

Pathobiochemie und Labordiagnostik der Entzündung

Pathogenesis and laboratory tests of inflammation

L. Thomas, Maren Messinger
Laboratoriumsmedizin, Krankenhaus Nordwest, Frankfurt/Main

Zusammenfassung:

Die Entzündung ist eine Folge von Reaktionen mit der Zielsetzung, die Ausbreitung einer Gewebeschädigung oder eines Infektionserregers einzudämmen. Zelluläre und humorale Mechanismen interagieren dabei in einem komplexen Netzwerk. In diesem Übersichtsbeitrag zeigen wir die wichtigsten Wege des inflammatorischen Reaktionsgeschehens auf und diskutieren die Bedeutung von Laboratoriumsuntersuchungen für die Diagnostik und das Monitoring von Entzündungen.

Wesentliche Schritte im Ablauf der Entzündungsreaktion sind

- die Synthese von Prostaglandinen aus Arachidonsäure, die durch Phospholipasen A₂ (PLA₂)-katalysierte Hydrolyse aus Membranphospholipiden gebildet wird;
- Interaktionen zwischen Gefäßendothel und Leukozyten, die Leukozytenextravasation und die Freisetzung freier Sauerstoffradikale und von Elastase im Gewebe;
- die Bildung inflammatorischer Cytokine, ihr Effekt auf Entzündungszellen und ihre systemische Wirkung auf Organe;
- die Synthese von Akute-Phase-Proteinen, deren Plasmakonzentration bei Entzündung als Antwort auf eine Vielfalt von Schädigungen ansteigt.

Zur Diagnostik und Verlaufsbeurteilung entzündlicher Krankheiten hat die Bestimmung des C-reaktiven Proteins den höchsten Stellenwert. Die Elastase hat nur eine begrenzte Bedeutung. Die Bestimmung von PLA₂, der inflammatorischen Cytokine TNF α , IL-1, IL-6 und des sIL-2R als generelle Entzündungsmarker kann in der Routinediagnostik noch nicht empfohlen werden. Eingehende klinische Untersuchungen zur diagnostischen Bedeutung müssen noch abgewartet werden.

Schlüsselwörter:

Entzündung – Phospholipasen A₂ – Prostaglandine – Cytokine – Akute-Phase-Proteine – CRP

Summary:

An inflammatory response is a complex series of events designed to eliminate or limit the spread of injurious or infectious agents. Cellular and humoral mechanisms are involved in a network of complex interactions. Here we wish to review current views on the role of the following main pathways in the pathogenesis of inflammatory reactions and to discuss laboratory tests for monitoring.

Essential points in the pathogenesis of inflammation are

- prostanoid biosynthesis from arachidonic acid, which is hydrolyzed from membrane phospholipids through the action of phospholipases A₂ (PLA₂);
- endothelial cell interactions with leukocytes, the leukocyte entry into tissues, and the role of free radicals and neutrophil elastase;
- inflammatory cytokines, their local and their systemic effects on inflammatory cells and organ systems;
- acute phase reactant proteins, whose levels rise in inflammation as a response to a wide variety of injuries.

As aids for the diagnosis and monitoring of inflammatory diseases, C-reactive protein testing has the greatest clinical impact; elastase is of limited value. PLA₂, the inflammatory cytokines TNF α , IL-1, IL-6 and the sIL-2R need further clinical evaluation and cannot be recommended as inflammation markers in routine analysis.

Keywords:

Inflammation – phospholipase A₂ – prostanoids – cytokines – acute phase reactants – CRP

1.0 Einleitung

Die Entzündungsreaktion ist die Antwort des Organismus zur Abwehr schädlicher Reize, verursacht durch fremde oder veränderte körpereigene Substanzen. Es handelt sich bei der entzündlichen Antwort um eine komplexe Folge regulativer Ereignisse mit dem Ziel, die Ausbreitung der Schädigung oder einer infektiösen Substanz zu begrenzen (1). Die entzündliche Reaktion kann grob in drei Phasen untergliedert werden:

- Ausgangsphase nach Setzung des entzündlichen Reizes, auch als proinflammatorische Phase bezeichnet,
- Verstärkungs- und Erhaltungsphase, auch systemische Phase genannt,
- und die Auflösungsphase.

Auslösende Ereignisse einer Entzündungsreaktion können sein (Tab. 1):

- Gewebeschädigung, z. B. Trauma, Nekrose, Hitze, Kälte, Strahlen,
- Infektion durch Mikroorganismen,
- Toxine, z. B. toxisches Schock-Syndrom durch Staphylokokken- oder Streptokokken A-Toxin.
- Immunkomplex-Ablagerung, z. B. bei Medikamentenallergie, Serumkrankheit oder primär immunologischen Erkrankungen wie dem systemischen Lupus erythematoses.

Klassische und neuere Laboratoriumsuntersuchungen, die zur Diagnostik, Verlaufs- und prognostischen Beurteilung von Entzündungen empfohlen bzw. klinisch evaluiert werden, sind in Tab. 2. aufgeführt.

2.0 Entzündungsphasen

Entzündungsauslösende Ereignisse induzieren primär proinflammatorische Aktivitäten von Gewebezellen (z. B. Gefäßendothelzellen, Langerhanszellen), Entzündungszellen (polymorphkernigen Granulozyten (PMN), Monozyten/Makrophagen, Lymphozyten) und Thrombozyten. Die von diesen Zellen gebildeten inflammatorischen Cytokine lösen sekundär die systemische Reaktion aus.

2.1 Entzündungsauslösende Ereignisse

Ein wichtiger Stimulator der Auslösung zellulärer proinflammatorischer Aktivitäten ist das Komplementsystem (3, 4).

Aktivierung, z. B. des alternativen Weges durch Oberflächenstrukturen von Bakterien oder anderen körperfremden Substanzen und des klassischen Weges durch Antigen-Antikörperkomplexe führt zur Bildung des terminalen Komplexes C5b-9, der lytischen Einheit der Komplement-

Tab. 1: Stimuli der Entzündungsreaktion (2)

Gewebeschädigung: Trauma, Nekrose, Hitze, Kälte, Strahlen
Infektion mit Mikroorganismen
Toxine, z. B. Staphylokokken-Toxin
Immunkomplex-Ablagerung: Medikamenten-Allergie, Serumkrankheit, primär immunologische Erkrankung, z. B. SLE

kaskade (5). Dieser Komplex kann an jede Stelle der Cytoplasmamembran von Zellen binden, wo Komplement aktiviert wird (Abb. 1). Der Komplex dringt unter Bildung einer Pore in den Lipidbilayer der Cytoplasmamembran ein und bewirkt dort Unordnungszustände, die dann proinflammatorische Aktivitäten mit Änderung des Zellstoffwechsels auslösen.

2.2 Zelluläre proinflammatorische Aktivitäten

Die proinflammatorischen Aktivitäten von Zellen am Ort des entzündlichen Ereignisses sind (Abb. 2):

- die Phospholipasen A₂-induzierte Bildung lokaler Entzündungsmediatoren, wie der Prostaglandine, der Leukotriene und der Plättchen aktivierenden Faktoren (PAF).
- die Aktivierung von Leukozyten, insbesondere der polymorphkernigen Granulozyten (PMN).
- die Bildung inflammatorischer Cytokine durch z. B. Monozyten/Makrophagen und Gefäßendothelzellen.

2.3 Systemische Reaktion (Phase)

Zu einer Selbstverstärkung und systemischen Reaktion, d. h. Mitbeteiligung des Gesamtorganismus am Entzündungsgeschehen kommt es durch die verstärkte Freisetzung inflammatorischer Cytokine wie Tumornekrosefaktor α (TNF α) und der Interleukine 1 und 6 (IL-1 und IL-6). Partialfunktionen dieser systemischen Reaktion sind (Abb. 2):

- die Auslösung von Fieber.
- die verstärkte Ausschüttung und Bildung von Blutzellen, insbesondere von PMN.
- die Synthese von Akute-Phase-Proteinen mit kompensatorischer Verminderung der Anti-Akute-Phase-Proteine.
- die Aktivierung von Immunzellen.
- die vermehrte Ausschüttung von Glucocorticoiden.

2.4 Labordiagnostik

Labordiagnostische Ansatzpunkte zum Monitoring einer akuten Entzündungsreaktion sind (Abb. 2):

- die PLA₂-Konzentration im Serum. Sie ist nicht so sehr ein Marker für die Bildung lokaler Entzündungsmediatoren, sondern mehr ein Indikator für die Phagozytose bei Entzündung.

Tab. 2: Klassische und neue Laboratoriumsuntersuchungen zur Diagnostik, Verlaufsbeurteilung und Prognostik von Entzündungen

klassische Untersuchungen	neue Untersuchungen
<ul style="list-style-type: none"> - Blutkörperchengeschwindigkeit (BSG) - Leukozytenzahl und Differentialblutbild 	<ul style="list-style-type: none"> - α_1-saures Glykoprotein (AGP)-Mikroheterogenität - Phospholipasen A₂ (PLA₂)
<ul style="list-style-type: none"> - C-reaktives Protein (CRP) - polymorphkernige neutrophile Granulozyten-Elastase (PMN-Elastase) 	<ul style="list-style-type: none"> inflammatorische Zytokine - Tumornekrosefaktor α (TNFα) - Interleukin 1 (IL-1) - Interleukin 6 (IL-6) - löslicher IL-2-Rezeptor (sIL-2R)

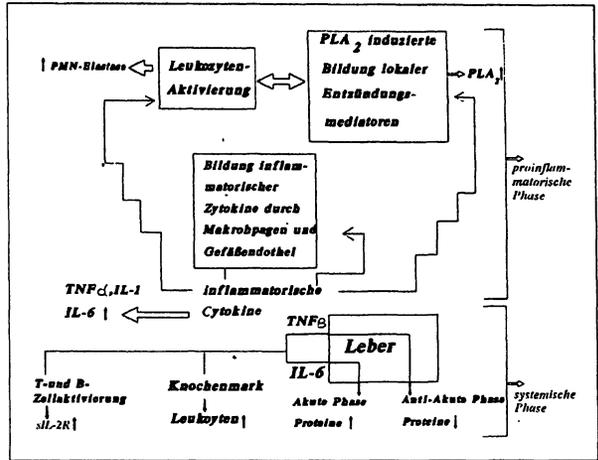
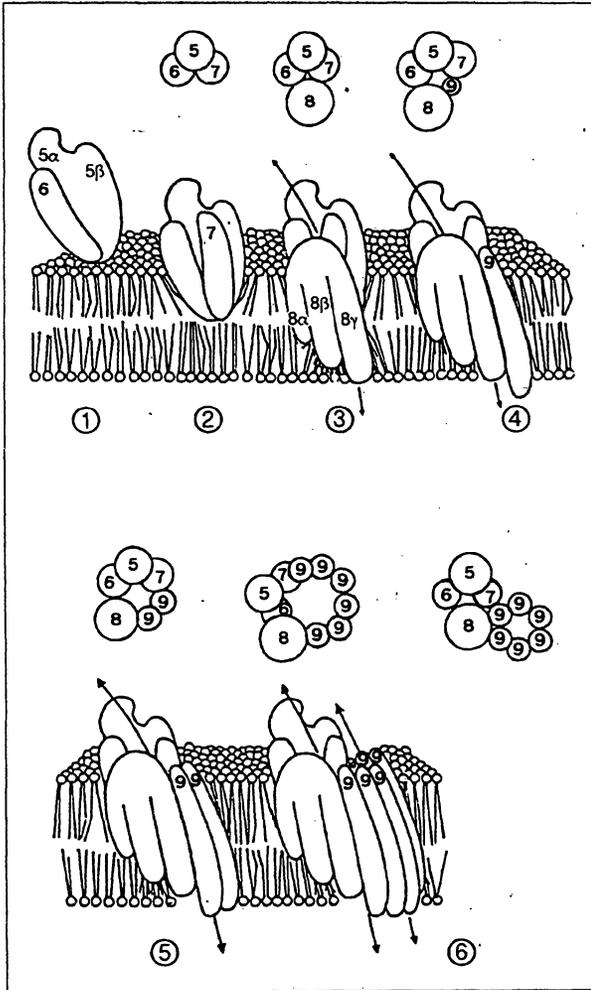


Abb.2: Proinflammatorische und systemische Phase der Entzündungsreaktion und labordiagnostische Untersuchungen zur Kontrolle der Einzelreaktionen

3.0 Proinflammatorische Phase

Ausgelöst werden die Vorgänge der proinflammatorischen Phase im wesentlichen durch:

- Unordnungszustände in der Cytoplasmamembran von Gewebezellen, z.B. Langerhanszellen der Haut oder Intimazellen der Gefäße und von Entzündungszellen. Über die Aktivierung zellständiger Phospholipasen erfolgt die Bildung lokaler Entzündungsmediatoren wie Prostaglandine, Leukotriene und Plättchen aktivierender Faktoren (PAF).
- lokale Entzündungsmediatoren mit chemotaktischer Wirkung. Sie induzieren gemeinsam mit inflammatorischen Cytokinen die Leukozytenextravasation.
- inflammatorische Cytokine wie $TNF\alpha$, IL-1 und IL-6. Sie werden von ortständigen Zellen, z.B. Intimazellen der Gefäße und von an die Läsionsstelle eingewanderten Makrophagen gebildet. Vermittels der Cytokine wird der Gesamtorganismus in die Entzündungsreaktion mit einbezogen, und die Einzelreaktionen des Entzündungsgeschehens werden gesteuert.

3.1 Bildung lokaler Entzündungsmediatoren

Die Bildung lokaler Entzündungsmediatoren wie Prostaglandine, Leukotriene, Lipoxine und PAF geschieht stufenweise. Folgende Schritte werden unterschieden:

- die Aktivierung von Phospholipasen zur Freisetzung von Vorläuferphospholipiden aus der Cytoplasmamembran.
- die Freisetzung der in C₂-Position veresterten Arachidonsäure durch die Phospholipasen A₂ (PLA₂).
- die Verstoffwechselung der Arachidonsäure unter Bildung der verschiedenen Eicosanoide.
- die Zell-spezifische Umwandlung der Eicosanoide in aktive Produkte.

