittlerweile von der DGI reguliert worden. Eine entsprechende Richtlinie ist von der ständigen Kommission Organtransplantation der Bundesärztekammer verabschiedet worden (Deutsches Ärzteblatt 2005, 102:C2360-C2367).

Bei geplanten Lebendspendetransplantationen wird neben einer Bestimmung der Blutgruppen- und HLA-Merkmale von Spender und Empfänger dem Crossmatch eine besondere Bedeutung beigemessen, um zu vermeiden, dass die Niere einer gesunden, verwandten Person, durch eine (möglicherweise vorhersehbaren) Abstoßung vergeudet wird.

# Aktuelles zur Diagnostik und Therapie der paroxysmalen nächtlichen Hämoglobinurie



Prof. Dr. med. Hubert Schrezenmeier  
Dr. med. Britta Höchsmann  
Dr. med. Sixten Körper

DRK-Blutspendedienst  
Baden-Württemberg – Hessen

Institut für Klinische Transfusionsmedizin  
und Immungenetik Ulm gGmbH

Institut für Transfusionsmedizin,  
Universität Ulm

Prof. Dr. med. Jörg Schubert  
Innere Medizin I  
Universitätsklinikum des Saarlandes

Die paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie (PNH) ist eine seltene, lebensbedrohliche Erkrankung der hämatopoietischen Stammzelle. Aufgrund der großen Variabilität von Symptomatik und klinischem Verlauf ist die PNH trotz ihrer Seltenheit im Rahmen der Abklärung hämolytischer Erkrankungen oder bei Thrombosen unklarer Ursache eine wichtige Differentialdiagnose für den Kliniker. In den letzten Jahren gab es erhebliche Fortschritte bei der Aufklärung der Pathophysiologie dieser Erkrankung. Diese Erkenntnisse waren die Basis für neue diagnostische Verfahren und die Entwicklung einer molekular zielgerichteten Therapie. Veranlasst durch aktuelle Publikationen stellen wir hier Empfehlungen einer internationalen Expertengruppe (International PNH Interest Group (IPIG)) vor (1) und fassen Ergebnisse einer randomisierten Phase III-Studie zur Therapie der PNH zusammen (2). Es soll insbesondere dargelegt werden, wann an diese Differentialdiagnose gedacht werden sollte und entsprechende Diagnostik durchzuführen ist und stellen die Ergebnisse aus aktuell publizierten Studien bei transfusionsabhängigen PNH-Patienten mit der neuen Substanz Eculizumab in den Kontext der bisherigen Standardtherapie.

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a rare, life-threatening acquired disorder of hematopoietic stem cells. The clinical presentation and natural history of PNH is very heterogenous. PNH has to be considered in differential diagnosis of many common hematologic disorders, e.g. hemolytic disorders or thrombosis of unknown cause. In the recent years substantial progress has been made towards elucidation of the pathophysiology of PNH. This allowed to establish new diagnostic methods and to develop molecular targeted therapy. Prompted by recent publications we present here recommendations of an International PNH Expert Group (IPIG) (1) and summarize results of a randomised phase-III trial (2). In particular we describe who should be screened for PNH and how the diagnosis should be established. We also present results on treatment of transfusion-dependent PNH patients with the new substance eculizumab.

## Einleitung

Die paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie (PNH) ist ein Erkrankung, welche klinisch durch die Trias aus

- erworbener korpuskulärer hämolytischer Anämie
- thrombophiler Diathese
- hämatopoietische Insuffizienz

charakterisiert ist (1). In welcher Kombination und in welchem Schweregrad diese PNH-Manifestationen auftreten, ist jedoch äußerst variabel. Auch der zeitliche Verlauf kann sehr unterschiedlich sein, teils mit chronischer Symptomatik, teils mit sehr schubartigen Exazerbationen (3,4). In der überwiegenden Zahl der Fälle handelt es sich um eine chronische Erkrankung. Es wurden jedoch auch spontane Remissionen beschrieben (3). Die Häufigkeit kli-

nischer Symptome bei Erstmanifestation ist in **Tabelle 1** dargestellt (5). Das namensgebende Symptom einer Hämoglobinurie (**Abbildung 1**) tritt nur bei einem Teil der Patienten auf.

## Pathophysiologie

Die Ursache der PNH ist eine erworbene, somatische Mutation im X-chromosomalen Gen PIG-A bei einer oder wenigen hämatopoietischen Stammzellen (6). Das vom PIG-A-Gen kodierte Protein ist ein essentieller Kofaktor für die Synthese des Glykosylphosphatidylinositol-Ankers (GPI) im endoplasmatischen Retikulum. Das GPI-Anker molekül ist ein molekularer Anker zahlreicher membranstän-

### Klinische Symptome bei Diagnose der PNH (nach Lewis & Dacie) (5)

Anämie-Symptome	35 %
Hämoglobinurie	26 %
Blutungszeichen	18 %
Symptome aplastische Anämie	13 %
Gastrointestinale Beschwerden	10 %
Hämolytische Anämie / Ikterus	9 %
Symptome Eisenmangelanämie	6 %
Thromboembolische Komplikationen	6 %
Infektionen	5 %
Neurologische Symptome	4 %



Abbildung 1

Urin eines Patienten mit ausgeprägter Hämoglobinurie. Die Hämoglobinurie tritt nicht nur – wie der Name PNH suggeriert – nachts oder morgens auf. Im dargestellten Fall handelt es sich um eine Urinprobe, welche um 15 Uhr abgenommen wurde. Der Patient hatte sich während einer hämolytischen Krise aufgrund schwerer Anämie-Symptomatik mit einem Hämoglobin-Wert von 7.1 g/dl vorgestellt.

(Bild: Dr. Volker Mailänder, IKT Ulm)

diger Proteine, welche keine transmembranäre Domäne aufweisen. Beim Fehlen eines funktionellen PIG-A Genproduktes bricht die Synthese des GPI-Ankers bei der Übertragung eines UDP-N-Acetyl-Glucosamins auf einen Inositolrest ab (**roter Pfeil in Abbildung 2**). Zahlreiche Proteine, welche mittels dieser GPI-Struktur auf der Zellmembran verankert sind, können nicht mehr exprimiert werden. Je nach Mutation im PIG-A-Gen kann der GPI-Anker entweder gar nicht mehr synthetisiert werden und diese GPI-verankerten Proteine fehlen dann auf den PNH-Zellen völlig („PNH-Typ-III-Zellen“) oder es wird wenig oder nicht korrekt orientiertes GPI-Anker-molekül hergestellt und die Expressionsstärke der GPI-verankerten Proteine ist entsprechend reduziert („PNH-Typ-II-Zellen“) (7-10).

Unter den GPI-verankerten Proteinen befinden sich auch komplementregulierende Proteine wie CD55 oder CD59. Das CD55 hemmt die C3- und C5-Convertasen. CD59 hemmt die Bildung des terminalen Membranangriffskomplexes C5b-C9. Durch das Fehlen dieser komplementregulierenden Proteine auf der Erythrozytenmembran erhöht sich die Sensitivität der Erythrozyten gegenüber komplementvermittelter Hämolyse. Bei den Leukozyten verhindert das Transmembranprotein CD46 eine komplementvermittelte Lyse.

In analoger Weise kommt es an Thrombozyten zu komplementvermittelter Lyse mit Freisetzung von Vesikeln oder Mikropartikeln, welche prokoagulatorische Wirkung zeigen und zu verstärkter Thrombin-Bildung führen (11,12). Dies erklärt teilweise das erhöhte Risiko für thromboembolische Komplikationen bei PNH.

Freies Hämoglobin im Plasma bindet irreversibel Stickstoffmonoxid (NO), wodurch dessen Bioverfügbarkeit sinkt. NO ist ein wichtiger Mediator für die Relaxation der glatten Muskulatur (13). Die Hämolyse-bedingte NO-Depletion wird als Ursache der bei PNH auftretenden Dysphagie (durch Ösophagusspasmen) und erektilen Dysfunktion gesehen. Es wird spekuliert, dass die bei PNH häufig auftretenden abdominalen Schmerzkrisen neben mesenterialen (Mikro-)Thrombosen auch auf Spasmen der Gefäßmuskulatur wegen NO-Depletion zurückzuführen sind.

Da es sich bei der PNH um eine Stammzellerkrankung handelt, findet sich die GPI-Defizienz bei allen aus der betroffenen hämatopoietischen Stammzelle hervorgegangenen Zellen. Durch Mutationsanalyse konnte gezeigt werden, dass viele PNH-Patienten mehrere Zellpopulationen mit verschiedenen PIG-A Mutationen aufweisen (10). Somit ist die PNH wohl in der Mehrzahl der Fälle als oligoklonale Stammzellerkrankung einzustufen, wobei meist ein Klon dominiert. Neben den Stammzellen mit einer erworbenen somatischen PIG-A Mutation existieren auch noch Stammzellen mit normalem PIG-Gen und entspre-

chend intakter GPI-Expression. Somit besteht immer ein Mosaik aus GPI-defizienten PNH-Zellen und normalen Zellen. Der relative Anteil dieser Populationen kann sehr unterschiedlich sein. Bei der klassischen PNH findet sich in der Regel ein hoher Anteil GPI-defizienter Retikulozyten, Erythrozyten, Granulozyten und Monozyten im peripheren Blut. Insbesondere bei Krankheiten mit hämatopoietischer Insuffizienz, zum Beispiel aplastische Anämie und Myelodysplastisches Syndrom, gibt es jedoch sehr häufig auch kleine GPI-defiziente Populationen ohne klinische PNH-Symptomatik (14,15). Selbst bei Gesunden wurden mit sehr sensitiven Methoden kleine GPI-defiziente Zellpopulationen mit PIG-A Genmutationen nachgewiesen (16).

Warum es in manchen Fällen dazu kommt, dass sich die GPI-defiziente Stammzellpopulation und deren Abkömmlinge gegenüber den anderen Zellen durchsetzen, ist nicht völlig geklärt.

### Klassifikation

Der unterschiedliche Anteil GPI-defizienter Zellen, die variable klinische Symptomatik und das Auftreten von GPI-defizienten Zellpopulationen sowohl als isolierte Problematik, aber auch in Zusammenhang mit anderen Erkrankungen der Hämatopoese, insbesondere der aplastischen Anämie, führte in der Vergangenheit häufig zu terminologischen Unklarheiten. Keinesfalls darf der Nachweis GPI-defizienter Zellen mit der Diagno-

se einer klinischen PNH gleichgesetzt werden. Die „International PNH Interest Group“ (IPIG) hat daher eine Klassifikation in drei Gruppen vorgeschlagen: (I) klassische PNH, (II) PNH im Kontext anderer Erkrankungen der Hämatopoese und (III) subklinische PNH (siehe Tabelle 2) (1). Die Einteilung gemäß dieses Schemas kann durch Anamnese, klinische Symptomatik und wenige Laborparameter erfolgen.

### Diagnose

Über viele Jahrzehnte beruhte die Diagnose der PNH neben dem klinischen Bild auf dem Nachweis der erhöhten Komplementsensitivität der Erythrozyten durch den „Zuckerwasser-Test“ und den Säure-Serumtest („Ham’s-Test). Diese Tests sind inzwischen obsolet. Die Erkenntnisse zur Rolle des GPI-Ankers führten zur Etablierung der durchflusszytometrischen Dia-

Abbildung 2

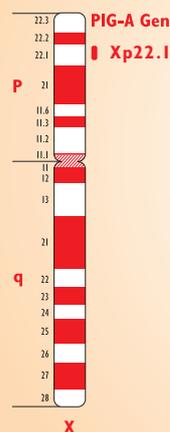
Linker Teil: Position des PIG-A Gens auf dem X-Chromosom

Rechter Teil: Struktur des GPI-Ankers, durch welchen zahlreiche Proteine an die Zellmembran gebunden sind  
Roter Pfeil: Stelle des Syntheseabbruchs im GPI-Anker bei PNH

\*\*\*: Mannose-Reste im Glykan-Kern des GPI-Ankers, an welchen modifiziertes Aerolysin (FLAER) bindet  
In grüner Schrift sind einige der auf Blutzellen exprimierten GPI-verankerten Proteine aufgezählt.