3.1.1 Freisetzung von Vorläuferphospholipiden

Unspezifisch, ausgelöst durch Unordnungszustände der Cytoplasmamembran, z.B. aufgrund der Anlagerung des

Abb. 1: Bildung und Eindringen des C5b-9-Komplexes in die Cytoplasmamembran (mit freundlicher Genehmigung aus Lit. 3 entnommen). Der Komplex C5b6 reagiert reversibel mit der Cytoplasmamembran (1). Durch nachfolgende Bindung von C7, C8, C9 ermöglichen neu exprimierte hydrophobe Seitenketten das Eindringen des Komplexes (2-4). Die hydrophilen Proteinanteile arrangieren sich unter Bildung einer Pore. Die Porenbildung kann auch schon im C5b8-Stadium erfolgen. Die Poren werden größer durch Bindung von C9 (5). In Gegenwart großer Mengen C9 formen sich zusätzliche C9-Aggregate unter Ausbildung der sogenannten „Poly-C9-Kanäle“

- die PMN-Elastase-Konzentration im Plasma als Indikator der Leukozytenaktivierung im Gewebe.
- die Konzentration von $TNF\alpha$, IL-1 und IL-6 im Serum zur Abschätzung der Entzündungsaktivität.
- die Konzentration von sIL-2R im Serum als Indikator zur Beurteilung der Aktivierung des Immunsystems.
- die Leukozytenzahl; eine Vermehrung der PMN mit reaktiver Linksverschiebung ist z.B. charakteristisch für bakterielle Infektionen.
- der Anstieg der Akute-Phase-Proteine, insbesondere des C-reaktiven Proteins, als Indikator der systemischen Reaktion des Entzündungsgeschehens. Dieser Zeitabschnitt wird auch als Akute-Phase-Reaktion bezeichnet.

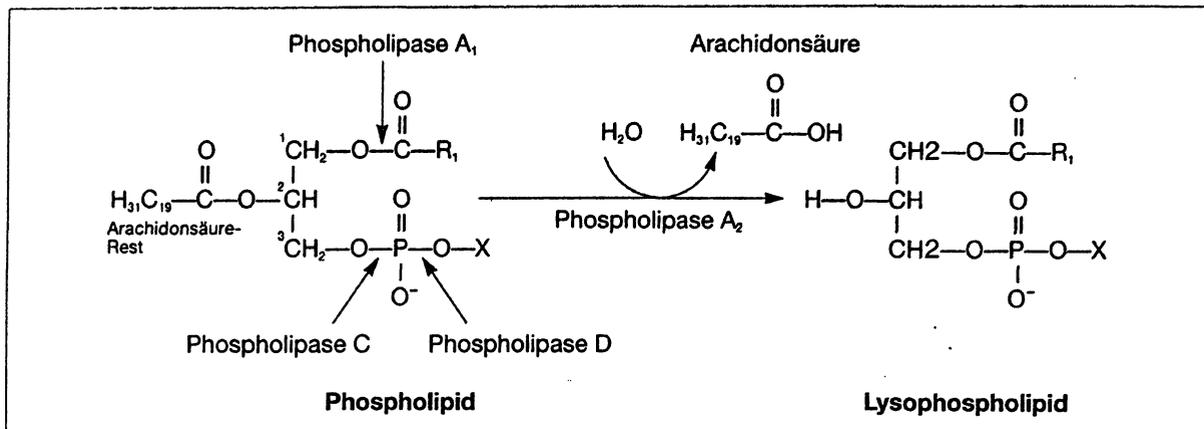


Abb. 3: Hydrolyse von Phospholipiden durch die verschiedenen Phospholipasen. Aufgrund der Wirkung von Phospholipase A₂ entstehen Arachidonsäure und ein entsprechendes Lysophospholipid. Bei dem Rest X kann es sich handeln um: Inositol (PI = Phosphatidylinositol), Cholin (PC = Phosphatidylcholin), Ethanolamin (PE = Phosphoethanolamin) oder Serin (PS = Phosphatidylserin)

terminalen lytischen Komplexes C5b-9 oder spezifisch durch Rezeptoren vermittelt, werden membranständige, eventuell auch cytosolische Phospholipasen aktiviert, die eine Hydrolyse von Zellphospholipiden bewirken. Bei polymorphkernigen Granulozyten (PMN) soll die Aktivierung über den FMetLeuPhe-Rezeptor erfolgen (6). Die freigesetzten Phospholipide stammen aus der Cytoplasmamembran, möglicherweise auch von Low Density Lipoproteins (LDL), die in die Zelle aufgenommen wurden (7).

Für die Freisetzung der Phospholipide werden die Wege über die Phospholipase C, die Phospholipase D oder direkt die Phospholipasen A₂ (PLA₂) diskutiert (7). In Abb. 3 sind die Angriffspunkte der einzelnen Phospholipasen und in Tab. 3 die Freisetzungswege der Membranphospholipide aufgezeigt. Die freigesetzten Phospholipide werden auch als Vorläuferphospholipide bezeichnet, da sie das Ausgangssubstrat zur Bildung der Arachidonsäure sind. Arachidonsäure ist eine mehrfach ungesättigte C₂₀-Fettsäure mit vier nicht konjugierten Doppelbindungen. In der Cytoplasmamembran liegt sie verestert mit C₂ von Glycerin, z. B. in Form des Phosphoinositols oder anderer Phospholipide vor. PLA₂ katalysieren die Hydrolyse der Phospholipide (8). Als direkte Produkte entstehen Arachidonsäure und Lysophospholipide.

Die für Entzündungsgeschehen wichtigen PLA₂ sind ubiquitär in Geweben, besonders aber in Entzündungszellen wie Granulozyten, Makrophagen, Gefäßendothelzellen und auch Thrombozyten lokalisiert. Ihre Aktivierung kann spezifisch, z. B. durch Unordnungszustände in der Zellmembran oder, wie in Abb. 4 dargestellt, Rezeptor-gekoppelt erfolgen (9). Beteiligte Rezeptoren sind z. B. Fc_γR, IL-1R, IL-2R, TNF_αR, Thrombin R usw. Die PLA₂ sind über G-Proteine an diese Rezeptoren gekoppelt. Die Familie der heterotrimeren (α, β, γ-Einheit) Guaninnukleotid-bindenden Regulatorproteine spielt eine wichtige Rolle für die Weiterleitung Rezeptor-vermittelter Signale durch die Cytoplasmamembran. G-Proteine stellen eine Verbindung zwischen den Rezeptoren auf der Außenseite und den Effektoren der Innenseite der Zellmembran, in diesem Fall den PLA₂ dar (10).

Die Bedeutung der PLA₂ liegt in der Transformation äußerer in intrazelluläre Signale, die in Form der Bildung von lokalen Entzündungsmediatoren eine physiologische Antwort der Zelle auf einen Reiz darstellen. Im Falle des PMN bedeutet das z. B. Adhärenz, Aggregation, Chemotaxis, Freisetzung exkretorischer Granula und die Aktivierung der NADPH-Oxidase (respiratory burst) (6).

Erhöhungen der PLA₂ im Serum erfordern entweder akut-entzündliche Geschehen mit Nekrose (hierbei wird wahrscheinlich meßbar nur pankreatische PLA₂ freigesetzt) oder die verstärkte PLA₂-Neusynthese, z. B. bei längerfristigen entzündlichen Prozessen, bei denen Cytokine Rezeptor-vermittelt die Expression der PLA₂ induzieren.

Es gibt verschiedene, membrangebundene und cytosolische Formen der PLA₂, die möglicherweise alle, außer der pankreatischen PLA₂, eine Bedeutung in der Signaltransformation haben (Tab. 4).

3.1.2 Bildung von Eicosanoiden

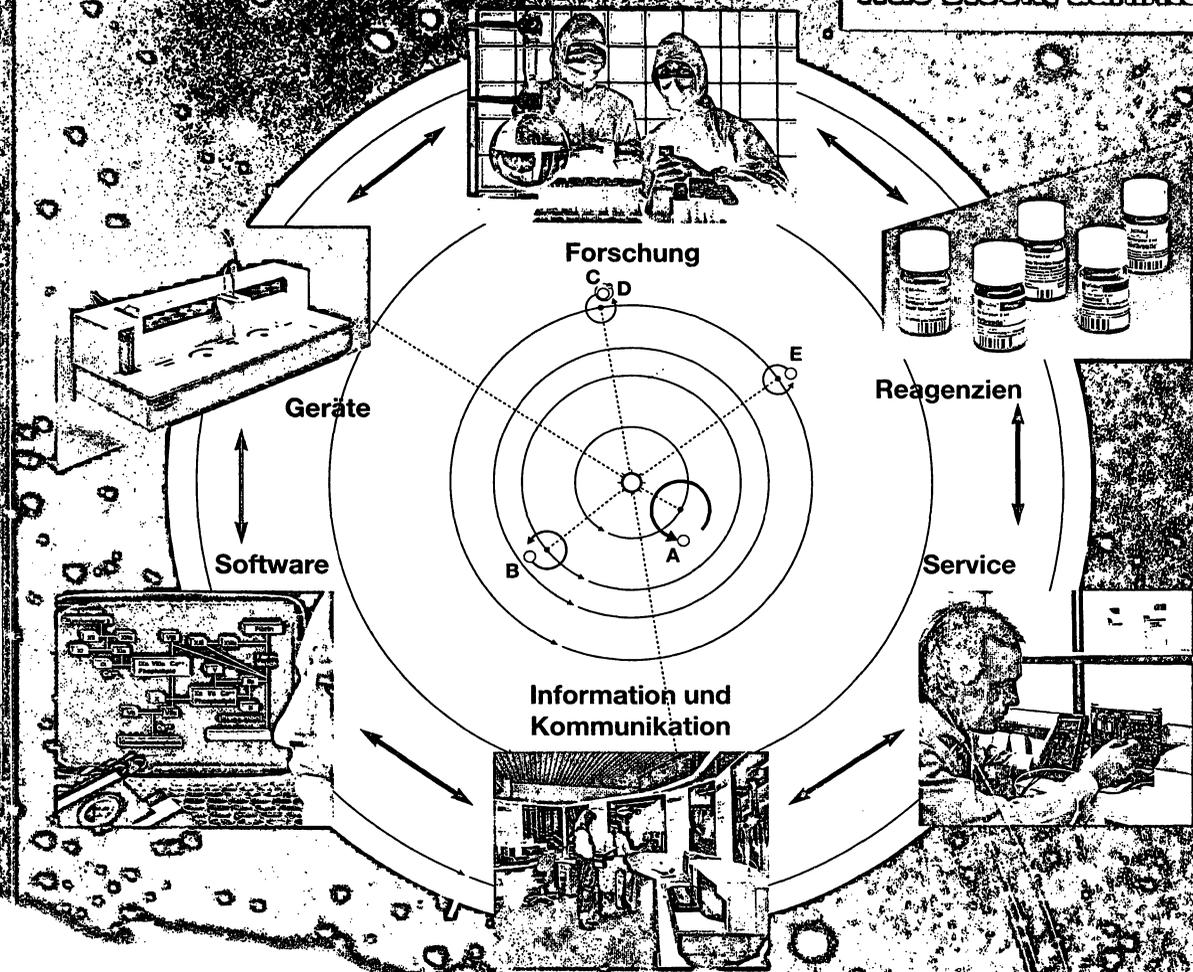
Die Aktivierung von Phospholipasen bewirkt die Freisetzung von Phospholipiden der Cytoplasmamembran, aus denen PLA₂-katalysiert Arachidonsäure freigesetzt wird.

Tab. 3: Phospholipasen-katalysierte Freisetzungswege von Membranphospholipiden (6)

1. Phospholipase C (PLC)-Weg: Sequentieller Abbau von PI, PC oder PE beginnend durch die PLC und dann weiterführend über Di- und Monoglyceridlipasen.
2. Phospholipase D (PLD)-Weg: Initiale Hydrolyse von PE und PC in Phosphatidsäuren und Ethanolamin bzw. Cholin und nachfolgende Umwandlung zu Di- und Monoglyceriden mittels Phosphatase, Di- und Monoglyceridlipase.
3. Phospholipase A₂ (PLA₂)-Weg: Direkte Wirkung von PLA₂ an einem Membranphospholipid, z. B. 1,2-diacetyl- oder 1-O-alkyl-2-acetyl-PI, -PE oder -PC.

Das Gerinnungsdiagnostik-System von Behring

Was steckt dahinter?