## Schematische Darstellung der PNH-Pathophysiologie

Position des PIG-A Gens auf dem X-Chromosom

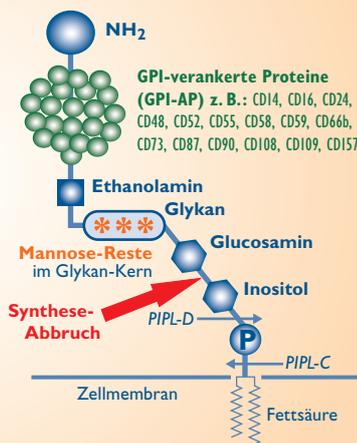


PIG-A Genprodukt essentiell für die Synthese des GPI-Ankers im endoplasmatischen Retikulum

### Klinik der PNH:

- korpuskuläre hämolytische Anämie
- Thrombophile Diathese
- Hämatopoietische Insuffizienz

Struktur des GPI-Ankers





### Klassifikation der PNH gemäß den IPIG-Empfehlungen (I)

<b>Klassische PNH</b> („Classic PNH“)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Intravasale Hämolyse (Retikulozyten ↑, LDH ↑, indir. Bilirubin ↑, Haptoglobin ↓)</li> <li>• keine Evidenz für weitere hämatopoetische Störung außer erythropoetischer Hyperplasie</li> <li>• keine zytogenetischen Aberrationen</li> </ul>
<b>PNH im Kontext anderer Erkrankungen mit hämatopoetischer Insuffizienz</b> („PNH in the setting of another specified bone marrow disorder“)	Hämolyse wie klassische PNH, aber gleichzeitig oder vorausgehend auch <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aplastische Anämie</li> <li>• Myelodysplastisches Syndrom</li> <li>• cMPS, z. B. Osteomyelofibrose</li> </ul>
<b>Subklinische PNH</b> („Subclinical PNH“)	Keine klinischen oder laborchemischen Hämolysezeichen; kleine GPI-defiziente Klone

↑  
Tabelle 2

agnostik der PNH. Die reduzierte oder fehlende Expression der GPI-verankerten Proteine kann durch fluoreszenzmarkierte Antikörper auf den betroffenen Blutzellreihen durchflusszytometrisch dargestellt werden. Mit FLAER, einer modifizierten, fluorochrom-markierten Form des bakteriellen Toxins Aero-lysin, welches spezifisch an die Mannose-Gruppe im GPI-Anker bindet (*siehe rote Markierung \*\*\* in Abbildung 2*), kann auch direkt die fehlende Expression des GPI-Ankers dargestellt werden. Der Vorteil der durchflusszytometrischen Diagnostik im Vergleich zu den Hämolyse-Tests besteht in der hohen Sensitivität, der guten Quantifizierbarkeit der GPI-defizienten Population und der Möglichkeit,

die einzelnen Zellreihen getrennt zu untersuchen (17). Die Durchflusszytometrie aus peripherem Blut, welche zumindest die Expression der GPI-verankerten Proteine auf Retikulozyten und Granulozyten untersuchen sollte, stellt daher den Goldstandard zur PNH-Diagnostik dar.

**Abbildung 3** zeigt ein typisches Beispiel einer großen PNH-Population bei einem Patienten mit PNH. An der Expression GPI-verankerter Proteine auf Granulozyten wird in **Abbildung 4** die Bandbreite möglicher Befunde von der normalen Kontrolle bis hin zu einer großen PNH-Population bei klassischer PNH dargestellt.

Neben Untersuchung der GPI-verankerten Proteine und dem Blutbild sollen bei Erstdiagnose als Mindestdiagnostik immer auch die Hämolyse-Parameter bestimmt werden und eine Knochenmarkuntersuchung erfolgen (**Tabelle 3**).

Die PNH ist eine seltene Erkrankung. Wegen der vielfältigen Symptomatik muss sie jedoch häufig in der Differentialdiagnose berücksichtigt werden. Mit der Durchflusszytometrie der GPI-verankerten Proteine auf den Blutzellen steht jetzt ein sensitives Screening-Verfahren zur Verfügung. **Tabelle 4a** fasst Situationen zusammen, bei welchen auch die PNH differentialdiagnostisch in Erwägung gezogen werden muss und

#### Empfehlungen zur Diagnostik bei PNH (modifiziert nach IPIG-Empfehlungen) (I)

##### **Durchflusszytometrie GPI-verankerter Proteine:**

- Granulozyten und Erythrozyten (und Retikulozyten)

##### **Blutbild/Laborparameter:**

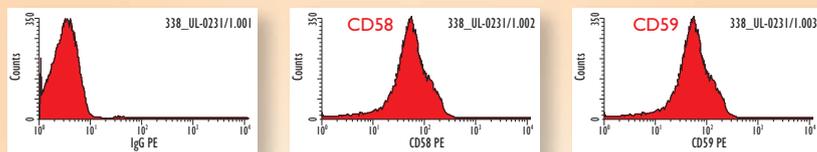
- Zellzählung, Differentialblutbild, Retikulozyten
- LDH, indirektes Bilirubin, Haptoglobin

##### **Knochenmarkdiagnostik:**

- Aspirationszytologie
- Histologie
- Zytogenetik

↑  
Tabelle 3

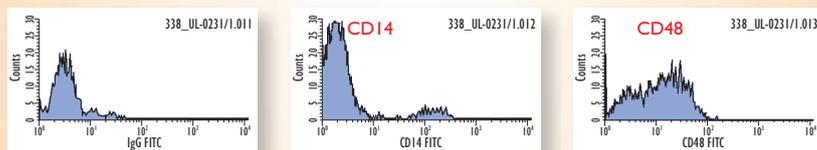
### Erythrozyten



### Retikulozyten



### Monozyten



### Granulozyten

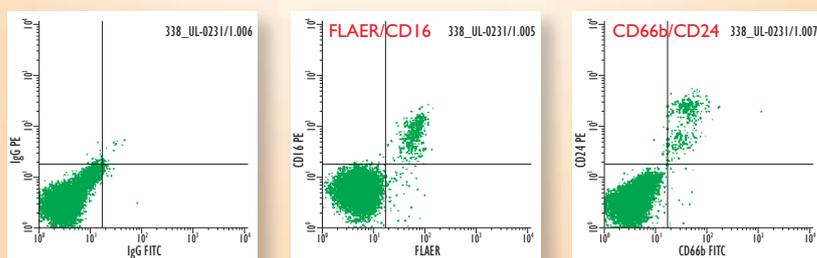


Abbildung 3

Typischer durchflusszytometrischer Befund bei PNH. Die erste Spalte zeigt die Isotyp-Kontrolle und in der zweiten und dritten Spalte ist jeweils die Expression GPI-verankerter Proteine dargestellt: CD58 und CD59 auf Erythrozyten und Retikulozyten, CD14 und CD48 auf Monozyten, FLAER/CD16 und CD24/CD66b auf Granulozyten. Es lässt sich jeweils eine im Bereich der Isotyp-Kontrolle liegende negative Population abgrenzen.

beobachtungsstudien betrug die Überlebenswahrscheinlichkeit 15 bzw. 25 Jahre nach Diagnose 48 % bzw. 28 % (3,4). Die Hämolyse beeinträchtigt zwar sehr die Lebensqualität der Patienten, führt aber selten zu lebensbedrohlichen Situationen. Die Haupttodesursachen bei PNH sind Thrombosen (ca. 60 %) und Komplikationen der Zytopenie bei begleitender hämatopoietischer Insuffizienz (ca. 20 %) (3,4,18). Die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer Thrombose betrug in retrospektiven Studien über 40 % innerhalb von 15 Jahren (4). Die venösen Thrombosen sind häufig atypische Thrombosen, d. h. Sinusvenenthrombosen, Budd-Chiari-Syndrom, Pfortaderthrombosen, Milzvenenthrombosen, Mesenterialthrombosen. Auch arterielle Thrombosen wurden beschrieben (19). Etwa 15 % der Patienten mit der initialen Präsentation einer klassischen PNH entwickeln eine Panzytopenie im Sinne einer aplastischen Anämie (4). Auch der umgekehrte Weg, d. h. primär Präsentation als aplastische Anämie

eine durchflusszytometrische Analyse der GPI-verankerten Proteine veranlasst werden sollte (1). Bei Nachweis einer GPI-defizienten Zellpopulation im Sinne einer klassischen hämolytischen PNH oder auch als Begleitphänomen bei hämatopoietischer Insuffizienz sind Verlaufskontrollen zu empfehlen (Tabelle 4b) (1). Der relative Anteil der PNH-Zellen kann im Verlauf durchaus schwanken und ist für prognostische Erwägungen, ebenso wie für Therapieentscheidungen relevant

(siehe weitere Ausführungen) und eignet sich darüber hinaus auch zur Therapiekontrolle, insbesondere nach allogener Stammzelltransplantation, um die Elimination der PNH-Population zu verfolgen.

### Klinischer Verlauf

Die PNH führt zu einer relevanten Beeinträchtigung der Lebensqualität und Überlebensprognose der Patienten. In zwei Langzeit-

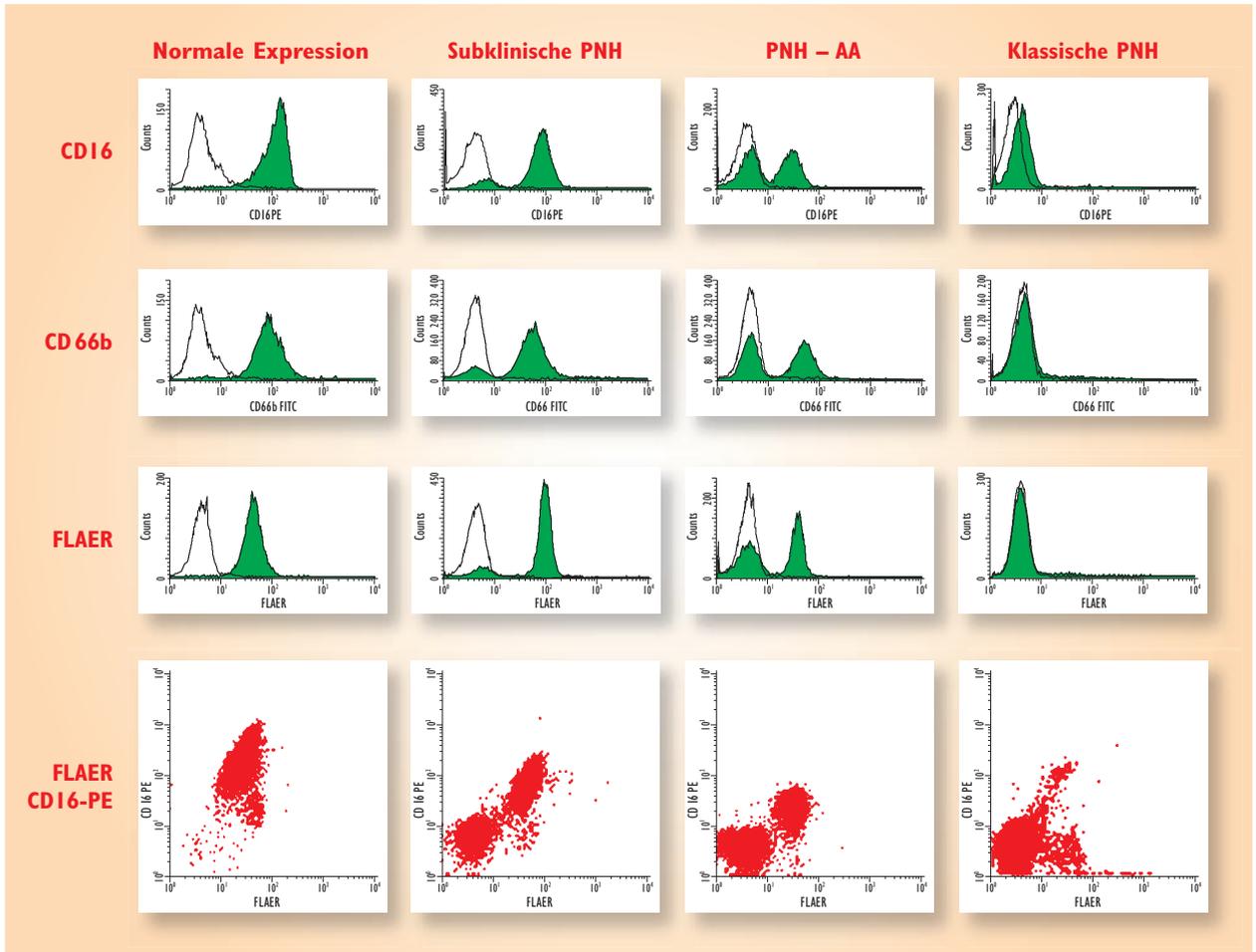


Abbildung 4

Durchflusszytometrische Analyse von Granulozyten bei einer gesunden Kontrollperson (linke Spalte), und Patienten mit kleiner PNH-Population bei subklinischer PNH (2. Spalte), einer GPI-defizienten Population bei PNH im Kontext einer aplastischen Anämie (3. Spalte) und einer großen GPI-defizienten Population bei klassischer PNH (4. Spalte). Untersucht wurde jeweils die Expression von CD16 (1. Reihe), CD66b (2. Reihe), die Bindung von FLAER (3. und 4. Reihe) und die Expression von CD16 (4. Reihe).

mit Entwicklung einer klinisch symptomatischen PNH ist möglich (18,20).

Zu den prognostische Faktoren, welche mit geringerer Überlebenschancen assoziiert sind, gehören thromboembolische Komplikationen, Entwicklung einer Panzytopenie, Übergang in MDS oder akute Leukämie, Thrombozytopenie bei Diagnose und Alter über 55

Jahre. Dagegen ist die Vorgeschichte einer aplastischen Anämie bei der PNH-Diagnose prognostisch günstig (4).

### Therapie der PNH

#### Kurative Therapie

Die einzige Therapie der PNH mit sicherem kurativem Potential ist die **allogene Stammzelltrans-**

**plantation.** Das Langzeitüberleben nach allogener Transplantation bei PNH liegt in Auswertungen von Registerdaten der „European Group for Blood and Marrow Transplantation“ (EBMT) und der „International Bone Marrow Transplant Registry“ (IBMTR) und Literaturberichten zwischen 50 und 60 % (1,21). Aufgrund der erheblichen transplantations-assoziierten Morbidität und Mortalität wird die Indikation

für die allogene Transplantation streng gestellt. Indikationen sind wiederkehrende, lebensbedrohliche thromboembolische Komplikationen oder eine sehr schwere refraktäre, transfusionsabhängige hämolytische Anämie oder eine PNH im Kontext einer aplastischen Anämie oder eines MDS, wenn die letztgenannten Erkrankungen bereits eine Transplantationsindikation darstellen (1).