Ein synergistisches System zur Problemlösung
diagnostischer Fragen bestehend aus:

Forschung

neue Produkte für
bessere Diagnosen und
Prognosen

Geräte

neuester Technologie
für schnelle und
bequeme Laborpraxis

Service

damit die Routine
immer weiterläuft

Reagenzien

hoher Qualität für
zuverlässige Analysen

Software

für den schnellen und
gesicherten Daten-
transfer von der Anfor-
derung bis zum Befund

**Information und
Kommunikation**

für Weiterbildung und
Erfahrungsaustausch

Behringwerke AG,
Postfach 11 40, 3550 Marburg/Lahn

Behringwerke AG
Med. Information und Verkauf
Postfach 12 12 · ·
6237 Liederbach/Ts.1





DAKO

Infektionskrankheiten

IDEIA™ und IMAGEN™ – die Wahl für Mikrobiologen

Auf monoklonalen Antikörpern basierende Enzymimmunoassays und direkte Immunfluoreszenzkits von hoher Qualität für den diagnostischen Einsatz

Okulare Infektionen

Chlamydien
Adenovirus
Herpes-simplex-Virus

Infektionen der Atemwege

Respiratory Syncytial Virus
Influenzavirus
Chlamydien
Adenovirus
Parainfluenzavirus Typ 1, 2 & 3

Gastroenteritis

Rotavirus
Cryptosporidium
Adenovirus

Genitale Infektionen

Chlamydien
Herpes-simples-Virus

DAKO® Diagnostika GmbH
Postfach 70 04 07 • Am Stadtrand 52
2000 Hamburg 70
Telefon: (040) 693 70 26
Telefax: (040) 695 27 41

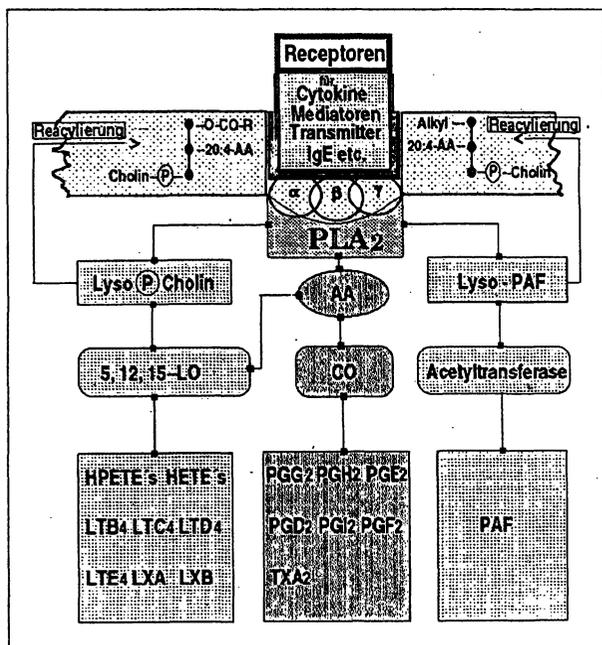


Abb. 4: Cytoplasmamembran mit Rezeptoren, G-Proteinen (α , β , γ) und angebundener PLA₂. Die Metabolisierungswege über Lipoxygenasen (LO) zu HPETE/HETE, Leukotrienen (LT) und Lipoxinen (LX), über Cyclooxygenase (CO) zu Prostaglandinen (PG), Thromboxan A₂ (TXA₂), Prostacyclin (PGI₂) und über Lyso-PAF und Acetyltransferase zu PAF sind dargestellt. 20:4-AA = Arachidonsäure, O-CO-R = Fettsäure in Esterbindung, Alkyl = Fettsäure in Etherbindung (mit freundlicher Genehmigung aus Lit. 9 entnommen)

Diese kann metabolisiert werden (Abb. 5):

- über den Cyclooxygenaseweg zu den Prostanoiden (Prostaglandine, Prostacycline und Thromboxane).
- über den Lipoxygenaseweg zu den Leukotrienen und Lipoxinen.
- durch Oxidation über das Cytochrom P-450-System zu Metaboliten wie z. B. Hydroxyeicosatetraensäuren, Epoxyeicosatetraensäuren (nicht in Abb. 5 dargestellt).

Wichtige Metabolisierungsprodukte des Eicosanoidstoffwechsels sowie auch von PAF und deren Funktion sind in Tab. 5 aufgezeigt. Die genannten Metabolite des Eicosanoidstoffwechsels wirken als lokale Entzündungsmediatoren. PGH₂ ist der direkte Vorläufer für die Synthese der Thromboxane, Prostaglandine und Prostacycline. Alle im Entzündungsgeschehen aktiven Produkte, die aus dem PGH₂ entstehen, werden Prostanoiden genannt, ihre Konzentration in den Körperflüssigkeiten ist physiologischerweise etwa 0,3–0,5 µg/g Gewebe.

3.1.2.1 Prostaglandine

Die Funktionen einzelner Prostaglandine sind in Tab. 5 aufgeführt. Sie werden bei Entzündungen in erhöhter Konzentration am und in der Umgebung des Entzündungsherdes gemessen. Die meisten Zellen sind hochselektiv in der Bildung bestimmter Prostaglandine in größeren Mengen (12). Prostaglandine der E-Reihe und Prostacyclin inhibieren die Chemotaxis des PMN und seine Adhärenz am Gefäßendothel.

Tab. 4: Isoformen der Phospholipasen A₂ (PLA₂) (7)

Typ I-PLA₂: Sekretorische pankreatische PLA₂, MW ≈ 14000 Daltons, Ähnlichkeit mit Cobra-Schlangengift, alkalisches pH-Optimum, benötigt mehr als 1 mmol/l Ca⁺⁺.

Typ II-PLA₂: Sekretorische, nichtpankreatische PLA₂, MW ≈ 14000 Daltons, isoliert aus Leber, Synovialflüssigkeit, Thrombozyten. Die Membran-assoziierten PLA₂ der Gewebe scheinen dieser PLA₂ vergleichbar zu sein.

Typ III-PLA₂: Cytosolische PLA₂, MW 85500 Daltons, isoliert aus humanen Monozyten und Nierengewebe. Aktivierung durch Ca⁺⁺ in Konzentration von nmol/l, was der intrazellulären Ca⁺⁺-Konzentration entspricht. Die Typ III-PLA₂ scheint ein wichtiger Kandidat für die entzündliche PLA₂ zu sein.

3.1.2.2 Prostacycline (PGI)

PGI werden von der PGI-Synthase gebildet, die vorwiegend in der Intima der Arterien aber auch in der Lunge und der Magenschleimhaut lokalisiert ist. PGI₂ ist ein potenter Thrombozytenaggregationshemmer und Gefäßdilator. Das von Thrombozyten gebildete Thromboxan A₂ und das PGI₂ der Gefäßwand haben gegensätzliche Wirkung. Sie vermitteln aber beide ihre Wirkung über die Bildung von cyclischem Adenosinmonophosphat (c-AMP). PGI₂ ist ein Stimulator, TXA₂ ein Inhibitor der c-AMP-Bildung (11).

3.1.2.3 Thromboxane (TXs)

Thromboxane werden aus PGH₂ gebildet (Abb. 5). Thromboxane des A-Typs sind sehr instabil und werden rasch in die biologisch inaktiven Thromboxane des B-Typs umgewandelt. Das für inflammatorische Geschehen wichtigste Thromboxan ist TXA₂. Es ist in hoher Konzentration in den Thrombozyten, wird aber auch von anderen Gewebezellen und Leukozyten gebildet. Seine Halbwertszeit ist 30 Sekunden, es wirkt proaggregatorisch auf Thrombozyten und vasokonstriktorisch auf Gefäße.

3.1.2.4 Leukotriene (LTs)

Sie werden durch Wirkung der 5-Lipoxygenase auf vielfach ungesättigte C₂₀-Fettsäuren wie die Arachidonsäure gebildet. Die 5-Lipoxygenase katalysiert die Umwandlung von Arachidonsäure zu einer 5-Hydroxyperoxytetraensäure (HPETE), die sehr instabil ist und dann zu LTA₄ umgewandelt wird (Abb. 5). Nachfolgende Produkte sind LTB₄ und die Cyteinyl-LTs LTC₄, LTD₄ und LTE₄. Zielzellen von LTB₄ sind hauptsächlich PMN und Monozyten/Makrophagen, es wirkt chemotaktisch und bewirkt eine Aggregation dieser Zellen am Entzündungsherd. Die Cysteinyl-LTs haben vorwiegend konstriktorische Wirkung auf Gefäße (11).

3.1.2.5 Lipoxine

Die Lipoxine entstehen durch Wirkung der 15-Lipoxygenase (11). Sie wandelt Arachidonsäure in 15-HPETE um, aus denen durch Oxidation Substanzen ähnlich wie die Leukotriene entstehen aber mit vier anstatt drei Doppelbindungen (nicht in Abb. 5 dargestellt).

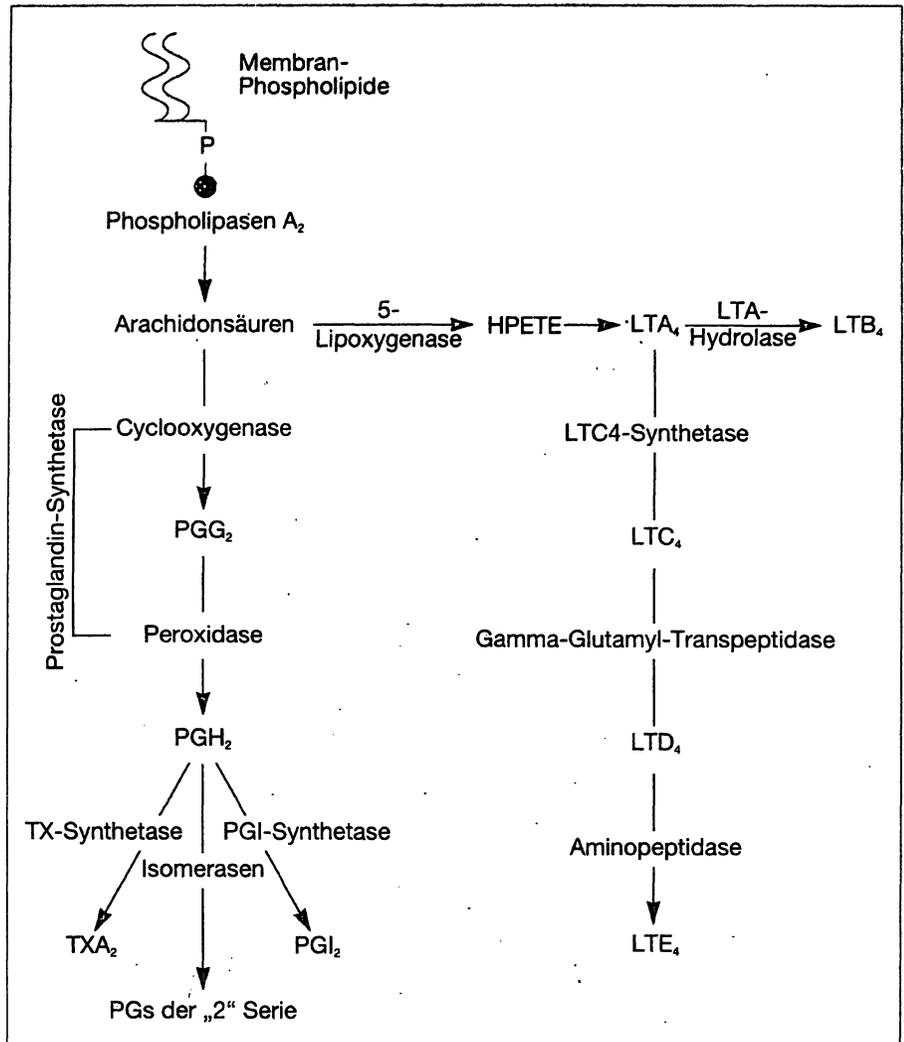


Abb. 5: Bildung von Eicosanoiden (aus Lit. 11). Der Cyclooxygenase- und der 5-Lipoxygenaseweg sind dargestellt. Abkürzungen siehe Tab. 5

Lipoxine kontrahieren Lungengewebe, modifizieren Natural-Killerzellaktivitäten und aktivieren PMN zur Bildung von Superoxidanionen.

3.1.2.6 Synthese von Plättchen aktivierenden Faktoren (PAF)

PAF sind Eicosanoide, denn sie entstehen durch Reacetylierung an C₂-Position eines Lyso-phosphatides (Lyso-PAF), das durch die PLA₂-Wirkung entstanden ist (Abb. 4). PAF wird von vielen Zelltypen gebildet, z.B. Granulozyten, Mastzellen, Endothelzellen, Makrophagen, Thrombozyten (12). Eine ganze Reihe proinflammatorischer Aktivitäten sind PAF-induziert, so z.B. die Chemotaxis von PMN, deren Aggregation und Sekretion von Superoxidanionen, oder die Freisetzung von Prostaglandinen und Leukotrienen aus endothelialen und epithelialen Zellen.

3.1.3 Hemmung der Synthese von Eicosanoiden und PAF (11-13)

Die Hemmung kann durch nicht steroidale antiinflammatorische (NSAI) Pharmaka und durch Corticosteroide erfolgen.

3.1.3.1 Hemmung der PLA₂

Corticosteroide hemmen die PLA₂ und damit die Bildung von Eicosanoiden. Während natürliche Steroide wie Cortisol und Corticosteron einen direkten Einfluß auf die Aktivität der PLA₂ haben, stimulieren synthetische Corticosteroide wie Dexamethason und Prednisolon die Bildung des Proteins Lipocortin, das die PLA₂-Wirkung einschränkt (13).

3.1.3.2 Hemmung der Cyclooxygenase

NSAI wie Indometacin, Fenoprofen, Ibuprofen und andere, hemmen die Cyclooxygenasewirkung durch kompetitive Verdrängung der Arachidonsäure von der Substratbindungsstelle. Acetylsalicylsäure (Aspirin) acetyliert irreversibel einen Serinrest im aktiven Zentrum der Cyclooxygenase.

3.1.3.3 Hemmung der Thromboxan-Synthetase

Imidazol und Dazoxiben hemmen in vitro dieses Enzym und sind deshalb potentiell antiaggregatorische Substanzen zur Verhinderung von Thromboembolien.