## Symptomatische Therapie

### Behandlung der Hämolyse

Die Rolle von Corticosteroiden in der Therapie der PNH ist umstritten. Bei einem Teil der Patienten lassen sich akute hämolytische Schübe durch **Corticosteroide** (in Dosierungen zwischen 0,25-1 mg/kg Körpergewicht) in ihrem Schweregrad und ihrer Dauer rasch und effektiv beeinflussen. Als Dauertherapie sollten Corticosteroide jedoch nur zurückhaltend eingesetzt werden (1).

Die meisten Patienten werden symptomatisch behandelt. Bei entsprechender Anämie-Symptomatik sollten **Erythrozytenkonzentrate** transfundiert werden (siehe Beitrag in hämotherapie Heft 7 zur Transfusionsindikation bei chroni-

<b>Indikationen für durchflusszytometrische Diagnostik GPI-verankerter Proteine (modifiziert nach IPIG-Empfehlungen) (I)</b>
<p><b>Intravasale Hämolyse</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Patienten mit Hämoglobinurie</li> <li>• Patienten mit erworbener, Coombs-negativer hämolytischer Anämie (ganz besonders in Verbindung mit Eisenmangel)</li> </ul>
<p><b>Diagnose von Erkrankungen mit PNH-Assoziation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• bei Diagnose Aplastische Anämie</li> <li>• bei Diagnose RA-MDS*</li> </ul>
<p><b>Thrombose unklarer Ätiologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• insbesondere bei atypischen Thrombosen: Budd-Chiari-Syndrom, Sinusvenenthrombosen, Mesenterial-, Pfortader- oder Milzvenen-Thrombosen</li> <li>• vor allem bei Thrombosen in Verbindung mit Hämolyse und/oder Eisenmangel</li> </ul>
<p><b>Unklare Eisenmangelanämie</b></p>
<p><b>Patienten mit episodischer Dysphagie oder abdominalen Schmerzkrisen (in Verbindung mit Zeichen intravasaler Hämolyse)</b></p>
<p>* RA: MDS Typ refraktäre Anämie</p>

Table 4a

<b>Indikationen für durchflusszytometrische Diagnostik GPI-verankerter Proteine bei Initialdiagnose und Verlauf (modifiziert nach IPIG-Empfehlungen) (I)</b>
<p><b>Klassische PNH; PNH-Aplastische-Anämie-Syndrom</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• bei Diagnose: Granulozyten und Erythrozyten / Retikulozyten</li> <li>• im Verlauf im Abstand von 6 Monaten über 2 Jahre, dann jährlich</li> <li>• bei klinischem Verdacht auf Progression kürzere Abstände</li> </ul>
<p><b>Subklinische PNH</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• bei Diagnose Aplastische Anämie, bei RA-MDS (mit hochsensitiver Methode)</li> <li>• im Verlauf jährlich (auch bei Abwesenheit von Hämolysezeichen)</li> </ul>
<p><b>Monitoring nach allogener SCT bei PNH</b></p>
<p>* RA: MDS Typ refraktäre Anämie</p>

Table 4b

scher Anämie). Es ist nicht nötig gewaschene Erythrozytenkonzentrate zu verwenden (22). Auch wenn durch die Transfusion Komplementfaktoren zugeführt werden, kommt es dabei nicht zu einer Verstärkung der komplementvermit-

telten Hämolyse. Bei PNH sollte vor Operationen mit erhöhtem Risiko einer ausgeprägten Komplementaktivierung, insbesondere bei extrakorporalem Kreislauf eine Transfusion von Erythrozytenkonzentrat bis zur Normalisierung des



Hämoglobin-Wertes erfolgen, um den relativen Anteil GPI-defizienter Zellen zu verringern (23,24). In diesem Zusammenhang kann auch relevant sein, dass eine Übertragung von membranständigen komplementregulierenden Proteinen von den transfundierten Erythrozyten auf GPI-defiziente (Empfänger-)Erythrozyten nachgewiesen wurde (25,26).

Die chronische intravasale Hämolyse mit Hämoglobinurie und Hämosiderinurie kann bei PNH zu Eisenmangel führen. Es sollte entsprechend ein Monitoring des Eisenhaushaltes durchgeführt werden und bei Bedarf eine **Eisen-substitution** eingeleitet werden, bevorzugt mit oralen Gaben von Eisensulfat, da bei intravenöser Eisenapplikation die Auslösung hämolytischer Schübe berichtet wurde (1). Da jedoch im Falle chronischer Transfusionsbedürftigkeit, insbesondere bei begleitender hämatopoietischer Insuffizienz, auch die Möglichkeit einer Eisenüberladung besteht, darf die Eisensubstitution nur unter entsprechendem Monitoring der Eisenspeicher erfolgen (Ferntin, Transferrin-Sättigung).

Bei klassischer PNH besteht eine erhebliche kompensatorische Steigerung der Erythropoiese. Dies

führt auch zu erhöhtem Umsatz von **Folsäure**, welche substituiert werden sollte (5 mg/Tag p.o.) (1).

Bezüglich weiterer therapeutischer Optionen mit hämatopoetischen Wachstumsfaktoren (vor allem Erythropoietin), Androgenen und Immunsuppression wird auf Übersichtsarbeiten verwiesen (1).

#### **Prophylaxe und Therapie thromboembolischer Komplikationen**

Da die Prognose der Patienten wesentlich von thromboembolischen Komplikationen bestimmt wird, stellt sich die Frage der primären prophylaktischen Antikoagulation. Eine retrospektive Studie zeigte, dass die Inzidenz von Thrombosen bei Patienten mit der Größe der PNH-Population korreliert. Bei einem hohen Anteil GPI-defizienter Zellen (definiert mit > 50 % GPI-defiziente Granulozyten im peripheren Blut) war die Thromboseinzidenz signifikant höher als bei Patienten mit einem Anteil GPI-defizienter Zellen unter der 50 %-Schwelle (44 % vs. 5,8 % in einem Beobachtungszeitraum von 20 Jahren) (27,28). Patienten, welche primär prophylaktische orale Antikoagulation erhielten (Warfarin) entwickelten signifikant

seltener Thrombosen als die nicht-antikoagulierte Gruppe (0 % versus 36,5 % nach zehn Jahren) (27).

Es fehlt jedoch bisher eine prospektive randomisierte Studie, welche den Vorteil der Primärprophylaxe belegt, da im Spontanverlauf nur ein Teil der Patienten ein thromboembolische Komplikation erleidet und die Blutungskomplikationen bei lebenslanger oraler Antikoagulation berücksichtigt werden müssen. Daher hat sich für diese Frage noch kein eindeutiger Expertenkonsens ergeben (1). Dagegen besteht Konsens, dass nach einer Thrombose eine Langzeit-Antikoagulation durchgeführt werden soll (1). Auch in allen Situationen, welche das Thromboserisiko erhöhen, sollte die Indikation für eine Antikoagulation weit gestellt werden. Allerdings kann es trotz Sekundärprophylaxe weitere Thrombosen geben. Eine besondere Risikosituation für PNH-Patientinnen ist eine Schwangerschaft. Während der Schwangerschaft ist eine Therapie mit Heparin, bevorzugt niedermolekulares Heparin dringend zu empfehlen (1). Die Antikoagulation muss mindestens für sechs Wochen nach Entbindung fortgeführt werden, postpartal bevorzugt mit oraler Antikoagulation. Wegen der bei PNH möglichen hämatopoietischen Insuffi-

zienz ist unter Antikoagulation eine regelmäßige Blutbildkontrolle erforderlich, um schwere Thrombozytopenien rechtzeitig zu erkennen und die Antikoagulation anzupassen.

Erfolgreiche Thrombolyse oder radiologische Embolektomien sind beschrieben und sollten insbesondere bei Patienten mit neu aufgetretenem Budd-Chiari-Syndrom in Betracht gezogen werden.

### Neue molekular zielgerichtete Therapieansätze: Komplement-Inhibition

Aufgrund der Erkenntnisse zur Rolle der komplementregulierenden Proteine in der Pathophysiologie der PNH wurden molekular zielgerichtete Therapien entwickelt, welche entweder die fehlenden komplementregulierenden Proteine ersetzen oder die Komplementaktivierung hemmen. Tierexperimentell konnte gezeigt werden, dass sich eine rekombinante lösliche Form des CD59-Proteins an Ery-

throzyten anlagern und ihren Schutz gegen komplementvermittelte Lyse wieder herstellen kann (29).

Eine weitere Entwicklung ist **Eculizumab**, ein humanisierter monoklonaler Antikörper, welcher die Aktivität des terminalen Komplementproteins C5 hemmt und dadurch das Fehlen der komplementregulierenden Proteine auf den Blutzellen kompensieren kann. Nach einer Pilotstudie mit positiven Ergebnissen (29-31) wurde Eculizumab in einer doppelt-blinden, randomisierten, plazebo-kontrollierten Multicenter-Phase-III-Studie untersucht (2). Transfusionsabhängige PNH-Patienten (n = 87), welche keine ausgeprägte hämatopoietische Insuffizienz haben durften (Thrombozyten > 100.000 /  $\mu$ l) er-

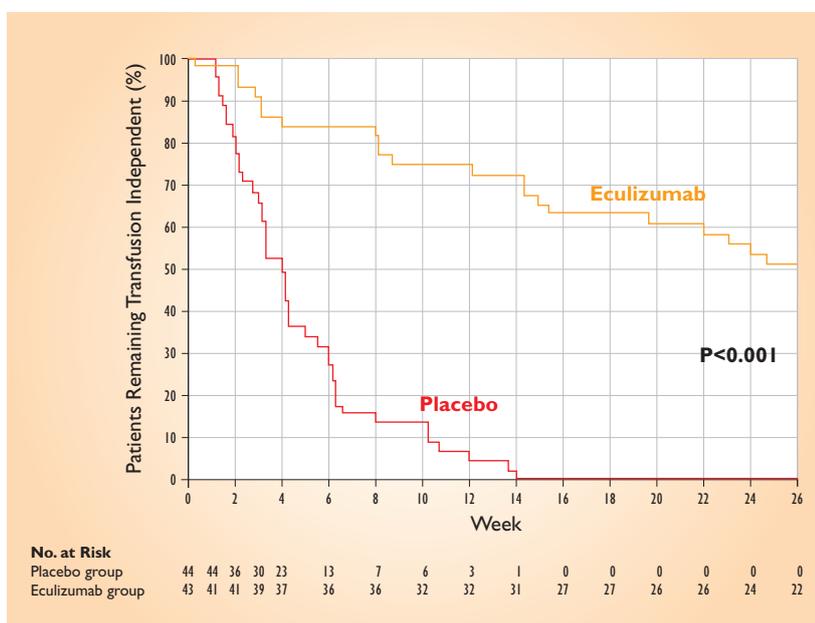
hielten intravenös entweder Plazebo oder Eculizumab (initial 600 mg 1x/Woche i. v., dann Umstellung auf 900 mg und Gabe alle zwei Wochen). Die deutliche Reduktion der Hämolyse durch Eculizumab zeigte sich in einer hochsignifikanten Senkung der LDH-Spiegel. Dies wirkte sich auch in klinischen Parametern aus: Bei 49 % der Patienten in der Eculizumab-Gruppe konnte die Hämoglobin-Konzentration stabilisiert werden gegenüber 0 % in der Plazebo-Gruppe. Die mediane Zeit bis zur nächsten Erythrozytentransfusion war in der Eculizumab-Gruppe signifikant länger (Abbildung 5) (2). In der Plazebo-Gruppe hatten 14 Wochen nach Studienbeginn alle Patienten mindestens ein weiteres Transfusionsereignis, wäh-

Abbildung 5

Kaplan-Meier Kurve für die Zeit bis zur ersten Erythrozytentransfusion während der Eculizumab-Studie in der Verum- und Plazebo-Gruppe.

(aus New England Journal, 355, S.1239; 2006) (2)

Nachdruck mit Genehmigung. Copyright © 2006 Massachusetts Medical Society. Alle Rechte vorbehalten





rend in der Eculizumab-Gruppe auch nach 26 Wochen mehr als die Hälfte der Patienten transfusionsfrei geblieben war (**Abbildung 5**). Während der 26-wöchigen Studienzeit erhielten die Patienten in der Placebo-Gruppe im Median zehn Erythrozytenkonzentrate gegenüber einem Median von null Erythrozytenkonzentrat in der Eculizumab-Gruppe. In einer Erfassung der Lebensqualität mit den FACIT-Fatigue und dem EORTC-QLQ-Fragebogen zeigte sich eine signifikante Differenz zugunsten der Eculizumab-Gruppe, wobei auch das Ausmaß der Verbesserung der Lebensqualität im Vergleich zu anderen Studien bei Patienten mit Anämie sehr bemerkenswert war. Die deutliche Verbesserung der Lebensqualität war auch bei Patienten, deren Hämoglobin-Wert sich nicht völlig normalisierte, zu beobachten (**2**). Dies spricht dafür, dass neben der Besserung der Anämie ein Teil des therapeutischen Effekts auf die Unterdrückung der Hämolyse, und damit auch Verringerung der NO-Depletion durch freies Hämoglobin, zurückzuführen ist (**13,32**). Es gab keine schwerwiegenden unerwünschten Ereignisse, welche auf die Studienmedikation zurückgeführt wurden (**2**).