Tab. 5: Wichtige Metabolisierungsprodukte der Eicosanoide und deren Funktion, sowie die Funktion von PAF (11–13)

Abkürzung	Name	Bildungsort	Funktion
Cyclooxygenase-Produkte			
PGG ₂ PGH ₂	Prostaglandin G ₂ bzw. H ₂	alle Gewebe	Kontraktion der glatten Muskulatur an Gefäß, Auge, Gastrointestinaltrakt und der Bronchien
PGE ₂	Prostaglandin E ₂	Monozyten/Makrophagen, Fibroblasten, Endothelzellen, Nebennierenmarkzellen	Vasodilatation, Bronchorelaxierung, PMN-Inaktivierung, down-Regulierung aktivierter Monozyten/Makrophagen und Lymphozyten
PGD ₂	Prostaglandin D ₂	Mastzellen	Wird bei Allergien und anderen Stimuli freigesetzt. Systemischer Vasodilatator und Pulmonalarterien-Konstriktor
PGI ₂	Prostacyclin	siehe PGE ₂	siehe PGE ₂
TXA ₂	Thromboxan A ₂	Thrombozyten, PMN, Monozyten/Makrophagen, Fibroblasten, Endothelzellen	Thrombozytenaggregation, Vasokonstriktion
Lipoxygenase-Produkte			
HETE	Hydroxyeicosatetraensäure	Zellen, die ihren Ursprung im Knochenmark haben (außer Erythrozyten)	PMN-Aktivierung, Chemotaxis
HPETE	Hydroxyperoxyeicosatetraensäure		
LTB ₄ LTC ₄ LTD ₄ LTE ₄	Leukotriene B ₄ , C ₄ , D ₄ , E ₄	PMN, Monozyten/Makrophagen, Mastzellen, Endothelzellen, Thrombozyten	Chemotaktisch, besonders für PMN, Stimulierung der PMN-Adhäsion am Gefäßendothel, Degranulation von Mastzellen
LXA ₄ LXB ₄	Lipoxine A ₄ , B ₄	siehe LTB ₄	Inhibition von NK-Zellen, Aktivierung des oxidativen bursts der PMN
PAF	Plättchen-aktivierender Faktor	Thrombozyten, Monozyten/Makrophagen, PMN, Endothelzellen, NK-Zellen	Thrombozyten- und Granulozyten-Aggregation, Vasodilatation, Erhöhung der Gefäßpermeabilität, Freisetzung von Prostaglandinen und Leukotrienen

Tab. 6: Charakterisierung der Selectine

	L-Selectin	E-Selectin	P-Selectin
Vorkommen	Leukozyten	Gefäßendothel	Gefäßendothel, Thrombozyten
Expression	nimmt ab nach Leukozytenaktivierung	Stunden nach Aktivierung durch TNF α , IL-1, LPS*	Minuten nach Aktivierung durch Thrombin, Histamin, Peroxide
Adhärenz an Zelltyp	Endothelien der Gefäße und Lymphknoten	Monozyten, neutrophile Granulozyten, T-Zell-Subpopulationen	siehe E-Selectin
vermutete Funktion	neutrophile Entzündungsreaktion; lymphozytäre Rezirkulation in periphere Lymphknoten (homing)	Leukozytäre Entzündungsreaktion	siehe E-Selectin

* LPS = Lipopolysaccharide

3.1.3.4 Verminderung der TXA₂-Bildung

Die Wirkung niedriger Dosen Acetylsalicylsäure in der Atheroskleroseprophylaxe basiert auf der Kenntnis, daß Acetylsalicylsäure das Enzym Cyclooxygenase irreversibel hemmt. Im Thrombozyten ist das Enzym für die TXA₂-Synthese verantwortlich, in der Gefäßendothelzelle für die PGI₂-Synthese. Beobachtungen zeigen, daß die Wirkung von Acetylsalicylsäure auf die Gefäßendothelzellen nur kurzfristig und daher unvollständig ist, während sie bei den Thrombozyten 8–10 Tage beträgt. Ursache ist, daß Thrombozyten kernlos sind und keine neue Cyclooxyge-

nase bilden können und somit die Thrombopoese der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist, während demgegenüber die kernhaltigen Gefäßendothelzellen rasch neues Enzym nachbilden. Da TXA₂ proaggregatorisch auf Thrombozyten und konstriktorisch auf Gefäße wirkt, PGI₂ aber genau den entgegengesetzten Effekt hat, wirkt Acetylsalicylsäure antithrombotisch.

3.2 Leukozytenextravasation

Die Auswanderung von Leukozyten aus den Gefäßen in das Gewebe (Extravasation) ist neben der Bildung lokaler

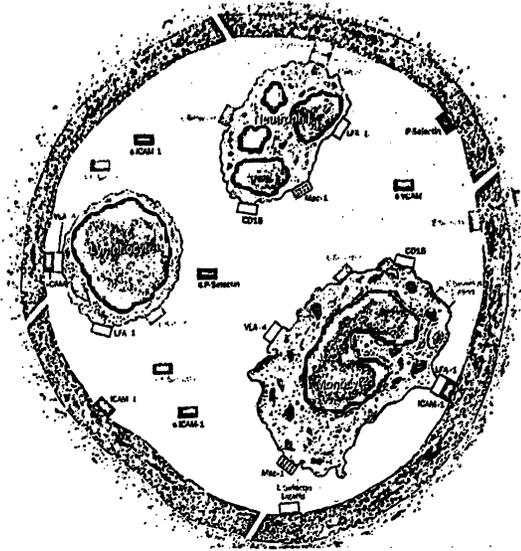


Abb.6: Adhäsive Glykoproteine (Selectine) und Adhäsionsproteine auf der Cytoplasmamembran von Entzündungszellen (PMN, Monozyten/Makrophagen, Lymphozyten) und Gefäßendothelzellen. (Abbildung entnommen von RD-Systems aus Science). Abkürzungen: LFA-1 = Leukocyte Function Associated-1 antigen, ICAM = Intercellular Adhesion Molecule, Mac-1 = Macrophage receptor for the complement component C3bi

Entzündungsmediatoren ein weiterer pathobiochemisch wichtiger Schritt der proinflammatorischen Phase (14, 15). Wichtige Teilschritte der Leukozytenextravasation sind:

- die Verlangsamung des Leukozyten in den postkapillären Venolen derart, daß er an der Gefäßwand entlangrollt.
- die Expression von Adhäsionsproteinen durch Leukozyten und das Gefäßendothel. Über diese wird der Leukozyt an die Gefäßwand gebunden.
- die Wanderung des Leukozyten durch die Gefäßwand und anschließend
- die Ausübung leukozytärer Funktionen am Entzündungsherd im Gewebe.

3.2.1 Aktivierung und Adhäsion von Leukozyten

Die Einbeziehung der Leukozyten, insbesondere der PMN, aber auch von Monozyten/Makrophagen und Lymphozyten in das inflammatorische Geschehen erfordert Veränderungen dieser Entzündungszellen und des Gefäßendothels, die in folgende Schritte untergliedert werden können:

- das Selectin-vermittelte Entlangrollen des Leukozyten am Gefäßendothel.
- die Aktivierung der Entzündungszellen und des Gefäßendothels unter Ausbildung von Oberflächenrezeptoren.
- die hochaffine Bindung und Rezeptor-vermittelte Adhäsion der Entzündungszellen an das Gefäßendothel als erster Schritt der Extravasation.

3.2.1.1 Selectine (16)

Leukozyten und Gefäßendothelzellen haben bestimmte, als Selectine bezeichnete Glykoproteine auf ihrer Mem-

branoberfläche (Tab.6). So kann z.B. das L-Selectin des PMN mit der Membranoberfläche der Gefäßendothelzelle reagieren und das E- und P-Selectin der Endothelzelle mit der Zellmembran des PMN (Abb.6), was insgesamt zu einem Entlangrollen des Leukozyten am Gefäßendothel führt. Wodurch eine verstärkte Expression der Selectine induziert wird, so daß eine Verlangsamung des Leukozyten in der allerfrühesten Phase eines entzündlichen Geschehens stattfinden kann, ist noch spekulativ. Das L-Selectin wird von der Zellmembran abgelöst, wenn der PMN aktiviert wird, Oberflächenrezeptoren ausbildet und fest an das Gefäßendothel bindet. P- und E-Selectin sind adhäsive Glykoproteine des Gefäßendothels und können PMN sowie Monozyten/Makrophagen mit niedriger Affinität binden.

P-Selectin ist in Granula der Endothelzelle gespeichert und kann innerhalb von Minuten exprimiert werden, z. B. nach Aktivierung durch Thrombin, Histamin, Substanz P und Peroxide. Die kurzfristige reversible P-Selectin-vermittelte Adhäsion des Leukozyten mit dem Endothel soll in Zusammenarbeit mit PAF erfolgen, der mit einem Rezeptor der G-Proteinfamilie des Leukozyten reagiert (Abb.7).

Das E-Selectin des Gefäßendothels, dessen Expression gleichfalls induzierbar ist, wird nicht im Cytoplasma gespeichert und muß neu synthetisiert werden. Die Expression erfolgt deshalb mit einer Verzögerung von mehreren Stunden.

Im Ablauf der Leukozytenextravasation treten Selectine frei in der Zirkulation auf und sind im Plasma meßbar. Die diagnostische Bedeutung der Selectinbestimmung ist in der klinischen Evaluation.

3.2.1.2 Adhäsionsproteine (17, 18)

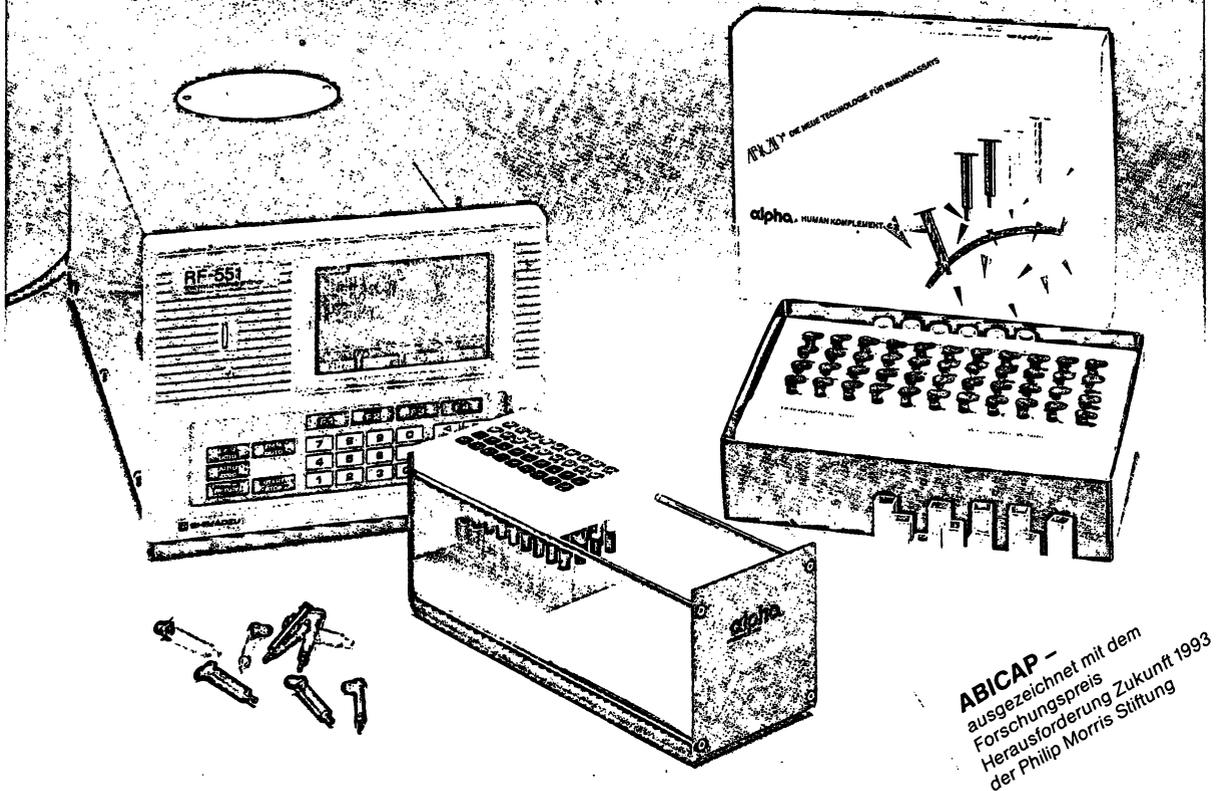
Die über P-Selectin und PAF vermittelte Bindung des PMN an das Gefäßendothel ist von nur geringer Affinität. Für die feste Bindung, die eine Voraussetzung der Leukozytenextravasation ist, sind spezifische Rezeptoren, sogenannte Adhäsionsproteine, auf dem Gefäßendothel und der Leukozytenmembran erforderlich (Abb.6). Sie werden exprimiert:

- auf der Membran des PMN nach Stimulation durch z. B. PAF, Leukotrien B₄, C5a und das bakterielle Produkt Formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanin (FMLP).
- am Gefäßendothel nach Stimulation durch z. B. TNF α , IL-1, Leukotriene, C5a und IL-8 ähnliche Moleküle. Für die jeweilig stimulierenden Substanzen haben Granulozyten und Endothelzellen Rezeptormoleküle.

Leukozytäre Adhäsionsproteine sind die Integrine LFA-1 (CD 11a), Mac-1 (CD 11b) und p150/95 (CD 11a/CD 18) (19). Sie reagieren mit den ICAM-1 und ICAM-2 Adhäsionsproteinen, die von der Gefäßendothelzelle exprimiert werden und Mitglieder der Immunglobulin-Superenfamilie sind. Während LFA-1 von allen Leukozyten exprimiert wird, sind Mac-1 und p150/95 nur auf PMN und Monozyten/Makrophagen zu finden.

LFA-1 bindet nicht nur mit korrespondierenden Adhäsionsproteinen des Gefäßendothels, sondern auch mit dem inaktiven Komplementprotein C3bi wenn dies an die Oberfläche von Bakterien angelagert ist.

Alpha Human-Komplementpeptidtest C3a (C3a des Arg) Quantitativ in 20 Min. mit ABICAP



ABICAP –
ausgezeichnet mit dem
Forschungspreis
Herausforderung Zukunft 1993
der Philip Morris Stiftung

o Schnelligkeit

quantitative Einzelbestimmung in 20 Minuten (30 Bestimmungen manuell in 40 Minuten).

ABICAP zur quantitativen Bestimmung von Antikörpern/Antigenen verbindet die Vorteile säulenchromatographischer Techniken mit der hohen Spezifität und Empfindlichkeit von Immunoassays.

ABICAP ist eine kleine, standardisierte, mit Antikörpern beladene analytische Säule für den Einmalgebrauch.

An der Trägermatrix im **ABICAP** ist ein Fangantikörper immobilisiert, der aus einer Probe den gesuchten Analyten bindet. Mittels eines FITC-markierten Zweitantikörpers wird nach Eluierung und Messung im Fluorometer anhand der beigefügten Eichkurve die Konzentra-

o Sicherheit

Variationskoeffizient kleiner 4%

tion des Analyten bestimmt.

ABICAP erreicht das Bindungsgleichgewicht in nur einer Minute und erlaubt damit eine Endpunktbestimmung.