Auf dem Jahreskongress der „American Society of Hematology“ (ASH) wurden im Dezember 2006 über diese publizierte Studie hinausgehende Auswertungen unter Einbeziehung aller bisher durchgeführten Eculizumab-Studien vorgestellt. Diese zeigen, dass Eculizumab nicht nur effizient die Hämolyse unterdrückt, sondern auch das Risiko für thromboembolische Komplikationen signifikant senkt. Während bei 30 von 103 antikoagulierten Patienten ohne bzw. vor Eculizumab-Behandlung insgesamt 54 thromboembolische Ereignisse auftraten (entspricht einer Häufigkeit von 14 Ereignissen pro 100 Patientenjahre), waren unter Eculizumab-Behandlung keine weiteren Ereignisse zu beobachten (0/100 Patientenjahre;  $p < 0.001$ ) (**33**). Unter Komplement-Inhibitor-Therapie wird daher die Indikation für eine begleitende Antikoagulation neu geprüft werden müssen.

#### Therapie von Infektionen

Die Frage, ob die PNH per se durch funktionelle Beeinträchtigung der Leukozyten wegen des Fehlens der GPI-verankerten Proteine (z. B. CD16 = Fc $\gamma$ -Rezeptor) eine erhöhte Infektionsanfälligkeit bedingt, ist in der Literatur um-

stritten. Wegen der häufig begleitenden hämatopoietischen Insuffizienz ergibt sich jedoch vielfach eine Neutropenie-bedingte Infektionsneigung. Schwere Exazerbationen der PNH mit Hämolyse-Schüben und thromboembolischen Komplikationen werden häufig in zeitlichem Zusammenhang mit Infektionen beobachtet, da diese durch Aktivierung von Komplementfaktoren die pathophysiologischen Abläufe stimulieren. Daher ist bei Verdacht auf bakterielle Infektionen eine frühzeitige und konsequente empirische antibiotische Therapie erforderlich.

### Therapeutische Optionen bei PNH

#### Kurative Therapie:

- Allogene Stammzelltransplantation

#### Symptomatische Therapien:

- Transfusion von Erythrozytenkonzentrat
- Eisen- und Folsäuresubstitution
- Antikoagulation
- Prävention / Behandlung von Infektionen
- Corticosteroide
- Androgene
- Erythropoietin
- Hochdosis-Cyclophosphamid
- Komplementinhibition: Eculizumab

### Jürgen Burkhart

Facharzt für Transfusionsmedizin  
Institut für Transfusionsmedizin München  
Blutspendedienst des BRK

### Dr. med. Detlev Nagl

Institut für Transfusionsmedizin Augsburg  
Blutspendedienst des BRK

In den letzten beiden Ausgaben (6 und 7) dieser Zeitschrift kommentierte Dr. med. Detlev Nagl ausgewählte Abschnitte der Hämotherapie-Richtlinien (Novelle 2005). Behandelt wurden die Ausführungen zur Anwendung von Blutprodukten, zu den blutgruppenserologischen Untersuchungen bei Patienten und zur Qualitätssicherung in der Hämotherapie. Im vorliegenden Beitrag fassen er und sein Kollege Jürgen Burkhart die wichtigsten Änderungen in allen Kapiteln der Richtlinien-Novelle im Vergleich zu den Richtlinien 2000 zusammen.

In a few words our commentators of new German guidelines for transfusion medicine in this journal give a review of the updated and most important aspects of these guidelines. A detailed annotation will you find in former editions of these journal (see issue 6/2006 and 7/2006).

## (Eine Zusammenfassung ohne Anspruch auf Vollständigkeit)



### Qualitätsmanagement /

#### Qualitätssicherung:

- Transfusionsverantwortlicher braucht nur noch eine **zweiwöchige Hospitation**
- **Qualitätsbeauftragter** braucht eine **Weiterbildung (mind. 40 Stunden) – 2 Jahre Übergangsfrist!** Aufgaben des QB sind jetzt genau dargelegt (im Anhang).

#### Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen:

- **Spende unentgeltlich** (nur der unmittelbare Aufwand kann je nach Spendeart entschädigt werden)

- **Zulassung von älteren Spendern** (> 68 Jahren) nach individueller ärztlicher Entscheidung möglich
- Spendedokumentation **30 Jahre** aufzubewahren
- Am **Ende der Thrombozytenspende** muss sichergestellt sein, dass der Spender noch **über 100.000/µl** Thrombozyten hat

#### Herstellung, Lagerung und Transport von Blutprodukten:

- **Restleukozyten** (bei EK und TK) der von der Spezifikation ( $1 \times 10^6$ ) abweichenden Präparate darf  $1 \times 10^7$  nicht überschreiten



- **Thrombozytengengehalt** (bei TK) über  $2 \times 10^{11}$ /Einheit. Bei abweichender Spezifikation darf der untere Grenzwert **nur um 5 % unterschritten** werden
- Gefrorenes Frischplasma: bei **Lagerung unter  $-30\text{ °C}$  (Toleranz  $+3\text{ °C}$ ) Haltbarkeit bis 36 Monate**

### Anwendung von Blutprodukten

- **Aufklärung** des Patienten durch den Arzt zum **frühestmöglichen Zeitpunkt** – ausreichende Bedenkzeit; Aufklärung auch über **Nutzen und Risiko** der Entnahme und Anwendung von Eigenblut
- **Untersuchungsmaterial:** Originalröhrchen **mindestens 10 Tage** gekühlt ( $+4\text{ °C}$  bis  $+8\text{ °C}$ ) aufbewahren. Neben Serum kann auch **EDTA-Plasma** verwendet werden. **Anfordernder Arzt** ist für die Identität der Blutprobe **verantwortlich**.
- **Antikörpersuchtest** ist Bestandteil jeder Blutgruppenbestimmung, gültig 3 Tage (**Tag der Blutentnahme plus 3 Tage!**), **ausdehnbar auf 7 Tage**, wenn keine Transfusion oder Schwangerschaft in den letzten 3 Monaten war; **dasselbe gilt auch für die Kreuzprobe!**
- bei positivem Antikörpersuchtest ist die **Spezifität des Antikörpers vor** der Transfusion zu klären
- Serologische Verträglichkeitsprobe und Bedside-Test für Erythrozyten- und **Granulozytenkonzentrate**
- **Anwärmen** (maximal  **$42\text{ °C}$** ) von Blutprodukten nur bei speziellen Indikationen (Massivtransfusionen, Neugeborene, Kälteantikörper)
- **Erythrozytenkonzentrate AB0-gleich transfundieren**. Nur in **Ausnahmefällen AB0-ungleich** „majorkompatibel“ transfundieren, wobei die **Ausnahmen zu dokumentieren** sind.
- Bei einer **Rh-inkompatiblen** (Rh-pos auf Rh-neg) Transfusion hat der weiterbehandelnde Arzt eine **Untersuchung (AK-Suchtest) nach 2 - 4 Monaten zu veranlassen**.
- **Kinder unter 25 kg** sollten möglichst **keine** Transfusion von **Plasma(minor)-incompatiblen Thrombozyten** (z. B. 0 auf A) erhalten
- Die **Wirkung der Transfusion** sollte durch geeignete Laborparameter (Blutbild) dokumentiert werden.
- In den **ersten vier Lebenswochen eines Kindes** nach dem errechneten Geburtstermin **kann auf**

die **Wiederholung der Kreuzprobe** (bei Verwendung sog. Baby-EK-Präparate) **verzichtet werden**, sofern im Serum der Mutter und des Kindes keine irregulären Antikörper nachweisbar sind und der direkte Antiglobulintest mit den Erythrozyten des Kindes negativ ausfällt.

- Erweiterung der **Indikationen für die Bestrahlung** (z. B. M. Hodgkin)
- Die wichtigsten **transfusionsbedingten Nebenwirkungen** werden aufgelistet und in einer Tabelle ausführlich beschrieben: **Art der NW; Ätiologie, Vorkommen; Risiko je transfundierter Einheit; Maßnahmen und Prophylaxe**

# Die „Biobank der Blutspender“ – eine Initiative des BRK-Blutspendedienstes



**Dr. Silke Martin**

Abteilungsleitung Biobank beim  
Blutspendedienst des BRK

**Dr. Stephan Rapp**

Leiter der Neuen Geschäftsfelder

**Dr. med. Franz Weinauer**

Ärztlicher Direktor und Geschäftsführer

Mit seiner „Biobank der Blutspender“ eröffnet der BRK-Blutspendedienst eine neue Möglichkeit, um die Prävention, Diagnostik und Therapie von Erkrankungen zu verbessern. Blutproben und Daten werden mit dem Einverständnis der teilnehmenden Blutspender für akademische und industrielle Forschungsprojekte nutzbar gemacht, um Krankheiten künftig früher zu erkennen und gezielter behandeln zu können.

The recently established „Blood Donor Biobank„ at the BRK Blood Bank offers a unique resource for biomarker researchers and may open new possibilities for disease prevention, diagnostic and therapy. By using blood samples collected and cold stored under standardised procedures before the onset of a certain disease the prognostic value of known biomarkers could be investigated or new biomarkers developed. With the informed consent of blood donors samples and data can be used for academic and pharmaceutical research projects which focus on biomarker development for an early diagnosis and more effective treatment of diseases.

Der Blutspendedienst des Bayerischen Roten Kreuzes (BSD/BRK) gab im Juni 2006 im Rahmen einer Pressekonferenz den offiziellen Start seiner „**Biobank der Blutspender**“ bekannt.

Der Begriff Biobank umschreibt eine **Sammlung von biologischen Proben und damit verbundenen Daten**. In der **Genom- und Proteomforschung** gewinnen diese zunehmend an Bedeutung, wenn es darum geht, den **Einfluss der Genetik auf die Entstehung von Krankheiten, deren molekularbiologische Grundlage, sowie den Krankheitsverlauf und die klinische Ausprägung** zu verstehen.

Die „Biobank der Blutspender“ wurde vom BSD/BRK nach intensiver Vorbereitungszeit und ersten Pilotstudien mit dem Ziel gegründet, Blutproben und Daten mit dem Einverständnis der betreffenden Blutspender für die medizinische Forschung und Entwicklung zur Verfügung zu stellen.

Mit Hilfe des Zugangs zu großen Sammlungen von biologischen Proben und Daten und kosteneffizienter Hochdurchsatzmethoden eröffnen sich neue Möglichkeiten, um die Prävention, Diagnostik und

Therapie von Erkrankungen zu verbessern. Weltweit werden deshalb große Biobanken mit bis zu 500.000, vereinzelt auch noch mehr Teilnehmern geplant und befinden sich teilweise auch schon im Aufbau (**Tabelle Biobankaktivitäten, siehe Seite 32**). In Deutschland sind mit KORA-gen und POPGEN bisher nur zwei deutlich kleinere Biobanken etabliert.

Der BSD/BRK verfügt schon heute über mehr als **3 Millionen Blutproben**, die unter standardisierten Bedingungen gewonnen wurden und in einem vollautomatisierten Kältelager bei -40 °C lagern (**siehe Abbildungen**). Es handelt sich dabei um Plasmaproben, die im Zuge jeder Blutspende für eventuelle Nachuntersuchungen entnommen und für eine gesetzlich vorgeschriebene Zeit aufbewahrt werden.

Mit der neu gegründeten „Biobank der Blutspender“ soll nun ein kleiner Teil dieser Proben für Forschungszwecke verwendet werden. Plasmaproben, Labordaten und demographische Daten der teilnehmenden Blutspender werden hierzu in **pseudonymisierter** Form, d. h. ohne Nennung eines Namens, in einer separaten Datenbank verwaltet.



Nicht nur die Anzahl der bereits vorhanden Proben und die bestehende Infrastruktur, die in neu zu etablierenden Biobanken erst unter sehr großem finanziellen und zeitlichen Aufwand aufgebaut werden muss, unterscheidet die „Biobank der Blutspender“ von anderen Biobankaktivitäten. Ein wesentlicher Unterschied liegt auch in der Art der Proben: Während die meisten Biobanken lediglich eine, höchstens einige Blutproben von einem Biobankteilnehmer entnehmen und lagern, verfügt die „Biobank der Blutspender“ meist über **mehrere Blutproben eines Spenders, die innerhalb weniger Monate entnommen wurden**. Denn die Spender beim BSD zeichnen sich durch eine hohe Spenderteure aus: sie spenden im Durchschnitt 2,2 mal im Jahr.

Derartige **longitudinale** Probenreihen eignen sich besonders für die Biomarkerforschung, d. h. die

Erforschung von Merkmalen, die mit einer bestimmten Veränderung im Organismus assoziiert sind. Im Gegensatz zur klassischen Biomarkerforschung, bei der klinisches Probenmaterial mit gesunden Kontrollen verglichen wird, ermöglicht die Probensammlung beim BSD einen **intraindividuellen Forschungsansatz**, der die Unterschiede zwischen einzelnen Proben über einen zeitlichen Verlauf verfolgen kann.

Wissenschaftler haben somit die einzigartige Möglichkeit, zu testen, ob und wie lange vor dem Auftreten krankheitsspezifischer Symptome Veränderungen im Blut nachzuweisen sind.

Gelänge es, durch einen einfachen Bluttest über krankheitsassoziierte Biomarker schon Monate, vielleicht sogar auch Jahre vor dem Ausbruch einen Hinweis auf die Erkrankung zu erhalten, könnten auftretende Beschwerden

schneller einem Krankheitsbild zugeordnet werden. Somit könnte auch die Therapie zu einem früheren Zeitpunkt beginnen. Idealerweise ließe sich der Ausbruch der Erkrankung auch verhindern.

Durch immer weiterentwickelte Analysemethoden, die aus wenig Probenmaterial eine Fülle von Informationen generieren, könnten zusätzlich auch bisher noch nicht erkannte Biomarker gefunden werden.