Das zu den Anaphylatoxinen gehörende Komplementpeptid C3a besitzt ein hohes inflammatorisches Potential und ist kausal beteiligt an der Induktion und Aufrechterhaltung akut sowie chronisch entzündlicher Erkrankungen.

Eine quantitative Erfassung von C3a ist von diagnostischer Bedeutung bei Patienten mit ARDS-Risiko (Adult Respiratory Distress Syndrome), einem Lungenversagen infolge gramnegativer Sepsis, eines Poly-

o Einmaligkeit

Einzelbestimmungen sind ohne Standardvergleich möglich

traumas oder schwerer Verbrennungen. Normalwerte für C3a-Konzentrationen liegen bei gesunden Erwachsenen zwischen 50

Indikationen

- Frühdiagnostik eines ARDS (Adult Respiratory Distress Syndrome)
- bei septischem Schock (Outcome)
- Frühdiagnostik einer klinischen Exazerbation beim SLE (systemischer Lupus erythemathodes)
- Aktivitätsmarker der rheumatoiden Arthritis
- Kompatibilitätsprüfung von Biomembranen (z. B. Dialyse, Bubble oxygenator)

o Unabhängigkeit

von Temperatur, Zeit und Umgebungseinflüssen

und 150 µg/ml. **ABICAP** erlaubt die Bestimmung von C3a im Bereich von 10 bis 100 µg/ml.

alpha.
DIAGNOSTIC GMBH

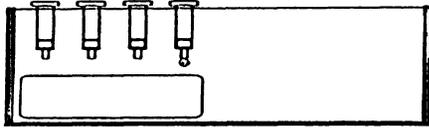
Siemensstraße 32
D-6070 Langen

Telefon 0 61 03/7 40 61
Telefax 0 61 03/7 93 20

ABICAP - Arbeitsschema

Komplement C3a (des Arg)

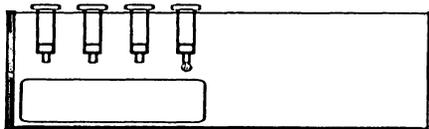
Farbkode: hellgrün



1. Vorbereitung

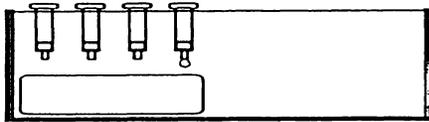
Zuerst obere, dann untere Verschlusskappe entfernen, ABICAP in Rack einsetzen, ca. 2 min. warten, bis keine Flüssigkeit mehr läuft.

Plasmaverdünnung 1:3 herstellen:
z. B. 100 µl Serum + 200 µl Waschpuffer W-500.



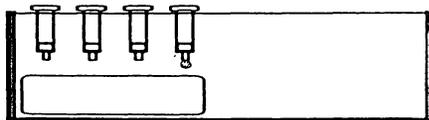
2. Probenaufgabe

250 µl der verd. Probe auftragen.
ca. 3 min. warten, bis keine Flüssigkeit mehr tropft



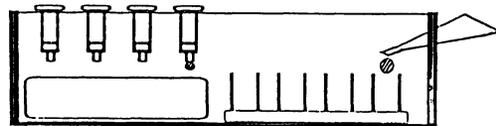
3. Erster Waschschrift

750 µl ABICAP Waschpuffer W-500 zugeben,
ca. 3 min. warten, bis keine Flüssigkeit mehr tropft.



4. Zugabe Zweitantikörper - Konjugat

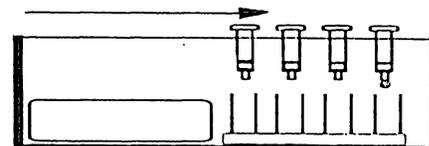
250 µl Gebrauchsverdünnung des Zweitantikörpers zugeben,
gemischt mit der Streptavidin/FITC-Lösung
(Mischung siehe Gebrauchsanleitung)
ca. 3 min. warten, bis keine Flüssigkeit mehr tropft.



5. Zweiter Waschschrift

750 µl ABICAP Waschpuffer W-500 auftragen,
ca. 3 min. warten, bis keine Flüssigkeit mehr tropft.
Waschschrift 1 x wiederholen.

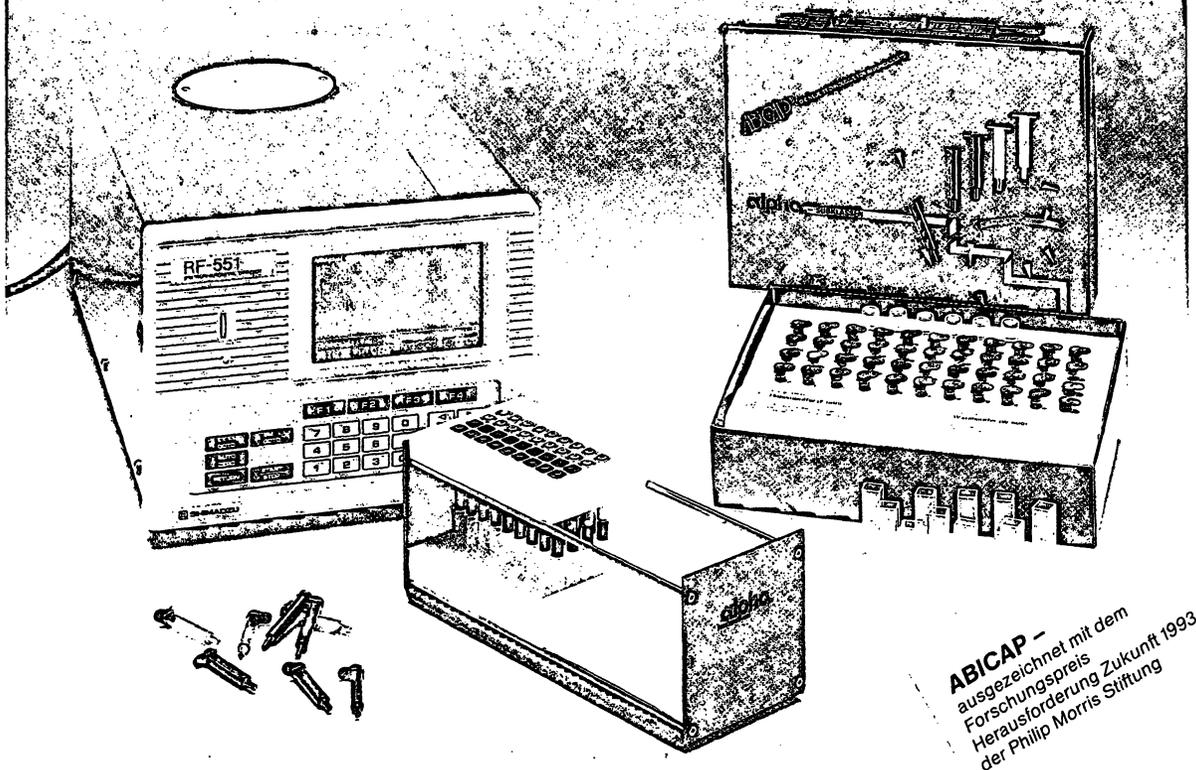
Im Eluatröhrchen 30 µl Neutralisationspuffer vorlegen.



6. Elution

Rack über die Reagenzgläser umpositionieren,
750 µl Elutionspuffer zugeben,
ca. 3 min. warten, bis keine Flüssigkeit mehr tropft.
Eluatröhrchen gut mischen, umfüllen in eine Küvette aus Acrylglas und messen.

IgG-Subklassen-Bestimmung quantitativ in 20 Minuten mit ABICAP



ABICAP –
ausgezeichnet mit dem
Forschungspreis
Herausforderung Zukunft 1993
der Philip Morris Stiftung

o Schnelligkeit

quantitative Einzelbestimmung in 20 Minuten (30 Bestimmungen manuell in 40 Minuten) –

ABICAP zur quantitativen Bestimmung von Antikörpern/Antigenen verbindet die Vorteile säulenchromatographischer Techniken mit der hohen Spezifität und Empfindlichkeit von Immunoassays.

ABICAP ist eine kleine, standardisierte, mit Antikörpern beladene analytische Säule für den Einmalgebrauch.

An der Trägermatrix im **ABICAP** ist ein Fangantikörper immobilisiert, der aus einer Probe den gesuchten Analyten bindet. Mittels eines FITC-markierten Zweitantikörpers wird nach Eluierung und Messung im Fluorometer anhand der beigefügten Eichkurve die Konzentra-

o Sicherheit

Variationskoeffizient kleiner 4%

tion des Analyten bestimmt.

ABICAP erreicht das Bindungsgleichgewicht in nur einer Minute. IgG macht bei gesunden Erwachsenen ca. 75% der Immunglobuline aus. Normalseren enthalten eine Mischung der vier IgG-Subklassen von ca. 65% IgG 1, 25% IgG 2, 5% IgG 3 und 5% IgG 4.

Antikörper gegen Viren gehören überwiegend zu den Subklassen 1 und 3, IgG 2 kommt hauptsächlich als Immunantwort auf Polysaccharide vor.

IgG 4 hat aufgrund seiner hohen Reaktionsfähigkeit auf wiederholten Kontakt mit Umweltantigenen große Aufmerksamkeit erlangt.

o Einmaligkeit

Einzelbestimmungen sind ohne Standardvergleich möglich

Indikationen

Pädiatrie: Rückfallinfektionen der Atemwege und des Darmes, IgA-Mangelzustände, fehlende Immunantwort nach Impfungen

Neurologie: virale Erkrankungen des ZNS, Multiple Sklerose, Autoimmunerkrankungen, Morbus Alzheimer

Pneumologie: Atemwegsinfekte, Bronchiektasen

Allergologie: Nahrungsmittelallergie, atop. Dermatitis, Mukoviszidose, Asthma bronchiale

Nephrologie: Glomerulonephritis, diabetische Nephropathie, diabetische Proteinurie

Virologie: Herpes, EBV, CMV, HIV, Varizella Zoster

Innere Medizin: Leberzirrhose, M. Crohn, Colitis ulcerosa

alpha[®]
DIAGNOSTIC GMBH

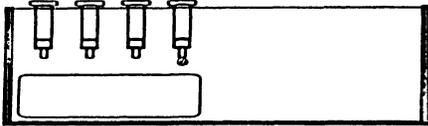
Siemensstraße 32
D-6070 Langen

Telefon 06103/74061
Telefax 06103/79320

ABICAP - Arbeitsschema

ABICAP - Farbcode

IgG₁ _____ rot
IgG₂ _____ grün
IgG₃ _____ blau
IgG₄ _____ gelb

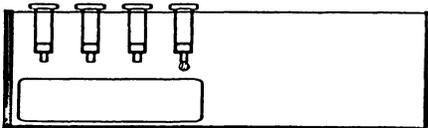


1. Vorbereitung

Zuerst obere, dann untere Verschlusskappe entfernen, ABICAP in Rack einsetzen, ca. 2 min. warten, bis keine Flüssigkeit mehr läuft.

Serumverdünnung 1:4000 herstellen:

z. B. 10 µl Serum + 990 µl Waschpuffer (1:100)
dann 40 µl der 1:100 Verd. + 1560 µl Waschpuffer (1:40)



2. Probenaufgabe

Von der 1:4000 verd. Serumprobe auftragen

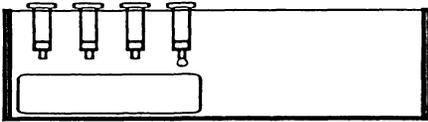
für Subklasse IgG₁ : 100 µl

für Subklasse IgG₂ : 100 µl

für Subklasse IgG₃ : 500 µl

für Subklasse IgG₄ : 500 µl

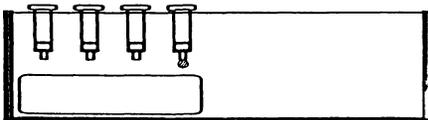
ca. 3 min. warten, bis keine Flüssigkeit mehr tropft



3. Erster Waschschrift

750 µl ABICAP Waschpuffer W-500 zugeben,

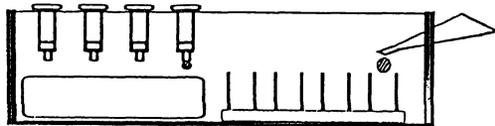
ca. 3 min. warten, bis keine Flüssigkeit mehr tropft.



4. Zugabe Zweitantikörper

250 µl Gebrauchsverdünnung des Zweitantikörpers zugeben,

ca. 2 min. warten, bis keine Flüssigkeit mehr tropft.

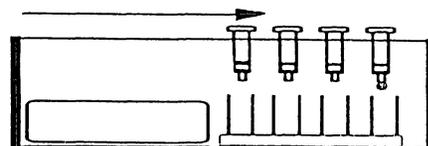


5. Zweiter Waschschrift

750 µl ABICAP Waschpuffer W-500 auftragen,

ca. 3 min. warten, bis keine Flüssigkeit mehr tropft.
Waschschrift 1 x wiederholen.

Im Reagenzglas 30 µl Neutralisationspuffer vorlegen.



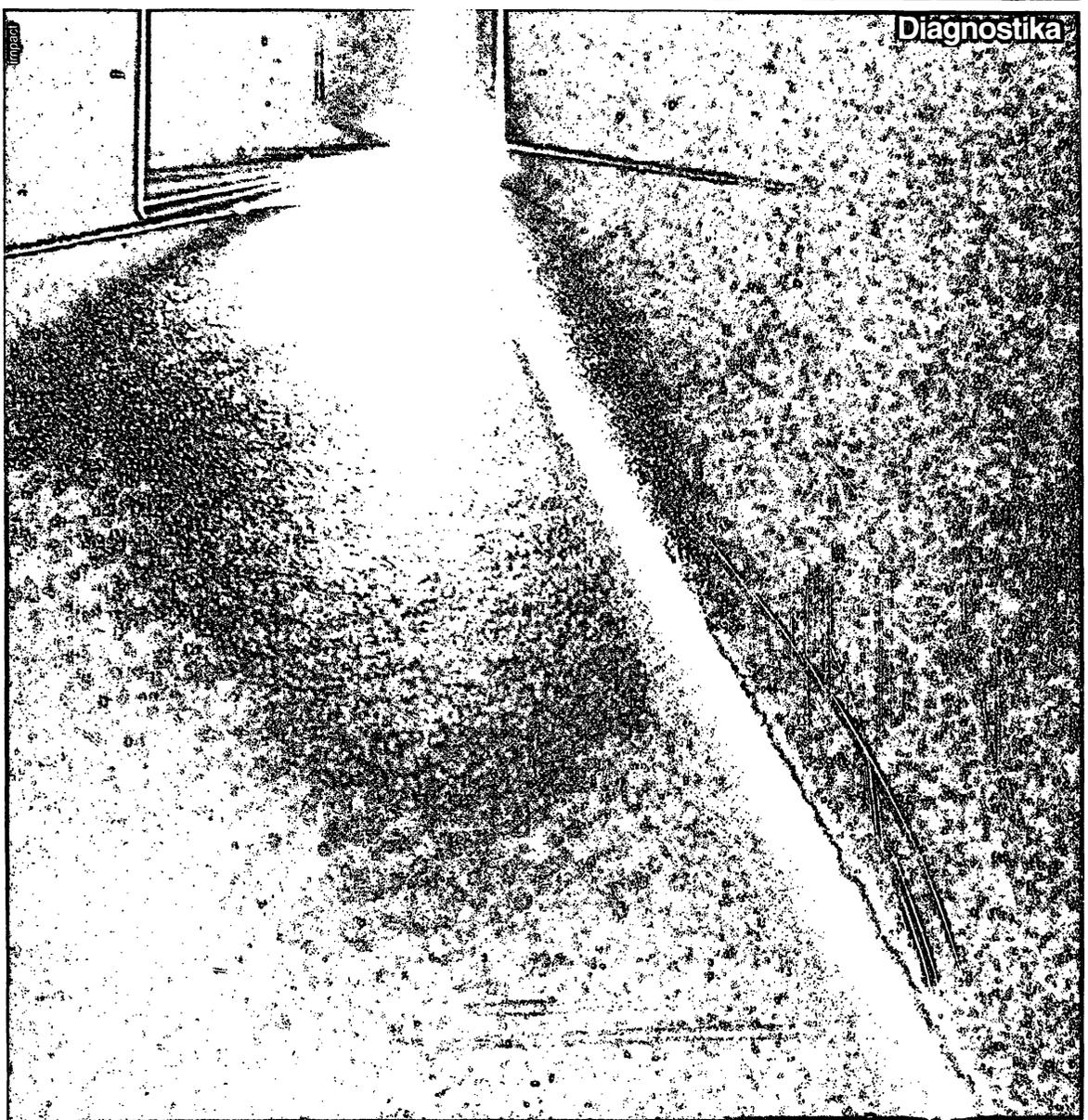
6. Elution

Rack über die Reagenzgläser umpositionieren,

750 µl Elutionspuffer zugeben,

ca. 3 min. warten, bis keine Flüssigkeit mehr tropft.

Eluatröhrchen gut mischen, umfüllen in eine Küvette aus Acrylglas und messen.



Ganz auf Ihrer Wellenlänge. Flow-Cytometrie von medac.

Zweifarb-Antikörper-Kits FITC + PE

Dreifarb-Antikörper-Kits FITC + PE + TRI-Color

medac

Gesellschaft für klinische Spezialpräparate mbH · Fehlandtstraße 3 · D-2000 Hamburg 36
Tel. 040/350902-0 · Fax 040/350902-61

Excellent manuals for the medical laboratory!

J.H. Peters
H. Baumgarten
(Eds.)

Monoclonal Antibodies



J. H. Peters, H. Baumgarten (Eds.)

Monoclonal Antibodies

Foreword by G. Köhler

Drawings by R. Gieseler

Translated by P. Debbage

1992. XVII, 488 pp. 74 figs. (Springer Laboratory)
Hardcover DM 102,- ISBN 3-540-50843-0

Procedures for hybridoma generation as well as detailed test protocols for the characterization and application of monoclonal antibodies are featured in this manual designed especially for use at the lab bench. Immunization, cell preparation, hybridization, cell culture and the cloning of hybridomas, the prevention of back-mutation, purification, labeling, and the characterization of the antibodies obtained are just a sample of keywords taken from the contents.

H.-J. Gabius, S. Gabius (Eds.)

Lectins and Glycobiology

1993. Approx. 550 pp. 128 figs. 57 tabs.
(Springer Laboratory) Hardcover DM 168,-
ISBN 3-540-56211-7

The role of lectins and glycoconjugates in various cellular processes is receiving increasing interest. Since many cellular glycoconjugates are ligands for lectins, they are used as efficacious tools in biochemistry and cell research. **Lectins and Glycobiology** provides all relevant techniques to investigate the structure and function of lectins and their various reactions.

G. R. Newman, J. A. Hobot

Resin Microscopy and On-Section Immunocytochemistry

1993. Approx. 200 pp. (Springer Laboratory)
Hardcover DM 68,- ISBN 3-540-56429-2

For the first time, fixation, resin embedding and immunocytochemistry, the subjects of innumerable publications, have been organised into a comprehensive and coherent scheme showing how the various methodologies inter-relate. The authors explain the background and theory to them. General theoretical and practical considerations provide an overall understanding of the whole subject enabling informed choices to be made so that projects can be accurately planned.



Springer

Prices are subject to change without notice. All prices for books and journals include 7% VAT. In EC countries the local VAT is effective.

rb.737/BNST/V/1

Springer-Verlag □ Heidelberger Platz 3, W-1000 Berlin 33, F. R. Germany □ 175 Fifth Ave., New York, NY 10010, USA □ 8 Alexandra Rd., London SW19 7JZ, England □ 26, rue des Carmes, F-75005 Paris, France □ 37-3, Hong Kong 3-chome, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan □ Room 701, Mirror Tower, 61 Mody Road, Tsimshatsui, Kowloon, Hong Kong □ Avinguda Diagonal, 468-4°C, E-08006 Barcelona, Spain □ Wesselényi u. 28, H-1075 Budapest, Hungary

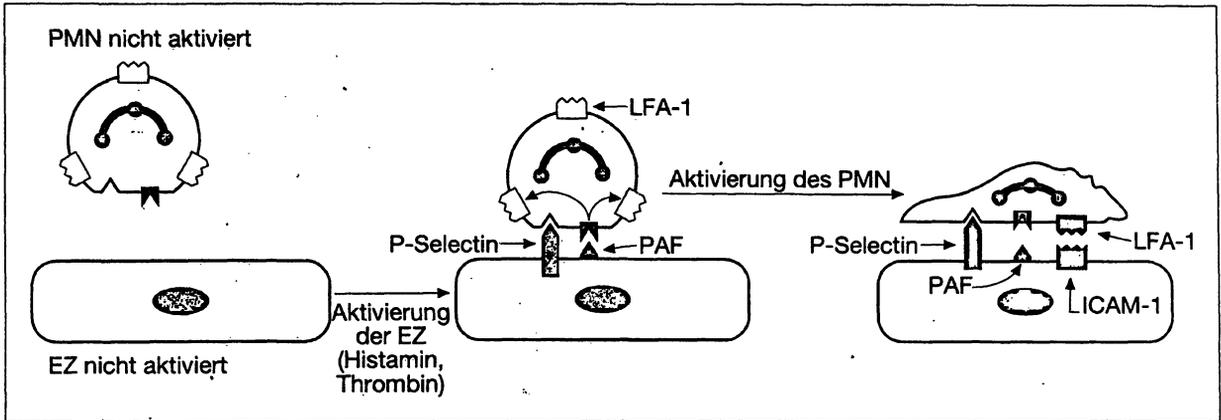


Abb. 7: PMN-Adhäsion an Thrombin- oder Histamin-aktivierten Endothelzellen (EZ) (modifiziert nach Lit. 15). Durch Aktivierung der EZ exprimiert diese innerhalb von Minuten P-Selectin und PAF. P-Selectin und PAF binden jeweils an einen Rezeptor des PMN. Durch PAF induziert wird der PMN in einen aktivierten Zustand versetzt und z.B. das Adhäsionsprotein LFA-1 so verändert, daß es mit dem korrespondierenden Adhäsionsprotein der EZ bindet

3.3 Leukozytäre Funktionen im entzündlichen Gewebe

Die Bindung von PMN an das Gefäßendothel und die Migration in das Gewebe geht vorwiegend von den postkapillären Venolen aus. Im Gewebe verursachen die PMN inflammatorische Veränderungen durch die Freisetzung von Entzündungsmediatoren und phagozytieren, vermittelt durch Komplement (C3bi)- und Immunglobulin (Fc)-Rezeptoren, Mikroorganismen und Gewebetrümmer.

Bei der Phagozytose umfließt der PMN die Fremdsubstanz unter Ausbildung eines Phagosoms. Anschließend kommt es durch Degranulation des PMN zur Freisetzung von Substanzen in das Phagosom und nach außerhalb der Zelle in das Gewebe. Folgende wichtige Substanzen werden freigesetzt:

- Myeloperoxidase, kationische Proteine, saure Hydrolasen; sie haben digestive und mikrobizide Funktionen.
- Lysozym, Elastase, Kollagenasen und weitere Enzyme mit hydrolysierender Wirkung auf Gewebefasern.
- Rezeptoren wie Complement Rezeptor 1 (CR1), CR3 und Rezeptoren für N-Formylpeptide. Durch Translokation dieser Rezeptoren auf die Cytoplasmamembran werden die Funktionen des PMN wie Adhäsion, Chemotaxis, Phagozytose und „respiratory burst“-Aktivität gesteuert (20).

3.3.1 Oxidativer burst

Während der Phagozytose läuft in den PMN ein sogenannter oxidativer burst ab, d.h. es werden freie Sauerstoffradikale gebildet, die sowohl in die Phagosomen als auch nach außen abgegeben werden.

Der oxidative burst wird durch die Aktivierung der NADPH-Oxidase ausgelöst (Abb.8). Sie ist an eine Atmungskette gekoppelt und überträgt freie Elektronen auf Sauerstoff unter Bildung von Superoxidanionen und NADP^+ . Letzteres wird zur Bildung von NADPH in den Pentosephosphatzyklus eingeschleust. Durch Wirkung der Superoxiddismutase entsteht H_2O_2 . Aus dem H_2O_2 werden im Rahmen des oxidativen burst Zwischenprodukte mit bakterizider und zellzerstörender Wirkung gebildet, und zwar:

- Hydroxylradikale (OH^\cdot) in der Gegenwart von Eisen und Kupfer
- und Hypochloridionen (OCl^-) katalysiert durch die Myeloperoxidase.

Die Produkte des oxidativen burst können unschädlich gemacht werden durch (Abb.8):

- Aktivierung der Katalase, es entstehen $\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$.
- Aktivierung der Glutathionperoxidase, die aus H_2O_2 oxidiertes Glutathion und H_2O bildet. Auf den genannten Wegen schützen sich die PMN vor Autooxidation.

3.3.2 Elastase

Im Rahmen des oxidativen burst und der PMN-Degranulation werden OH^\cdot , OCl^- und Enzyme, darunter die Serinprotease Elastase auch in das Gewebe abgegeben. Sie haben auf dieses eine schädigende Wirkung, werden aber rasch durch Proteine gebunden und deaktiviert. Die Elastase wird durch Bindung an den in der interstitiellen Flüssigkeit vorhandenen α_1 -Proteinaseinhibitor (α_1 -PI) α_1 -Antitrypsin inaktiviert, der 80–90% der von PMN freigesetzten Elastase bindet. Freie Elastase kommt praktisch nicht im Gewebe vor, denn α_1 -Antitrypsin ist ein Akute-Phase-Protein, dessen Konzentration in der Interstitialflüssigkeit parallel der Entzündungsaktivität ansteigt.

Bei starken Infektionen, Sepsis und Schock können die PMN so stark aktiviert sein, daß sie den gesamten Gehalt ihrer Granula freisetzen. Dadurch werden Methioninreste des α_1 -PI oxidiert, wodurch die Fähigkeit der Elastasehemmung verlorengeht (21). Die große freigesetzte Elastaseaktivität wird nicht mehr gehemmt und löst Gewebeschäden durch die Hydrolyse von kollagenen und elastischen Fasern aus. Besonders empfindlich sind die Schockorgane Lunge, Leber, Niere.

Die Messung der PMN-Elastase-Konzentration im Plasma gibt Auskunft über den Aktivierungszustand der PMN im entzündlichen Gewebe. Die Elastase ist kein allgemeiner Entzündungsmarker wie die Leukozytenzahl und hat folgende wesentliche Indikationen (Tab.7):

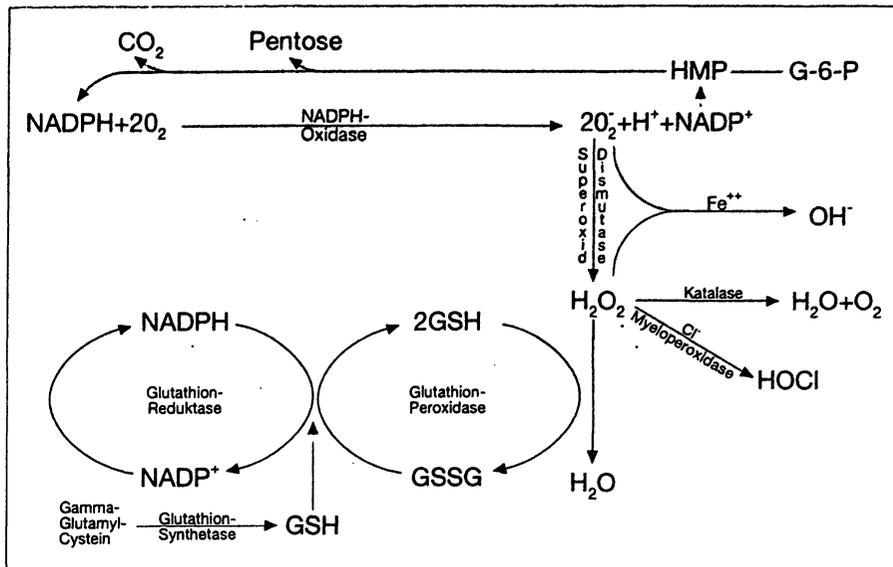


Abb. 8: Oxidativer burst der PMN (modifiziert nach Lit. 20). Über den Hexosemonophosphatshunt (HMP), auch als Pentosephosphatzyklus bekannt, wird NADPH generiert. NADPH liefert die Elektronen zur Bildung von Superoxidionen (O_2^-), aus denen die Hydroxylradikale (OH^-) und die Hypochloridionen (OCl^-) gebildet werden. G6P = Glucose-6-Phosphat, GSH = Glutathion, GSSG = oxidiertes Glutathion

– Intensivmedizin; prognostischer Marker für Komplikationen bei postoperativen und posttraumatischen Patienten. Ein Wert über $85\mu g/l$ zwischen dem 3. und 8. Tag weist auf eine Komplikation an den darauffolgenden Tagen hin. Bei Entzündungsprozessen, die länger als drei Wochen andauern, ist die Elastasekonzentration kein Maßstab der Schwere des Krankheitsprozesses mehr (22).
 – neonatale Sepsis oder Meningitis; ein Wert über $75\mu g/l$ in den ersten 10 Lebenstagen weist darauf hin (23).
 – Abgrenzung bakterieller von viralen Infektionen bei Kindern. Werte über $65\mu g/l$ sprechen für die bakterielle Genese (23).