Zwischen der Idee, die bereits vorhandenen Blutproben für die medizinische Forschung und Entwicklung verfügbar zu machen, und dem offiziellen Start der „Biobank der Blutspender“ liefen zahlreiche Aktivitäten, um das Vorhaben zu überprüfen.

Zunächst wurde zusammen mit dem Epidemiologischen Institut der GSF unter der Leitung von Professor Dr. Dr. Wichmann un-

tersucht, ob die Blutspender mit der Allgemeinbevölkerung vergleichbar sind. Das hierzu benötigte Vergleichskollektiv wurde aus der sogenannten KORA-gen Studie gewonnen. Das Ergebnis zeigte, dass Blutspender als repräsentativ für die bayerische Bevölkerung angesehen werden können. Soziodemographisch sind keine Unterschiede zur ländlichen Bevölkerung Bayerns ersichtlich. Auch Krebserkrankungen und Diabetes treten in beiden Populationen vergleichbar häufig auf. Die Inzidenz für Herzinfarkt dagegen scheint bei Blutspendern niedriger zu sein (Publikation in Arbeit).

Im nächsten Schritt wurde die Akzeptanz der Blutspender, ihre Proben für Forschungsprojekte zur Verfügung zu stellen, und die Qualität der Proben für die erforderlichen Analysen überprüft: Im Auftrag eines internationalen Pharmaunternehmens wurde ein **Biomarker** für Herzerkrankungen und in einer vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geförderten Kooperation mit dem Max-Planck-Institut für Biochemie ein Biomarker für Dickdarmkrebs untersucht. Hierzu wurde nach Blutspendern gesucht, die regelmäßig Blut gespendet hatten und aufgrund einer Herzerkrankung bzw. Dickdarmkrebs nun

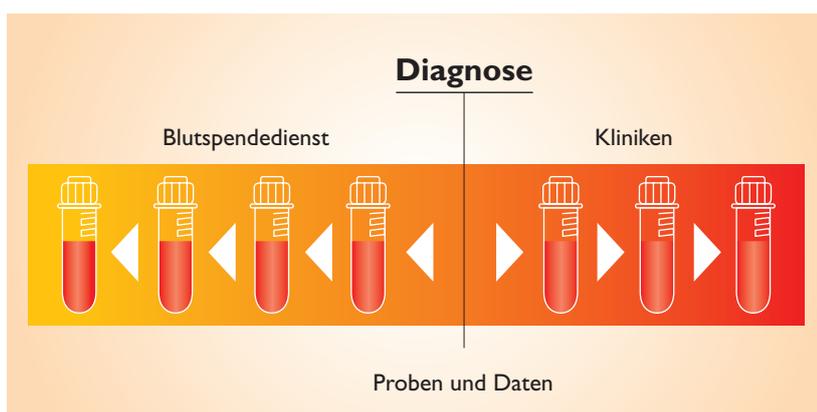
kein Blut mehr spenden dürfen. Sehr viele betroffene Blutspender kamen einem Aufruf zur Studienteilnahme nach.

Abschließend wurden die **ethischen rechtlichen Aspekte** und die Fragen des Datenschutzes intensiv geprüft. Für das Biobank-Vorhaben wurde hierzu ein Rechtsgutachten eingeholt und zusammen mit dem Bayerischen Landesdatenschutzbeauftragten ein Datenschutzkonzept entwickelt. Auch die zuständige Ethikkommission prüfte das geplante neue Tätigkeitsfeld des Blutspendedienstes.

Zu Beginn sollen nun **10.000 Blutspender** (5.000 ehemalige Spender, die aufgrund einer Erkrankung nicht mehr Blut spenden dürfen und 5.000 gesunde aktive Spender zur Kontrolle) in die „Biobank der Blutspender“ eingeschlossen werden. Je nach Bedarf und Interesse kann die Biobank

danach auch weiter ausgebaut werden. Beim BSD / BRK spenden pro Jahr 250.000 Menschen regelmäßig Blut; in Bayern allein könnte somit eine Biobank etabliert werden, die zu den weltweit größten zählt. Vorerst gilt es jedoch, die Blutspender, die Bevölkerung und auch die Allgemein- und Fachärzte in Bayern für das Projekt zu gewinnen. Auf ihre Unterstützung ist der BSD / BRK angewiesen.

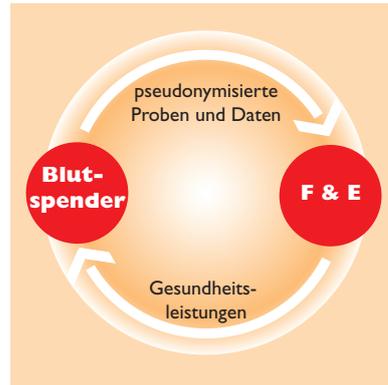
Die Stärken des BSD / BRK liegen in der über Jahrzehnte hinweg optimierten Infrastruktur und der standardisierten Probenverarbeitung und Lagerung. Damit auch Umfang und Qualität der medizinischen Daten in der „Biobank der Blutspender“ mit denen anderer Biobanken vergleichbar sind, benötigt der BSD / BRK die Mitarbeit der Ärzte. Mit der Teilnahme an der Biobank erklärt der Blutspender auch sein Einverständnis





nis, seinen behandelnden Arzt zu kontaktieren und erforderliche medizinische Daten erheben zu lassen. Die so erhobenen Daten werden zusammen mit den entsprechenden Probanddaten pseudonymisiert in der Biobank-Datenbank verwaltet. Nur wenige ausgewählte Mitarbeiter des BSD haben Einblick in die Datenbank. An Forscher werden ausschließlich Daten in zweifach pseudony- mierter Form weitergegeben.

Damit auch die Blutspender einen Nutzen aus der „Biobank der Blutspender“ erfahren, verfolgt der BSD ein besonderes Konzept: erzielte Überschüsse aus dem



Biobank-Projekt sollen der Gemeinschaft der Blutspender in Form von Gesundheitsleistungen zurückgegeben werden.

Auch dies wurde bereits anhand eines Pilotprojektes überprüft, in dem in zwei Aktionswochen allen Blutspendern die Testung ihres Diabetesrisikos angeboten wurde. Bei den teilnehmenden 8.500 Spendern bestimmte der Blutspende-

dienst den HbA1c-Wert, der eine Aussage über den Blutzuckerspiegel der vergangenen drei Monate erlaubt. Mit Hilfe eines Fragebo- gens wurde zusätzlich das persön- liche Diabetesrisiko ausgewertet.

Mit der Biobank leistet der BSD / BRK einen wichtigen Beitrag in der Gesundheitsvorsorge heute und vor allem in der Zukunft. Durch das Konzept, Proben und Daten für die medizinische Forschung und Gesundheitsleistung für die Blutspender bereitzustellen, unter- streicht der BSD einmal mehr seine Rolle als aktiver Partner im Gesundheitswesen.

## Beispiele laufender und geplanter Biobanken

(Quelle: „P3G Observatory Study Catalog“, [www.p3gconsortium.org](http://www.p3gconsortium.org))

Name	Target Number of Participants	Current Number of Participants	Current Number of Collected DNA Samples	Country of Residence	Website(s)
Decode (Icelandic Biobank)	280.000	80.000	80.000	Iceland	<a href="http://www.decode.com">www.decode.com</a>
POPGEN	25.000	k.A.	k.A.	Germany	<a href="http://www.popgen.de">www.popgen.de</a>
UK biobank	500.000	3.000 *	k.A.	United Kingdom	<a href="http://www.ukbiobank.ac.uk">www.ukbiobank.ac.uk</a>
Estonian Genome Project	100.000	10.317	10.317	Estonia	<a href="http://www.geenivaramu.ee">www.geenivaramu.ee</a>
KORA-gen	18.000	18.000	18.000	Germany	<a href="http://www.gsf.de/kora-gen/">www.gsf.de/kora-gen/</a>
Atherosclerosis Risk in Communities Studies (ARIC)	15.792	15.792	15.264	United States	<a href="http://www.csc.unc.edu/aric/">www.csc.unc.edu/aric/</a>

**Beispiele laufender und geplanter Biobanken**(Quelle: „P3G Observatory Study Catalog“, [www.p3gconsortium.org](http://www.p3gconsortium.org))

Name	Target Number of Participants	Current Number of Participants	Current Number of Collected DNA Samples	Country of Residence	Website(s)
CARTaGENE	50.000	0	k.A.	Canada	<a href="http://www.cartagene.qc.ca/">www.cartagene.qc.ca/</a>
LifeGene	500.000	0	k.A.	Sweden	<a href="http://jrb.typepad.com/personalgenome/2005/03/swedish_lifegen.html">http://jrb.typepad.com/personalgenome/2005/03/swedish_lifegen.html</a>
MORGAM	143.000	143.000	69.000	Australia; Finland; France; Italy; Lithuania; Poland; Russia; Sweden; United Kingdom	<a href="http://www.ktl.fi/morgam/">www.ktl.fi/morgam/</a>
National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)	15.128	15.128	15.128	United States	<a href="http://www.cdc.gov/nchs/nhanes.htm">www.cdc.gov/nchs/nhanes.htm</a>
Singapore Consortium of Cohort Studies	250.000	3.000	k.A.	Singapore	<a href="http://www.biomed-singapore.com/bms/sg/en_uk/index/research_resources/research_highlights/year_2006/bms_iac_-_singapore.html">www.biomed-singapore.com/bms/sg/en_uk/index/research_resources/research_highlights/year_2006/bms_iac_-_singapore.html</a>
The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)	520.000	520.000	420.000	Denmark; France; Greece; Germany; Italy; Netherlands; Norway; Spain; Sweden; United Kingdom	<a href="http://www.iarc.fr/epic">www.iarc.fr/epic</a>
The Western Australian Genome Health Project (WAGHP)	2.000.000	0	k.A.	Australia	<a href="http://www.genepi.com.au/waghp">www.genepi.com.au/waghp</a>
Münster Heart Study (PROCAM)	23.616	23.616	k.A.	Germany	<a href="http://www.chd-taskforce.com/index_d.htm">www.chd-taskforce.com/index_d.htm</a>
Nurses' Health Study II	116.686	116.686	30.000	United States	<a href="http://www.channing.harvard.edu/nhs/history/index.shtml">www.channing.harvard.edu/nhs/history/index.shtml</a>

\* Quelle: Artikel „Britten starten Biodatenbank“ Handelsblatt vom 28.03.06



## Forschungspreis für neue Erkenntnisse zu Krebstherapien mit Immunzellen

**Universität Frankfurt würdigt Privatdozent Dr. Torsten Tonn für seine Verdienste auf dem Gebiet der Krebsforschung mit dem diesjährigen Fritz-Acker-Preis**

Mit dem Fritz-Acker-Preis wurde PD Dr. Torsten Tonn, Oberarzt am Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie Frankfurt am Main (Ärztlicher Direktor: Professor Dr. med. Erhard Seifried), für seine Untersuchungen zur Verwendung Natürlicher Killerzellen zur Behandlung maligner Erkrankungen ausgezeichnet. Natürliche Killerzellen (NK-Zellen) stellen bei Gesunden die erste Welle der körpereigenen Immunabwehr gegen Krebszellen dar. Oftmals liegt jedoch eine Beeinträchtigung dieser wichtigen Komponente der Immunabwehr vor und Krebszellen können in den Patienten ungehindert wachsen und sich ausbreiten. Den Fritz-Acker-Preis nahm der Preisträger am 15. November 2006 im Institut für Transfusionsmedizin in Frankfurt am Main im Rahmen einer Feierstunde von Professor Dr. Wilhelm Schöppe, Kuratoriumsmitglied der gleichnamigen Stiftung und ehemaliger

geschäftsführender Direktor des Zentrums der Inneren Medizin sowie ehemaliger Leiter der Abteilung für Nephrologie im Frankfurter Universitätsklinikum, entgegen.

Tonn hat gemeinsam mit einem Team von Ärzten des Frankfurter Universitätsklinikums ein neues Therapiekonzept zur Behandlung von Krebs entwickelt und klinisch erprobt. Hierbei verwendet Tonn eine Natürliche Killerzell-Linie (NK-92), die sich in Kultur vermehren lässt und unabhängig vom Gewebetyp der Patienten zur Unterstützung des körpereigenen Immunsystems transfundiert werden kann. Die den Patienten verabreichten Natürlichen Killerzellen sind eine biologische Art der Tumorbekämpfung und unterstützen so das patienteneigene Immunsystem.



**PD Dr. med. Torsten Tonn**  
*Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie  
Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität  
DRK-Blutspendedienst  
Baden-Württemberg – Hessen gGmbH  
Sandhofstraße 1  
D-60528 Frankfurt  
ttonn@bsdhessen.de*

Krebstherapien mit Immunzellen haben in jüngster Zeit ihre Schlagkraft gegen einige Tumore unter Beweis stellen können. Bisher müssen sie jedoch mit hohem Aufwand individuell für jeden Patienten entwickelt werden. Dies ist bei der von Tonn und seinen Kollegen verwendeten NK-92-Zelle nicht der Fall. „Unsere Untersuchungen zeigen, dass NK-92-Zellen auch unabhängig vom Gewebetyp therapeutisch eingesetzt werden können und die Therapie dabei nicht mit schwerwiegenden Nebenwirkungen behaftet ist“, äußert sich Tonn.

Das eröffnet völlig neue Möglichkeiten für die Zelltherapie bösartiger Erkrankungen.