4.0 Systemische Phase

Die proinflammatorische Sekretion von Cytokinen durch aktivierte Monozyten/Makrophagen am Entzündungsherd ist nach der PLA_2 -induzierten Bildung lokaler Entzündungsmediatoren und der Leukozytenextravasation pathobiochemisch der dritte wichtige Schritt der Entzündungsreaktion (Abb. 2). Werden in Abhängigkeit von der Entzündungsursache und dem Entzündungsmodus Konzentrationen inflammatorischer Cytokine von 10^{-14} bis 10^{-9} Mol/l im Plasma erreicht, kommt es zur Auslösung einer systemischen Reaktion. Viele Organsysteme werden in das Entzündungsgeschehen mit einbezogen. Wichtige inflammatorische Cytokine sind $TNF\alpha$, IL-1, IL-2 und IL-6. Sie werden neu synthetisiert und haben regulatorische Funktion auf inflammatorische und immunologische Reaktionen im Ablauf des entzündlichen Geschehens (24, 25).

Die inflammatorischen Cytokine haben ein vergleichbares Wirkungsspektrum und sind an vielen Reaktionen synergistisch oder additiv beteiligt. Nicht selten wird ihre Wirkung durch den gegenregulatorischen Effekt eines anderen Cytokins oder Entzündungsmediators überspielt oder aufgehoben.

Bei Auslösung der systemischen Reaktion soll $TNF\alpha$ die Bildung von IL-1 induzieren und beide gemeinsam die

jenige von IL-6. Alle drei Marker zeigen aufgrund einer kurzen Halbwertszeit von nur wenigen Minuten einen raschen Konzentrationsanstieg im Plasma und sollten theoretisch einen sehr frühen Entzündungsnachweis erlauben.

Die inflammatorischen Cytokine vermitteln ihre Signalwirkung auf Effektorzellen über spezifische Membranrezeptoren. Dabei handelt es sich meist um Glykoproteine, die bei Aktivierung der Zelle durch das Cytokin neu synthetisiert und danach extrazellulär abgegeben werden. So wird z. B. die aktivierende Wirkung von IL-2 auf T-Lymphozyten durch einen Anstieg des löslichen IL-2-Rezeptors (sIL-2R) im Plasma signalisiert. sIL-2R ist aufgrund seiner längeren Halbwertszeit ein besserer Indikator der Aktivierung als die Konzentration von IL-2.

4.1 Tumornekrosefaktoren (TNF)

TNF haben ein Molekulargewicht von 17 Kilodalton, ihre Gene sind in der Nähe der MHC-Region auf dem 6. Chromosom lokalisiert. Unterschieden werden $TNF\alpha$ und $TNF\beta$. Beide Polypeptide haben eine gewisse Aminosäuresequenzhomologie. $TNF\alpha$ und $TNF\beta$ werden zwar von verschiedenen Zelltypen gebildet, binden aber beide an die bisher bekannten zwei TNF-Rezeptoren (26–28). TNF, auch

Tab. 7: Bedeutung der PMN-Elastase

- Gemessen wird die Konzentration des Elastase- α -PI-Komplexes
- Die Plasmakonzentration liefert eine Aussage über den Aktivierungszustand der PMN im entzündlichen Gewebe
- Indikationen
 1. prognostischer Parameter für Komplikationen bei postoperativen Patienten.
 2. Verdacht auf neonatale Sepsis.
 3. Abgrenzung bakterieller von viralen Infektionen bei Kleinkindern.

als Kachektin bezeichnet, wurde früher als Anti-Tumor-substanz angesehen, daher der Name Tumornekrosefaktor. Alle Körperzellen, außer den Erythrozyten, haben Rezeptoren für TNF. Die Gefäßendothelzelle soll die größte Sensitivität für TNF haben (28). Wenn TNF mit seinem Rezeptor reagiert, kommt es zur Auslösung vieler biologischer Funktionen, die noch für 24–36 Std. nach Ablösung des TNF vom Rezeptor andauern.

4.1.1 TNF α

TNF α hat folgende wesentliche Funktionen:

- proinflammatorisch verstärkt er die Leukozytenextravasation durch Stimulierung der Expression von Adhäsionsmolekülen (siehe 3.2.1.2). Außerdem aktiviert TNF α die Phagozytose und Zytotoxizität dieser Zellen.
- er initiiert die systemische Phase der Entzündungsreaktion, unter anderem durch Stimulierung der Synthese von IL-1, IL-6, IL-2 und der Eigensynthese.
- er wirkt immunregulatorisch durch Verstärkung der Antigen- und Mitogen-induzierten T-Lymphozytenproliferation, durch Aktivierung der Expression von MHC-Klasse-II-Antigenen auf CD4⁺-Zellen und der Expression des sIL-2R. TNF α aktiviert außerdem die Proliferation von T-Zellen, insbesondere zytotoxischer Lymphozyten (29).

Die diagnostische Bedeutung der TNF α -Konzentrationsbestimmung im Plasma und in Körperflüssigkeiten ist nicht klar umrissen. Folgende mögliche Indikationen sind in klinischer Evaluation:

- prognostischer Parameter beim septischen Schock. In der frühen Schockphase sollen Nichtüberlebende höhere TNF α -Werte als Überlebende haben. Die Überlappung ist aber groß (30). In einer anderen Studie an Patienten mit intraabdominal bedingter Sepsis hatten diejenigen, die die Intensivstation lebend verlassen haben, in den letzten 12 Tagen signifikant höhere TNF α -Konzentrationen als die Patienten mit letalem Ausgang (31).
- Aktivitätsparameter bei AIDS. Die TNF α -Konzentration im Plasma korreliert mit der Krankheitsaktivität (32).
- Akute-Phase-Parameter bei Infektionskrankheiten wie Masern (33) und Parasitosen.
- prognostischer Parameter bei Lebertransplantation. TNF α -Werte über 100 pg/ml nach Beendigung der Transplantation waren in einer Studie (34) in 82% der Fälle mit einer Transplantatabstoßung verbunden.

4.1.2 TNF β

Eine bekannte Funktion von TNF β während der systemischen Phase eines Infektionsgeschehens ist die Suppression der Synthese bestimmter Plasmaproteine, der sogenannten Anti-Akute-Phase-Proteine, in der Leber (Abb. 2). Es handelt sich um Proteine wie Präalbumin, Albumin, Lipoproteine und Transferrin. Wahrscheinlich greift TNF β auf der Ebene der Transkription in die Proteinsynthese ein.

Die quantitative Bestimmung von TNF β im Plasma und in Körperflüssigkeiten ist klinisch zur Zeit nicht bedeutsam.

4.2 Interleukin 1 (IL-1)

IL-1, auch als Alarmcytokin bezeichnet, spielt eine zentrale Rolle im Netzwerk der Cytokine. Es wird von Monozyten/

Makrophagen, Endothelzellen, Epithelzellen und Fibroblasten gebildet. IL-1 ist ein Peptid mit dem Molekulargewicht von 17 Kilodalton und kommt in zwei Formen vor, IL-1 α und IL-1 β . Beide Formen haben nur eine geringe Aminosäuresequenzhomologie, sind aber in den biologischen Funktionen ähnlich. Es gibt zwei verschiedene IL-1-Rezeptoren (IL-1R):

- IL-1RI hat ein Molekulargewicht von 80 Kilodalton und wird von T-Zellen, Fibroblasten und Endothelzellen exprimiert.
- IL-1RII hat ein Molekulargewicht von 60 Kilodalton und ist vorwiegend auf B-Zellen, Monozyten und PMN lokalisiert (35).

Beide IL-1R gehören der Immunglobulinsuperge-Familie an, nach Bindung von IL-1 an seinen Rezeptor wird der Rezeptor-Ligandenkomplex in die Zelle aufgenommen und das Proteinkinase-C-Signalübermittlungssystem aktiviert (36).

IL-1 hat systemische und proinflammatorische (lokale) Effekte. Erstere werden von IL-1 β ausgelöst, dessen Produktion von TNF α reguliert werden soll. Wesentliche Funktionen von IL-1 im inflammatorischen Geschehen sind:

- Induktion der Synthese von chemotaktisch wirksamen Mediatoren wie Prostanoiden und Cytokinen (IL-8, IL-9) und von IL-6, das die Synthese von Akute-Phase-Proteinen in den Hepatozyten anschaltet.
- Stimulierung der Expression von Komplementrezeptoren auf PMN und Monozyten/Makrophagen, dadurch Steigerung der Phagozytoseleistung.
- Stimulierung der Expression von Adhäsionsmolekülen auf Leukozyten und Gefäßendothelzellen und somit Förderung der Leukozytenextravasation.
- Aktivierung des Gefäßendothels zur Umwandlung von einer antikoagulant in eine prokoagulatorische Oberfläche.
- Einbeziehung von Organsystemen in das Infektionsgeschehen, z.B. Temperaturregulationszentrum mit Ausbildung von Fieber, Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse mit vermehrter Sekretion von Glucocorticoiden, Knochenmark mit verstärkter Ausschüttung von Zellen, insbesondere PMN.

Die Indikation von IL-2-Bestimmungen im Plasma und den Körperflüssigkeiten ist noch nicht eindeutig. So werden zwar z.B. hohe Werte von IL-1 β bei Patienten mit Fieber und septischem Schock (37) im Plasma und bei aktiver rheumatischer Arthritis im Plasma und der Synovialflüssigkeit (38) und bei bakterieller Meningitis im Liquor (39) gefunden, differentialdiagnostische Wertigkeit haben solche Befunde jedoch noch nicht.

4.3 Interleukin 6 (IL-6)

IL-6 hat ein Molekulargewicht von 26 Kilodalton und ist ein multifunktionelles Cytokin mit regulativer Wirkung auf die Akute-Phase-Reaktion, die Immunantwort und die Hämatopoese (40). Proinflammatorisch wird IL-6 von aktivierten Monozyten/Makrophagen synthetisiert. Auch andere Zellen können IL-6 bilden nach der Stimulation durch IL-1 und TNF α , z.B. Endothelzellen, Fibroblasten, T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, Keratinozyten, Schilddrüsenepithelzellen und Tumorzellen (40, 41).

IL-6 wirkt über einen Rezeptor in der Cytoplasmamembran. Es soll sich um ein Glykoprotein von 80 Kilodalton handeln (40).

4.3.1 IL-6 und Immunantwort

IL-6 wirkt synergistisch mit IL-1 bei der T-Zell-abhängigen Immunantwort und der nachfolgenden T-Zellproliferation. Es ist involviert in den terminalen Reifungsschritt von der B-Zelle in die Antikörper-produzierende Plasmazelle. IL-6 ist ein autokriner Wachstumsfaktor für Myelomzellen (42), und die IL-6-Konzentration im Plasma zeigt beim multiplen Myelom und der Plasmazell-Leukämie eine direkte Korrelation mit der Schwere der Erkrankung (43).

4.3.2 IL-6 und Hämatopoese

IL-6 verstärkt die IL-3-induzierte Proliferation hämatopoetischer Stammzellen und hat z.B. Granulozyten-, Monozyten- und Megakaryozyten-Kolonie-stimulierende Aktivitäten (44). Hohe IL-6-Konzentrationen im Plasma werden bei Promyelozytenleukämie gemessen (45).

4.3.3 IL-6 und Akute-Phase-Reaktion

IL-6 spielt als „second messenger“ von TNF α und IL-1 eine wichtige Rolle in der Akute-Phase-Reaktion. Diese ist ein Bestandteil der systemischen Phase einer Entzündungsreaktion und kann labordiagnostisch an einem mehr als 25prozentigen Anstieg bestimmter Proteine im Plasma erkannt werden. Diese, auch als Akute-Phase-Proteine genannte Proteingruppe wird in der Leber von den Hepatozyten synthetisiert, wenn IL-6 an seinen Rezeptor bindet.

Die Expression von IL-6-Rezeptoren auf der Hepatozytenmembran wird aktiviert durch Glucocorticoide (diese werden durch Einwirken des Alarmcytokins IL-1 auf die Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse verstärkt sezerniert), IL-1, IL-6 und Lipopolysaccharide (46).

Die genetische Steuerung der Akute-Phase-Proteinsynthese läuft über zwei bisher bekannte Wege (47):

- einer aktiviert HLA-Klasse-I-Gene; C-reaktives Protein (CRP), Serumamyloid-A-Protein (SAA) und Komplement C3 sind typische Syntheseprodukte dieses Weges.
- der andere Weg wird vermittelt HLA-A-Klasse-II-Genen reguliert; typische Plasmaproteine, die über diese Regulation synthetisiert werden, sind α_1 -Antitrypsin, Fibrinogen und α_2 -Makroglobulin (Untersuchungen an der Ratte).