Obwohl die Studie nicht darauf ausgelegt war, eine Wirkung der NK-Zelltherapie nachzuweisen, sondern die Verträglichkeit im Vordergrund stand, ergaben sich erste Hinweise, dass die zelluläre Immuntherapie bei Patienten mit Lungenkrebs Vorteile verschaffen könnte. „Wir wissen inzwischen, dass die Natürlichen Killerzellen nach der Transfusion über die Armvene zunächst in die Lunge wandern. Es

ist anzunehmen dass die Zellen dort auch aktiv sind und Krebszellen ausschalten können“, so Tonn. Dies soll nun in einer weiteren klinischen Studie am Universitätsklinikum in Frankfurt untersucht werden.

Der Fritz-Acker-Preis ist mit 5.000 Euro dotiert und wird jährlich von der Fritz-Acker-Stiftung an Wissenschaftler verliehen, die sich auf dem Fachgebiet der Krebsforschung oder der Herzleiden besonders verdient gemacht haben. Die Redaktion der hämotherapie

gratuliert Herrn PD Dr. med. Torsten Tonn, der als Autor und Co-Autor vieler Artikel zum breitgefächerten Angebot der Zeitschrift entscheidend beigetragen hat, ganz herzlich zur Verleihung dieses renommierten Preises. Wir freuen uns, dass Dr. Tonn auch in Zukunft durch seine Mitarbeit den hohen Standard der hämotherapie bereichern wird.

Lesen Sie auch in Ausgabe 9:  
**Stammzellen nach Myokardinfarkt – was ist gesichert?**  
 PD Dr. med. Torsten Tonn et.al.

## Alfred Nobel und die Preisträger

**Alfred Nobel (1833 – 1896) verfasste dreizehn Monate vor seinem Tod das Testament, in dem er sein Vermögen zur Grundlage von jährlich zu vergebenden Preisen für hervorragende Wissenschaftler machte. Die Testamentseröffnung löste heftige Reaktionen aus, die Familie opponierte, so dass die ersten Preise erst 1901, fünf Jahre nach dem Tod Nobels, vergeben werden konnten.**

**Zwar wurde schon 1903 mit Marie Curie erstmals einer Frau der Nobelpreis zuerkannt, doch insgesamt blieb die Verleihung bis heute eine Männerdomäne. Bisher wurde der Nobelpreis 781-mal vergeben. 18 Preise gingen an eine Organisation und 763-mal an Persönlichkeiten. Davon waren aber lediglich 33 Frauen. Die deutsche Biologin Christiane Nüsslein-Volhard erhielt den Preis 1995.**

### Der Jüngste

*William Lawrence Bragg, Physik 1915*

Im März 1890 geboren, war Lawrence Bragg erst 25 Jahre alt, als er den Preis gemeinsam mit seinem Vater erhielt. Damit ist er bis heute der Jüngste aller Preisträger.



### Der Älteste

*Raymond Davis Jr., Physik 2002*

Geboren in Washington D.C., war Raymond Davis (1914 – 2006) 88 Jahre alt, als er den Nobelpreis „für seine Pionierarbeiten zur Astrophysik, insbesondere für die Entdeckung der kosmischen Neutrinos“ bekam. Er hält den Altersrekord unter den Nobelpreisträgern.

### Der Zweifache

*Linus Pauling, Chemie 1954, Frieden 1962*

Linus Carl Pauling (1901 – 1994) gehört zu den ganz wenigen Menschen, die zwei Nobelpreise erhalten (Marie Curie bekam ebenfalls zwei). Den Preis für Chemie verlieh ihm das Nobelkomitee für die Aufklärung der chemischen Bindung in Molekülen.

### Der Dreifache

*Rotes Kreuz, Frieden 1917, 1944, 1963*



Mit der dreimaligen Verleihung des Nobelpreises ist das internationale Rote Kreuz Spitzenreiter: Weder eine Persönlichkeit noch eine andere Institution hat den Preis so häufig erhalten. Einige Historiker vertreten die Meinung, das Rote Kreuz habe die Auszeichnung sogar vier Mal erhalten, da ihr Gründer Henry Dunant 1901 der erste Friedensnobelpreisträger der Geschichte wurde.

### Der Familiäre

*Pierre und Marie Curie, Physik 1903*

Marie (1867 – 1934) und Pierre (1859 – 1906) erhielten den Nobelpreis als Ehepaar. Die beiden, jeder bekam ein Viertel des Preises, teilten sich die Auszeichnung mit Henri Becquerel, dem die Hälfte des Preises zugesprochen wurde.

### Der Verweigerer

*Jean-Paul Sartre, Literatur 1964*

Konsequent bis zum Letzten, verabscheute der französische Schriftsteller und Philosoph alle öffentlichen Ehrungen und lehnte 1964 den Nobelpreis für Literatur ab.

### Der Verspätete

*Adolf Butenandt, Chemie 1939*

Adolf Friedrich Johann Butenandt (1903 – 1995) gilt als einer der bedeutendsten Biochemiker des 20. Jahrhunderts. Als er 1939 den Nobelpreis bekam, war er bereits Direktor des Kaiser-Wilhelm-Institutes für Biochemie in Berlin. Die Nationalsozialisten verboten ihm, den Preis anzunehmen. Die Verleihung erfolgte verspätet im Jahr 1947.

## Antworten auf Fragen aus der Leserschaft

Herr Dr. S. aus M. schreibt uns (zu dem Beitrag von Dr. Detlev Nagl über die Novelle 2005 der Richtlinien der BÄK zur Hämotherapie, in: hämotherapie, 6 / 2006, Seiten 20 - 25):

„Sehr geehrter Herr Kollege Nagl, mit großem Interesse lese ich immer Ihre Beiträge zu den Hämotherapie-Richtlinien. In der hämotherapie 6 / 2006 folgen Sie den Angaben von Kretschmer zur ABO-Kompatibilität von Thrombozytenkonzentraten, also: Transfusion ABO-gleich oder -minorkompatibel. Diese Aussagen widersprechen den aktuellen Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasma-derivaten der Bundesärztekammer 2003. Dort ist unter 2.5.3.1 die majorkompatible Thrombozytentransfusion empfohlen.

**Also bleibt der Begriff „AB0-kompatibel“ bei der Thrombozytentransfusion wohl weiterhin unklar?“**

Es antwortet (da direkt angesprochen) Dr. med. Detlev Nagl vom Institut für Transfusionsmedizin Augsburg des BRK-Blutspendedienstes:

„Lieber Kollege S.,

**eigentlich nicht!**

Allerdings sind auch in der neuen Version der Hämtherapie-Richtlinien der BÄK (RiLi) die Ausführungen zur ABO-Kompatibilität bei der Thrombozytentransfusion wieder sehr knapp und zugegebenermaßen der Anmerkung bzw. Ergänzung bedürftig ausgefallen:

„Thrombozytenkonzentrate sind in der Regel ABO-kompatibel zu übertragen“.

Die von Ihnen angesprochenen Leitlinien (LeiLi) formulieren dagegen wesentlich präziser:

„Liegt beim Patienten kein Hinweis auf eine Alloimmunisierung durch vorausgegangene Schwangerschaften, Transfusionen oder Transplantationen vor und besteht kein Hinweis auf ein Nicht-Ansprechen nach vorausgegangenen Thrombozytentransfusionen (Refraktärzustand), so genügt es, Thrombozytenkonzentrate (TK) **aufgrund ihrer Kompatibilität im ABO-Blutgruppensystem entsprechend den Regeln für die Erythrozytentransfusion auszuwählen.**“

D. h. bei diesen Patienten wäre es hinreichend, bei der Auswahl der Thrombozytenkonzentrate auf eine ABO-Majorkompatibilität ana-

log zur Erythrozytentransfusion zu achten (*kleiner Hinweis auf ein „erratum“: die LeiLi verweisen hier auf Tabelle 4, die „Regeln für die Erythrozytentransfusion“ finden sich aber in Tabelle 3 der LeiLi*):

Patient/Blutgruppe	Kompatible EK/TK
A	A oder 0
B	B oder 0
AB	AB, A, B oder 0
0	0

Diese Analogie findet aber ihre Grenzen – und zwar durch die Zusammensetzung der jeweiligen Präparate. Erythrozytenkonzentrate werden heutzutage standardmäßig praktisch plasmafrei hergestellt und angeboten. D. h. nach Zentrifugation des Ausgangsprodukts – der von einem Spender gewonnenen „Vollblutkonserve“ –



wird der Plasmaüberstand von dem Erythrozytensediment separiert und durch eine additive Nährlösung ersetzt. So entsteht ein Konzentrat von Erythrozyten, die le-

diglich von der Additivlösung (die nur noch vernachlässigenswert mit Plasmaresten kontaminiert ist) umgeben sind. Unter transfusionsmedizinischen Aspekten haben wir es also mit dem „reinen Stoff“ zu tun, den Erythrozyten, deren Antigene wir bei allen Überlegungen hinsichtlich einer blutgruppenkompatiblen Transfusion berücksichtigen müssen.

Bei Thrombozytenkonzentraten hingegen schwimmen die transfusionsmedizinisch relevanten Blutbestandteile, eben die Blutplättchen, in einer beträchtlichen Menge (bis zu 250 ml) des Spenderplasmas, das dem Patienten quasi als unerwünschte Beimengung mittransfundiert wird.

Insofern sind bei der Thrombozytentransfusion also **sowohl die transfundierten Zellen, die Thrombozyten, wie auch das umgebende Plasma zu berücksichtigen.**



Thrombozyten besitzen ABH-Antigene, die es bedenkenswert machen, eine der obigen Tabelle entsprechende AB0-Kompatibilität bei der Transfusion zu beachten. Allerdings sind diese Antigene relativ schwach ausgeprägt, so dass eine diesbezügliche majorinkompatible Transfusion zwar zu einem etwas rascheren Abbau der transfundierten Thrombozyten führt, der aber klinisch eher unwesentlich ist.

Bei erwachsenen, normalgewichtigen Patienten kann man daher im Regelfall getrost folgendermaßen vorgehen:

Wenn verfügbar (was wegen der kurzen Haltbarkeit der Präparate leider oft nicht der Fall ist), AB0-gleich transfundieren – das ist für den Arzt und für den Patienten (oder seine Angehörigen) am wenigsten verwirrend. Wenn nicht verfügbar, majorkompatible TK auswählen (*siehe Tabelle*). Wenn die auch nicht verfügbar sind, gilt –

da es sich meist um vitale Indikationen handelt – die Devise: Hauptsache Thrombozyten, egal welche Blutgruppe!

Anders sieht es aus bei Kindern mit einem Körpergewicht unter 25 kg. Bei diesen kann eine zwar majorkompatible, aber minor(= Plasma)-inkompatible TK-Transfusion aufgrund der doch beträchtlichen Menge an transfundiertem Plasma mit Isoagglutininen (oder sogar Isohämolysinen) Probleme in Form einer verzögerten oder akuten Hämolyse bereiten. Daher stellen die RiLi und die LeiLi **übereinstimmend (!)** fest, dass „bei Kindern mit einem Körpergewicht unter 25 kg eine Transfusion von Plasma (minor)-inkompatiblen Thrombozyten (**genauer: Thrombozytenkonzentraten; Anm. d. Verf.**) wie z. B. 0 -> A vermieden werden sollte.“

Dr. med. Detlev Nagl

Institut für Transfusionsmedizin Augsburg

Blutspendedienst des  
Bayerischen Roten Kreuzes

Westheimer Straße 80

D-86156 Augsburg

d.nagl@blutspendedienst.com

## Fortbildungsveranstaltungen des DRK-Blutspendedienstes West

### Zentrum für Transfusionsmedizin Hagen

#### Transfusionsmedizinisches Seminar

Kooperation des Zentrums für Experimentelle Hämatologie und Transfusionsmedizin, Universitätsklinikum Bonn und des DRK-Blutspendedienst West

**Ziel:**  
Erlangung der Qualifikation gemäß Hämotherapie-Richtlinien

**Zielgruppe/ Teilnehmerkreis:**  
Transfusionsverantwortliche und Transfusionsbeauftragte

**Ort:**  
Jugendherberge Bonn-Venusberg Saal „Bayern“  
Haager Weg 42  
53127 Bonn

**Termine:**  
Kursteil A  
25. Januar 2007  
9.00 – ca. 17.30 Uhr

Kursteil B  
26. Januar 2007  
9.00 – 17.00 Uhr

#### Transfusionsmedizinisches Seminar

**Ziel:**  
Erlangung der Qualifikation gemäß Hämotherapie-Richtlinien

**Zielgruppe/Teilnehmerkreis:**  
Transfusionsverantwortliche und Transfusionsbeauftragte

**Ort:**  
Zentrum für Transfusionsmedizin  
Hagen  
Feithstraße 184  
58097 Hagen

**Termine:**  
Kursteil A  
16. August 2007  
9.00 – 17.00 Uhr

Kursteil B  
17. August 2007  
9.00 – 17.00 Uhr

### Zentrum für Transfusionsmedizin Münster

#### Transfusionsmedizinisches Seminar

**Ziel:**  
Erlangung der Qualifikation gemäß Hämotherapie-Richtlinien

**Zielgruppe/ Teilnehmerkreis:**  
Transfusionsverantwortliche und Transfusionsbeauftragte

**Ort:**  
Zentrum für Transfusionsmedizin  
Münster  
Sperlichstraße 15  
48151 Münster

**Termine:**  
Kursteil A  
29. November 2007  
9.00 – 17.00 Uhr

Kursteil B  
30. November 2007  
9.00 – 17.00 Uhr

### Zentrum für Transfusionsmedizin Ostwestfalen-Lippe

#### Transfusionsmedizinisches Seminar

**Ziel:**  
Erlangung der Qualifikation gemäß Hämotherapie-Richtlinien

**Zielgruppe/ Teilnehmerkreis:**  
Transfusionsverantwortliche und Transfusionsbeauftragte

**Ort:**  
Zentrum für Transfusionsmedizin  
Ostwestfalen-Lippe  
Heldmanstraße 45  
32108 Bad Salzuflen

**Termine:**  
Kursteil A  
10. Mai 2007  
9.00 – 17.00 Uhr

Kursteil B  
11. Mai 2007  
9.00 – 17.00 Uhr

### Zentrum für Transfusionsmedizin Breitscheid

#### Transfusionsmedizinisches Seminar

**Ziel:**  
Erlangung der Qualifikation gemäß Hämotherapie-Richtlinien

**Zielgruppe/ Teilnehmerkreis:**  
Transfusionsverantwortliche und Transfusionsbeauftragte

**Ort:**  
wird mit der Einladung bekanntgegeben

**Termine:**

Kursteil A  
03. Mai 2007  
9.00 – 17.00 Uhr

Kursteil B  
04. Mai 2007  
9.00 – 17.00 Uhr

**Zentrum für  
Transfusionsmedizin  
Bad Kreuznach****Transfusionsmedizinisches  
Seminar****Ziele:**

Erlangung der Qualifikation gemäß  
Hämotherapie-Richtlinien

**Zielgruppe/Teilnehmerkreis:**

Transfusionsverantwortliche und  
transfusionsbeauftragte Ärzte aus  
Klinik und Praxis, med. Mitarbeiter

**Ort:**

Haus des Gastes / Crucenia-Gesund-  
heitszentrum  
Seminarraum I (EG)  
Kurhausstraße 22 – 24 (Kurveiertel)  
55543 Bad Kreuznach

**Termine:**

Kursteil A  
01. Februar 2007  
9:00 – 17:00 Uhr

Kursteil B  
02. Februar 2007  
9:00 – 17:00 Uhr

**Transfusionsmedizinisches  
Seminar****Ziele:**

Erlangung der Qualifikation gemäß  
Hämotherapie-Richtlinien

**Zielgruppe/Teilnehmerkreis:**

Transfusionsverantwortliche und  
transfusionsbeauftragte Ärzte aus  
Klinik und Praxis, med. Mitarbeiter

**Ort:**

Haus des Gastes / Crucenia-Gesund-  
heitszentrum  
Seminarraum I (EG)  
Kurhausstraße 22 – 24 (Kurveiertel)  
55543 Bad Kreuznach

**Termin:**

Kursteil A  
13. September 2007  
9:00 – 17:00 Uhr

Kursteil B  
14. September 2007  
9:00 – 17:00 Uhr

**Qualitätsbeauftragter  
Ärztekammer  
Westfalen-Lippe in  
Zusammenarbeit mit den  
Zentren Hagen, Münster  
und Ostwestfalen-Lippe  
des DRK-Blutspende-  
dienstes West****Ort:**

Heimvolkshochschule  
„Gottfried Könzgen“ KAB/CAJ e.V.  
Arbeitnehmerbildungsstätte und  
Familienpädagogisches Institut der KAB  
Westdeutschlands  
Annaberg 40  
45721 Haltern

**Termine:**

26. Februar - 02. März 2007  
09:00 – 16:00 Uhr

**Termine:**

13. – 17. August 2007  
09:00 – 16:00 Uhr

**Nähere Informationen zu  
den Fortbildungsveranstaltungen  
des DRK-Blutspendedienstes  
West erhalten Sie bei**

Frau Marlies Spirtz  
Fachreferentin für Transfusionsmedizin  
Telefon 01 51 / 16 72 51 96  
m.spirtz@bsdwest.de

oder unter

[www.blutspendedienst-west.de](http://www.blutspendedienst-west.de)

**Fortbildungsver-  
anstaltungen des  
DRK-Blutspende-  
dienstes NSTOB****„Qualitätsbeauftragter  
Hämotherapie“  
(40 Stunden-Kurs)****Ort:**

Weiterbildungszentrum Städt. Klinikum  
Braunschweig  
Naumburgstraße 36  
38124 Braunschweig

**Termine:**

19. - 23. Januar 2007  
täglich von 9.00 – 17.30 Uhr

**Anmeldungen/Auskunft unter**

Telefon 0 50 41-77 22 26  
Frau Geffert  
oder auch per E-mail  
geffert@bsd-nstob.de



## Curriculum Transfusionsmedizin

(16 Stunden-Kurs)

### Ort:

Ärztchamber Bremen

### Termin:

02. - 03. März 2007

### ! Anmeldungen/Auskunft unter

Telefon 04 21 - 4 39 49 13

Frau Dr. Zimmermann

oder auch per E-mail

zimmermann@bsd-nstob.de

## Fortbildungsver- anstaltungen des Blutspendedienstes des BRK

### „Qualitätsbeauftragter Hämotherapie“ des Arbeitskreises Qualitäts- management Hämothera- pie Augsburg

### Ziel:

Qualifikation „Qualitätsbeauftragter  
Hämotherapie“ gemäß Hämotherapie-  
Richtlinien

### Ort:

Klinikum Augsburg  
Stenglinstraße 2

und

Institut für Transfusionsmedizin  
des BRK-Blutspendedienstes  
Westheimer Straße 80  
86156 Augsburg

### Termin:

11. – 15. Juni 2007

### ! Nähere Informationen erhalten

#### Sie beim

Arbeitskreis QM Hämotherapie  
Augsburg

Telefon 08 21 - 48 00 20  
(Dr. med. Detlev Nagl)

Telefon 08 21 - 4 00 27 52  
(Dr. med. Werner Behr)

Telefax 08 21 - 4 80 02 36

ak.qm.haemotherapie@arcor.de

### Immunhämatologische Wochenendseminare des dvta für MTA und Ärzte

#### Ort:

Institut für Transfusionsmedizin  
Augsburg des BRK-Blutspendedienstes  
Westheimer Str. 80  
86156 Augsburg

#### Termine:

10./11. November 2007  
Basis der Blutgruppenkunde und  
Blutgruppenserologie

17./18. November 2007  
Kreuzprobe - Antikörpersuchtest -  
Antikörperidentifizierung

01./02. Dezember 2007  
Spezialtechniken zur Antikörper-  
identifizierung

### ! Nähere Informationen erhalten

#### Sie beim

dvta (Deutscher Verband Technischer  
Assistentinnen und Assistenten in der  
Medizin e. V.)  
Spaldingstraße 110 B  
20097 Hamburg  
Telefon 0 40-23 51 17-16  
Telefax 0 40-23 33 73  
seminarverwaltung@dvta.de

## Fachqualifikation Immun- hämatologie/Transfusions- medizin des DIW/MTA

Module P 03 - P 06:

HLA-System, Immunhämatologie, Quali-  
tätssicherung, Evaluierung von Metho-  
den und Geräten

Module P 07 - P 10:

Blutspendewesen, Transfusionsmedizin,  
Infektionserologie, Stammzellentrans-  
plantation

#### Ort:

Institut für Transfusionsmedizin  
Augsburg des BRK-Blutspendedienstes  
Westheimer Straße 80  
86156 Augsburg

#### Termine:

25. Juni - 06. Juli 2007  
Module P 03 - P 06

03. Dezember - 14. Dezember 2007  
Module P 07 - P 10

### ! Nähere Informationen erhalten

#### Sie beim

DIW/MTA Deutsches Institut zur  
Weiterbildung  
Technischer Assistentinnen und  
Assistenten in der Medizin e.V.  
Sophie-Charlotte-Str. 27 A  
14169 Berlin  
Telefon 0 30-8 13 74 25  
Telefax 0 30-8 13 24 27  
info@diw-mta.de



Seite 4

› **Herr PD Dr. med. Joannis Mytilineos** (Jahrgang 1962) beendete sein Medizinstudium an der Universität Heidelberg im Jahr 1986. Er promovierte im dortigen Institut für Immunologie im Jahr 1987 und arbeitete bis 01/2004 als Leiter des HLA-Labors, sowie des immungenetischen Forschungslabors im gleichen Institut. Nach seiner Habilitation wechselte er im Februar 2004 zum IKT Ulm, wo er die Abteilung Transplantationsimmunologie leitet. PD Dr. Mytilineos war maßgeblich bei der Entwicklung und Etablierung molekularbiologischer Verfahren in der HLA-Diagnostik beteiligt und konnte in diversen wissenschaftlichen Publikationen deren funktionelle Relevanz im Gebiet der Organtransplantation zeigen. Des Weiteren beschäftigt er sich mit der Erforschung des Einflusses von Zytokingenpolymorphismen in der Transplantation. Er leitet die IHWC (International Histocompatibility Workshop and Conference)-Arbeitsgruppe „Cytokine Gene Polymorphisms“. Qualitätssicherung in der immungenetischen Diagnostik ist ein weiterer Arbeitsschwerpunkt von PD Dr. Mytilineos, wofür er als EFI Commissioner für Deutschland seit 2003 aktiv beitragen kann. ◀

*Institut für Klinische Transfusionsmedizin und Immungenetik Ulm gGmbH, Universitätsklinikum Ulm, Helmholzstraße 10, D-89081 Ulm, j.mytilineos@blutspende.de*



Seite 4



› **Prof. Dr. med. Christian Seidl** ist Abteilungsleiter und klinischer Oberarzt am Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie, Abteilung Transplantationsimmunologie und Immungenetik. Nach einem Clinical Scholarship in Biomedical Research am Memorial Sloan Kettering Cancer Center, USA und Weiterbildung in Innerer Medizin, Hämatologie-Onkologie ist Herr Professor Seidl seit mehr als 10 Jahren in dem Fach Transfusionsmedizin tätig. Als Mitglied oder Vorsitzender zahlreicher Kommissionen und ehemaliger Vorsitzender der Deutschen Gesellschaft für Immungenetik (DGI) hat er sich intensiv mit den fachlichen und wissenschaftlichen Standards in der Transplantationsimmunologie und Immungenetik auseinandergesetzt. Weiterhin beschäftigt sich Herr Professor Seidl mit transfusionsmedizinischen Anforderungen in der Hämotherapie und leitet hierzu eine Europäische Projektgruppe mit Partner-Institutionen aus 16 Europäischen Mitglieds-/EFTA oder Beitrittsländern. Ein Schwerpunkt seiner wissenschaftlichen Arbeit ist die Ursachenforschung von Mechanismen der Toleranzinduktion nach Blutstammzelltransplantation oder bei Autoimmunerkrankungen. Hierbei steht insbesondere die Regulation zwischen natürlicher und erworbener Immunität im Vordergrund. ◀

*Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie Frankfurt, Abteilung Transplantationsimmunologie und Immungenetik, Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main, Sandhofstrasse 1, D-60528 Frankfurt am Main, c.seidl@blutspende.de*

Seite 4

› **Dr. med. Gerhard Holzberger** ist Institutsleiter am Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie in Kassel. Nach seiner Ausbildung in Frankfurt leitete er das transplantationsimmunologische Labor im Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie, Blutspendedienst Hessen in Frankfurt. Herr Dr. Holzberger ist seit mehr als 20 Jahren in der Transfusionsmedizin tätig und hat im Jahre 1991 die Facharztanerkennung für das Fach Transfusionsmedizin erworben. Er gehört seit 1993 dem Vorstand der Deutschen Gesellschaft für Immungenetik DGI an und wurde in den Jahren 1994/1995 von Eurotransplant in das Tissue typing advisory board als Mitglied berufen. Herr Dr. Holzberger hat sich Anfang der 90er Jahre intensiv mit dem Aufbau der Knochenmark- und Stammzellspenderdateien befasst und ist Gründungsmitglied der Arbeitsgemeinschaft der Knochenmarkspender- und Stammzelltransplantationen. Er gehört seit 1994 dem Vorstand an. Herr Dr. Holzberger wurde von der Landesärztekammer Hessen in den Prüfungsausschuss für die Facharztprüfung Transfusionsmedizin als Prüfer berufen. ◀

*Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie Kassel, Klinikum Kassel, Münchebergstraße 57, D-34125 Kassel, g.holzberger@blutspende.de*



Seite 4



› **Dr. med. Xuan Duc Nguyen** ist Facharzt für Transfusionsmedizin und stellvertretender Herstellungsleiter am Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie Mannheim. Er ist verantwortlich für den Bereich Transplantationsimmunologie und Thrombozytendagnostik. Des Weiteren gehören zu seinem Verantwortungsbereich die Durchführung von durchflusszytometrischen Analysen für den Einsatz in Forschung und klinischer Diagnostik. Als Mitglied der Deutschen Gesellschaft für Immungenetik (DGI) und der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie (DGTI) hat er sich intensiv mit den fachlichen und wissenschaftlichen Themen der Zell- und Immuntherapie auseinandergesetzt. Ein Schwerpunkt wissenschaftlicher Arbeit von Dr. Nguyen ist die Immuntherapie mit dendritischen Zellen. ◀

*Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie, Institut Mannheim, Friedrich-Ebert-Straße 107, D-68167 Mannheim, x.nguyen@blutspende.de*

Seite 4

› **Prof. Dr. med. Dorothee Wernet** arbeitet nach 10 Jahren in der immungenetischen Grundlagenforschung seit mehr als 20 Jahren in der Transfusionsmedizin des Universitätsklinikums Tübingen. Ihr Hauptinteresse sind Antikörper gegen zelluläre Blutbestandteile, früher gegen den Haupthistokompatibilitätskomplex der Maus, seit vielen Jahren jetzt HLA-Antikörper im Menschen, aber auch HPA-Antikörper und erythrozytäre Antikörper, vor allem Antikörper nach Knochenmarktransplantation oder vor Nieren-Re-Transplantation. Sie ist Fachärztin für Transfusionsmedizin, verantwortlich für das HLA- und Thrombozytenlabor, und Oberärztin des Zentrum für Klinische Transfusionsmedizin Tübingen. ◀

*Zentrum für Klinische Transfusionsmedizin Tübingen gGmbH, Klinikum Universität Tübingen, Otfried-Müller-Straße 4/11, D-72076 Tübingen, dorothee.wernet@med.uni-tuebingen.de*



Seite 17



› **Prof. Dr. med. Hubert Schrezenmeier** ist Arzt für Transfusionsmedizin und Arzt für Innere Medizin, Schwerpunkt Hämatologie und internistische Onkologie. Seit 2002 leitet er das Institut für Klinische Transfusionsmedizin und Immungenetik Ulm, ein Gemeinschaftsunternehmen des Blutspendedienstes Baden-Württemberg – Hessen und des Universitätsklinikums Ulm. Gleichzeitig hat er den Lehrstuhl für Transfusionsmedizin an der Universität Ulm inne. In seinen wissenschaftlichen Arbeiten beschäftigt er sich unter anderem mit Fragen der Biologie der hämatopoietischen Stammzellen, der Stammzelltransplantation, der Rolle von Zytokinen in der Hämatopoese, der Pathophysiologie und Behandlung nicht-maligner hämatologischer Erkrankungen. ◀

*Institut für Klinische Transfusionsmedizin und Immungenetik Ulm gGmbH, Institut für Transfusionsmedizin Universität Ulm, Helmholzstraße 10, D-89081 Ulm, h.schrezenmeier@blutspende.de*



Seite 17

› **Dr. med. Britta Höchsmann** hat ihre Ausbildung zum Facharzt für Innere Medizin mit dem Schwerpunkt Hämatologie und Internistische Onkologie in der Abteilung Hämatologie, Onkologie und Infektiologie des Universitätsklinikums Ulm (1997 - 2003) und in der Abteilung Hämatologie/Onkologie des Klinikums Wuppertal, Lehrkrankenhaus der Universität Witten/Herdecke (2004) absolviert. Seit 2004 ist sie in der Abteilung Transfusionsmedizin des Universitätsklinikums Ulm und im Institut Ulm des DRK-Blutspendedienstes Baden-Württemberg tätig. Neben der Betreuung klinischer Studien gehört die medizinische Betreuung der Transfusionsmedizinischen Ambulanz des Instituts Ulm zu ihrem Hauptaufgabengebiet. ◀

*Institut für Klinische Transfusionsmedizin und Immungenetik Ulm gGmbH, Institut für Transfusionsmedizin Universität Ulm, Helmholtzstraße 10, D-89081 Ulm, b.hoehsmann@blutspende.de*



Seite 17



› **Dr. med. Sixten Körper** studierte Humanmedizin in Heidelberg und Ulm. Internistische, hämatologische und transfusionsmedizinische Weiterbildung am Universitätsklinikum Benjamin Franklin in Berlin und an der Universitätsklinik Ulm bzw. dem Institut für Klinische Transfusionsmedizin und Immungenetik Ulm. Seit Dezember 2006 arbeitet er in der Klinik für Hämatologie, Onkologie und klinischen Immunologie am Robert-Bosch-Krankenhaus in Stuttgart um seine hämatologische Ausbildung zu beenden. Er publizierte wissenschaftliche Arbeiten zur Bedeutung der Mitochondrien für die Hämatopoese und arbeitete an verschiedenen klinischen Studien zur Aplastischen Anämie und paroxysmalen nächtlichen Hämoglobinurie mit. ◀

*Institut für Klinische Transfusionsmedizin und Immungenetik Ulm gGmbH, Institut für Transfusionsmedizin Universität Ulm, Helmholtzstraße 10, D-89081 Ulm, s.koerper@blutspende.de*

Seite 17

› **Prof. Dr. med. Jörg Schubert** ist leitender Oberarzt in der Klinik für Onkologie, Hämatologie, klinische Immunologie und Rheumatologie im Universitätsklinikum des Saarlandes. Er ist Leiter der Stammzelltransplantationseinheit sowie der klinischen Infektiologie. In seinen wissenschaftlichen Arbeiten besteht ein wesentlicher Schwerpunkt in der Pathophysiologie und Therapieentwicklung der klonalen Expansion bei hämatologischen Systemerkrankungen wie der paroxysmalen nächtlichen Hämoglobinurie. Ein weiterer Schwerpunkt besteht in der Entwicklung der Behandlung der chronischen Graft-versus-Host-Erkrankung nach allogener Stammzelltransplantation. Ebenso ist er Koordinator des Studiensekretariats der deutschen Studiengruppe für hochmaligne Non-Hodgkin-Lymphome. ◀

*Innere Medizin I, Universitätsklinikum des Saarlandes, Kirrberger Straße 1, D-66421 Homburg/Saar*



Seite 27



› **Dr. med. Detlev Nagl**, Jahrgang 1954, ist Facharzt für Transfusionsmedizin und seit 23 Jahren – lediglich unterbrochen durch die klinische Weiterbildung – für den Blutspendedienst des Bayerischen Roten Kreuzes (BSD/BRK) ärztlich tätig. Seit 1993 leitet der gebürtige Niederbayer das Institut für Transfusionsmedizin Augsburg des BSD/BRK als Chefarzt und arzneimittelrechtlich Verantwortlicher. Außerdem führt er seit einigen Jahren das Team QM, welches für das Qualitätsmanagement des BSD/BRK zuständig ist. Dr. Nagl war Mitarbeiter „der ersten Stunde“ des damals noch ausschließlich auf Bayern beschränkten und allein vom BSD/BRK herausgegebenen Journals „hämotherapie“, aus dem vor einigen Jahren die vorliegende, von allen deutschen Rot-Kreuz-Blutspendediensten gemeinsam getragene Zeitschrift hervorging. Seit längerem beschäftigt sich Dr. Nagl in seinen Beiträgen immer wieder mit den jeweils novellierten Richtlinien der Bundesärztekammer zur Hämotherapie. Wegen ihrer Mischung aus inhaltlicher Aufbereitung und pointierter Anmerkung werden seine Richtlinien-Kommentare von vielen Lesern geschätzt. ◀

*Institut für Transfusionsmedizin Augsburg, Blutspendedienst des Bayerischen Roten Kreuzes, Westheimer Straße 80, D-86156 Augsburg, d.nagl@blutspendedienst.com*

Seite 29

› **Frau Dr. Silke Martin** (36) studierte Biologie an der Universität Kaiserslautern und promovierte mit Schwerpunkt Biochemie am Institut für Medizinische Biologie und Humangenetik an der Leopold-Franzens-Universität in Innsbruck. Nach Forschungsaufenthalten in Innsbruck und Boston wechselte Frau Dr. Martin in die Pharmazeutische Industrie. Vor ihrem Eintritt als Projektleiterin der Neuen Geschäftsfelder beim Blutspendedienst des Bayerischen Roten Kreuzes war sie bei Genetics Institute GmbH/Wyeth Pharma und der Morphosys AG tätig. Seit 01. Januar 2006 leitet Frau Dr. Martin die Abteilung Biobank beim Blutspendedienst des Bayerischen Roten Kreuzes. ◀

*Abteilungsleitung Biobank, Blutspendedienst des Bayerischen Roten Kreuzes, Herzog-Heinrich-Straße 2, D-80336 München, s.martin@blutspendedienst.com*



## Abo- und Redaktionservice



**Abonnieren Sie die „hämotherapie - Beiträge zur Transfusionsmedizin“**

Sie erhalten diese kostenlos durch Ihren DRK-Blutspendedienst. Mit beiliegender Postkarte können Sie Ihre Adresse für den regelmäßigen Postversand vormerken lassen.

ISSN 1612-5592	(Ausg. Baden-Württemberg, Hessen)
ISSN 1612-5584	(Ausg. Bayern)
ISSN 1612-5614	(Ausg. Bremen, Niedersachsen, Sachsen-Anhalt, Thüringen)
ISSN 1612-5622	(Ausg. Hamburg, Schleswig-Holstein)
ISSN 1612-5630	(Ausg. Mecklenburg-Vorpommern)
ISSN 1612-5606	(Ausg. Nordrhein-Westfalen, Rheinland-Pfalz, Saarland)
ISSN 1612-5657	(Ausg. Berlin, Brandenburg, Sachsen)

# Die „hämotherapie“ im Internet

The screenshot shows the homepage of the DRK 'hämotherapie' website. The header includes the DRK logo and the slogan 'Rette ein Leben - Spende Blut!'. A search bar is located in the top right. The main content area is titled 'hämotherapie' and contains a descriptive paragraph about the magazine. Below this, there are several sections: 'Themenübersicht' (Thematic Overview), 'Downloads' (Downloads), 'Literatur-Recherche' (Literature Search), 'Literaturhinweise' (Literature References), 'Redaktion und Impressum' (Editorial and Imprint), and 'Autoren-Verzeichnis' (Author Index). A sidebar on the left contains various links like 'DRK-Blutspendetermineine in Deutschland', 'Adressänderung', 'FAQs zur Blutspende', etc. A sidebar on the right contains a table of contents with links to 'Startseite', 'Aktuell', 'Die DRK-Blutspendendienste', etc.

Im Internet-Auftritt der DRK-Blutspendendienste finden Sie alle bisher erschienenen Ausgaben der „hämotherapie“ zum „Nachlesen“ und vieles mehr rund um unser Fachmagazin.

Wussten Sie schon, dass jede Ausgabe der „hämotherapie“ mit verschiedenen Regionalteilen erscheint?

Im Internet stehen Ihnen sämtliche Beiträge der Regionalteile zum Download zur Verfügung.

This screenshot shows the 'Literatur-Recherche' (Literature Search) section of the website. It features a search bar with the placeholder text 'Suchbegriff eingeben' and a 'suchen' button. Below the search bar, there is a section titled 'Haben Sie eine eigene Homepage?' which explains how to use a banner code for their website. At the bottom, there is a banner for the search function with the text 'Deutsches Rotes Kreuz + Medizinische Literatur-Recherche hämotherapie' and a search input field. A sidebar on the left is identical to the first screenshot. A sidebar on the right shows a table of contents with a link to 'DRK-Blutspendendienste'.

Die „hämotherapie“ im Internet:

- Themenübersicht
- Downloads der bisher erschienenen Ausgaben und Regionalteile
- Medizinische Literatur-Recherche
- Autorenverzeichnis
- Literaturhinweise zum Download

Wir freuen uns über Ihr Interesse und Ihren Besuch:

[www.drk.de/blutspende](http://www.drk.de/blutspende)



## Leser fragen? Experten antworten!

Ihre Fragen leitet das Redaktionsteam an die Experten weiter.  
Veröffentlichte Anfragen werden anonymisiert.

● Ihre Frage: \_\_\_\_\_



● Dieses Thema/diese Themen würde(n) mich interessieren. Bitte berichten Sie darüber!\*

\_\_\_\_\_

● Der Artikel \_\_\_\_\_ in Ausgabe \_\_\_\_\_  
hat mir sehr gut gefallen, bitte mehr zu diesem Thema!

● Platz für Verbesserungsvorschläge!  
\_\_\_\_\_

\*Bitte haben Sie Verständnis, dass bei der Fülle an Rückmeldungen die geäußerten Wünsche kanalisiert werden müssen!



**X Ja,**

ich möchte Ihre Zeitschrift „hämotherapie“ abonnieren!

Bitte senden Sie zukünftig ein Exemplar „hämotherapie“  
kostenlos an die folgende Adresse:



Name: \_\_\_\_\_

Vorname: \_\_\_\_\_

Straße, Hausnummer: \_\_\_\_\_

PLZ/ORT: \_\_\_\_\_

Telefon: \_\_\_\_\_ Fax: \_\_\_\_\_

ABO-SERVIC

# ADRESSÄNDERUNG?

**Meine Adresse:**

Vorname: \_\_\_\_\_

Name: \_\_\_\_\_

Straße, Hausnummer: \_\_\_\_\_

PLZ/ORT: \_\_\_\_\_

Telefon: \_\_\_\_\_

Bitte  
ausreichend  
frankieren.  
Danke!

**Antwort**

DRK-Redaktionsteam

**hämotherapie**

Feithstr. 182

58097 Hagen

**Meine Adresse:**

Vorname: \_\_\_\_\_

Name: \_\_\_\_\_

Straße, Hausnummer: \_\_\_\_\_

PLZ/ORT: \_\_\_\_\_

Telefon: \_\_\_\_\_

Bitte  
ausreichend  
frankieren.  
Danke!

**Antwort**

DRK-Redaktionsteam

**hämotherapie**

Feithstr. 182

58097 Hagen

**Bitte streichen Sie folgende Adresse aus Ihrem Verteiler**

Vorname: \_\_\_\_\_

Name: \_\_\_\_\_

Straße, Hausnummer: \_\_\_\_\_

PLZ/ORT: \_\_\_\_\_

Telefon: \_\_\_\_\_

**und ersetzen Sie diese durch**

Vorname: \_\_\_\_\_

Name: \_\_\_\_\_

Straße, Hausnummer: \_\_\_\_\_

PLZ/ORT: \_\_\_\_\_

Telefon: \_\_\_\_\_

Bitte  
ausreichend  
frankieren.  
Danke!

**Antwort**

Bestellservice

**hämotherapie**

Feithstr. 182

58097 Hagen

Bitte abtrennen, ausfüllen und abschieken