IL-6 schaltet die Synthese der Akute-Phase-Proteine auf der Ebene der Transkription an.

4.3.4 IL-6 bei entzündlichen Erkrankungen

Bei akuten Entzündungen ist IL-6 der direkte Vorläufer der Akute-Phase-Proteine. Aufgrund seiner kurzen Halbwertszeit von etwa 19 min und der maximalen Anstiege von unter 10 ng/l bis auf Werte über 1000 ng/l nach etwa 4 Std. bei z.B. bakteriellen Infektionen, ist es theoretisch der dynamischere Indikator einer Entzündungsreaktion im Vergleich zu den Akute-Phase-Proteinen. Entsprechende klinische Untersuchungen fehlen aber noch. Als mögliche Indikationen der IL-6-Bestimmung können z.B. gelten:

- die Abschätzung des chirurgischen Traumas nach Operationen. So soll die IL-6-Konzentration im Plasma mit der Schwere des operativen Traumas korrelieren (48).
- die Beurteilung der Schwere einer akuten Pankreatitis. Nekrotisierende Formen haben höhere IL-6-Plasmakonzentrationen als unkomplizierte Verläufe (49).
- entzündliche Lebererkrankungen (50). Bei Patienten mit akuter alkoholischer Hepatitis korreliert die Höhe der IL-6-Konzentration im Plasma mit der Krankheitsaktivität (51).
- nach Lebertransplantation am Ende der Operation gemessene IL-6-Konzentrationen über 800 ng/l wiesen in 75% der Fälle auf eine Infektion in den darauffolgenden 10 Tagen hin (34).
- die Erfassung der Frühphase eines Entzündungsschubes bei seropositiver chronischer Polyarthrit. In einer Studie (52) wurden in 30% der Fälle erhöhte IL-6-Konzentrationen im Plasma gemessen. Andere Studien geben höhere Prozentsätze an.
- entzündliche Darmerkrankungen (25). Erhöhte Konzentrationen von IL-6 im Plasma werden häufiger bei M. Crohn als bei Colitis ulcerosa gefunden. Beim M. Crohn liegt eine positive Korrelation von IL-6-Konzentration und dem van Hees-Index, einem Marker der Entzündungsaktivität, vor (25).

4.4 Interleukin 2 (IL-2) und IL-2-Rezeptoren (IL-2R)

Die Aktivierung ruhender, nicht in eine Immunreaktion einbezogener T-Lymphozyten zu reifen aktivierten T-Zellen, erfordert die Synthese von Interleukinen und deren Bindung an korrespondierende Rezeptoren auf der Cytoplasmamembran der T-Zellen. So aktiviert von Monozyten/Makrophagen gebildetes IL-1 die T-Lymphozyten zur Bildung von IL-2 und der Expression von IL-2-Rezeptoren. Die Bindung von IL-2 an seinen korrespondierenden Rezeptor induziert die Proliferation der T-Zellen. Die Sekretion von IL-2 erfordert jedoch nicht nur IL-1, sondern auch die HLA-restringierte Erkennung eines von Makrophagen präsentierten Antigens durch den T-Zell-Antigenrezeptor (53, 54).

IL-2 ist mit 15 Kilodalton ein relativ kleines Molekül und wird nur von lymphatischen Zellen gebildet. Neben seiner Funktion als T-Lymphozytenstimulator aktiviert IL-2 auch NK-Zellen, verstärkt die zytotoxische Potenz von Monozyten/Makrophagen und fungiert als Differenzierungsfaktor bei der B-Zellreifung.

Die bei der Aktivierung von T-Zellen gebildeten IL-2-Rezeptoren werden nicht nur auf die Cytoplasmamembran exprimiert, sondern ebenfalls in größeren Mengen in die interstitielle Flüssigkeit und damit auch in das Plasma abgegeben und sind dort als lösliche IL-2-Rezeptoren (sIL-2R) nachweisbar. Die Bestimmung der Konzentration von sIL-2R wird als ein frühes und besseres Zeichen der T-Zellaktivierung erachtet als die Konzentrationsbestimmung von IL-2.

4.4.1 Löslicher Interleukin-2-Rezeptor (sIL-2R)

Der auf die Cytoplasmamembran exprimierte IL-2-Rezeptor besteht aus einer α - und einer β -Kette. Die α -Kette hat ein Molekulargewicht von 55 Kilodalton, wurde durch den monoklonalen Antikörper anti-Tac charakterisiert und wird deshalb auch als Tac-Protein bezeichnet. Die β -Kette hat ein Molekulargewicht von 75 Kilodalton. Der komplette

Rezeptor aus α - und β -Kette bindet IL-2 mit hoher Affinität (1×10^{-11} Mol/l), die β -Kette bindet mit mittlerer Affinität (5×10^{-9} Mol/l) und die α -Kette (Tac-Protein) mit niedriger Affinität (1×10^{-8} Mol/l). Ruhende T-Zellen haben nur die β -Kette, diese hat Signalfunktion in das Zellinnere. Das Tac-Protein hat keine Signalfunktion und wird erst nach Aktivierung der T-Zelle gebildet. Es hat Helferfunktion und in kooperativer Interaktion mit der schon bestehenden β -Kette bildet es den hochaffinen membranständigen IL-2-Rezeptor.

Der lösliche IL-2-Rezeptor (sIL-2R) hat ein Molekulargewicht von 45 Kilodalton. Es handelt sich um die verstümmelte aber noch voll glykosylierte Form des Tac-Proteins, die wahrscheinlich durch enzymatische Spaltung des membranständigen IL-2-Rezeptors freigesetzt wurde (55). Es besteht eine positive Korrelation zwischen dem Ausmaß der Lymphozytenaktivierung und der Plasmakonzentration von sIL-2R. Die obere Grenze des sIL-2R beim Gesunden ist 650 U/ml (56).

Die Bestimmung von sIL-2R als Indikator der T-Zellaktivierung kann zur Beurteilung der Immunaktivierung bei Krankheiten genutzt werden. Dies hat z. B. eine Bedeutung bei Autoimmunerkrankungen, infektiösen und malignen Erkrankungen des lymphatischen Systems sowie Organtransplantationen. Die Verlaufsbeurteilung der sIL-2R-Konzentration kann bei diesen Erkrankungen helfen, die Krankheitsprogression oder die Effektivität einer Therapie zu beurteilen.

Als mögliche Indikationen der sIL-2R-Bestimmung können z. B. gelten:

- virale Erkrankungen. Im akuten Stadium ist die Plasmakonzentration erhöht bei Patienten mit Masern, infektiöser Mononukleose, Kawasaki-Syndrom, HIV-positiver Lymphadenopathie (55).
- die rheumatische Arthritis (RA). Im Vergleich zu Patienten mit Osteoarthritis haben RA-Patienten höhere sIL-2R-Werte. Es soll eine positive Korrelation zwischen der sIL-2R-Konzentration und der Krankheitsaktivität vorliegen (52, 55, 57).
- der systemische Lupus erythematodes (SLE). Die Konzentration von sIL-2R ist ein Indikator der Krankheitsaktivität (55), besonders, wenn die Nieren involviert sind. So korreliert bei Lupusnephritis sIL-2R positiv sowohl klinisch als auch histologisch mit der Krankheitsaktivität. Patienten mit einer aktiven Form hatten im Mittel Werte über 1000 U/ml (58).
- die Wegnersche Granulomatose. Bei dieser Erkrankung korreliert die Plasmakonzentration von sIL-2R positiv mit der Krankheitsaktivität. sIL-2R sind bei Wegnerscher Granulomatose immer erhöht und bei der generalisierten Form im Mittel 5fach. Auch in der Remission ist der Wert noch etwa 2fach erhöht. Bei einem drohenden Rückfall können die Werte schon Monate vorher ansteigen (59).
- der Morbus Basedow. Patienten mit erhöhten sIL-2R-Werten zeigten eine bessere Ansprechbarkeit auf Dexamethason als Patienten mit niedrigen (56).
- die Verlaufsbeurteilung Nierentransplantierte. Bei Abstoßungskrisen sind sIL-2R und TNF α signifikant erhöht, ebenfalls bei Cytomegalieinfektion und Urämie. Eine Unterscheidung zwischen Cytomegalieinfektion mit oder ohne Abstoßung kann nicht getroffen werden. Eine Cyclosporin-A-Nephrotoxizität kann jedoch ausgeschlossen

werden, wenn die sIL-2R-Werte und die Werte von TNF α gleich denjenigen bei unkomplizierter Nierentransplantation sind (69).

- maligne hämatologische Erkrankungen. Bei Hodgkin- und malignen Non-Hodgkin-Lymphomen soll die sIL-2R-Konzentration positiv mit der Krankheitsaktivität korrelieren. sIL-2R-Werte unter 1000 U/ml weisen auf eine gute therapeutische Ansprechbarkeit und hohe 5-Jahres-Überlebensrate hin, Werte darüber auf das Gegenteil (55). Haarzelleukämien haben Werte von 10^4 – 10^6 U/ml.

4.5 Akute-Phase-Proteine

Akute-Phase-Proteine werden von den Hepatozyten nach Stimulation durch IL-6 gebildet. IL-6 steuert nicht nur die Synthese, sondern auch die Glykosylierung dieser Proteine, denn bis auf das C-reaktive Protein (CRP) und das Serumamyloid-A-Protein (SAA) sind die Akute-Phase-Proteine Glykoproteine (61).

Zu den Akute-Phase-Proteinen zählen alle Plasmaproteine, deren Konzentration während eines akuten Entzündungsgeschehens um mehr als 25% ansteigt (62). Die Reaktionsabläufe und der Zeitraum, während dessen die Akute-Phase-Proteine erhöht sind, wird als Akute-Phase-Reaktion bezeichnet. Entsprechend ihrer Reaktionszeit und der Höhe des Anstiegs werden die Akute-Phase-Proteine in drei Gruppen eingeteilt (Tab. 8).

Die Akute-Phase-Proteine haben folgende wichtige Funktionen im Entzündungsgeschehen:

- sie sind primäre, im Vergleich zum Immunsystem zwar unspezifische, aber mit nur geringer zeitlicher Latenz reagierende Mechanismen in der Abwehr körperfremder Substanzen, z. B. Komplexierung von Fremdstoffen durch CRP.
- sie wirken regulierend auf die von Entzündungszellen freigesetzten, auch körpereigene Strukturen zerstörende Substanzen, z. B. Hemmung der Serinprotease Elastase durch α_1 -Antitrypsin.
- Proteine wie CRP üben eine Kontrollfunktion auf die Cytokinbildung inflammatorischer Zellen im Sinne eines feedback-Mechanismus aus.

4.5.1 C-reaktives Protein (CRP)

CRP gehört zur Proteinfamilie der Pentraxine, deren Namen sich von ihrer pentameren Struktur ableitet. Sie

Tab. 8: Einteilung der Akute-Phase-Proteine in drei Gruppen nach Kushner (62)

Protein	Konzentration (g/l)	Reaktionszeit (Std.)	Anstieg (x normal)
CRP	< 0,010	6–10	10–1000
SAA	< 0,030	6–10	10–1000
α_1 -Antichymotrypsin	0,3–0,6	10	10
saures α_1 -Glykoprotein	0,5–1,4		
α_1 -Antitrypsin	1,9–3,5		
Haptoglobin	0,7–3,6	24–48	2–3
Fibrinogen	2,0–4,5		
C3	0,5–1,2		
C4	0,2–0,5	48–72	< 2
Coeruloplasmin	0,15–0,60		

Tab. 9: Funktionen des C-reaktiven Proteins (CRP)

1. Bindung und Komplexierung von Molekülen
 - Polyanionen (z.B. Nukleinsäuren) und Phosphorylcholin über Ca-abhängige Bindungsstelle,
 - Polykationen (z.B. Histone) über Ca-unabhängige Bindungsstelle.Sekundäreffekte der Komplexierung sind
 - opsonierende Wirkung auf Phagozyten,
 - Komplementaktivierung,
 - Stimulierung Fc-Rezeptor-tragender Zellen.
2. Hemmung der proinflammatorischen Aktivität aktivierter PMN.

bestehen aus fünf identischen nicht glykosylierten Untereinheiten, die über nicht kovalente Bindungen zusammengehalten werden. Die fünf Monomere sind planar, das heißt, wie eine Scheibe in einer Ebene angeordnet (61).

Das Molekulargewicht des CRP ist 120 Kilodalton, und das humane CRP besteht wie das CRP aller Säugetiere aus 204 bis 206 Aminosäuren pro Monomer. Jedes Monomer hat zwei funktionelle Regionen zwischen den Aminosäureresten 52 und 66 sowie 133 und 147.

Eine der funktionellen Regionen bindet Ca-Ionen-abhängig Phosphatmonoester und besonders gut Phosphorylcholin sowie andere polyanionische Substanzen wie Nukleinsäuren. Phosphorylcholin ist Bestandteil der C-Polysaccharide in der Zellmembran vieler Bakterien, Parasiten und Pilze und auch Bestandteil der Phospholipide menschlicher Zellmembranen.

Die andere funktionelle Region ist eine Ca-Ionen-unabhängige Bindungsstelle für polykationische Substanzen wie z.B. Protamine, Histone und Polylysine.

Die Funktionen des CRP sind mit denjenigen der Immunglobuline vergleichbar (Tab.9). Indem CRP an Mikroorganismen oder die Trümmer körpereigener Zellen bindet, können diese neutralisiert und markiert werden, so daß sie dann durch die Abräumsysteme der Immunabwehr aus der Zirkulation geklärt werden können. Zur Aktivierung der Abräumsysteme bedient sich das CRP der gleichen Mechanismen wie z.B. Immunglobuline der Klasse M und zwar:

- der Opsonierung durch Komplexbildung mit Mikroorganismen oder mit DNA und Fragmenten lysierter Zellen. Die Komplexe werden dann von Phagozyten erkannt und aufgenommen.
- der Stimulation von Fc-Rezeptor-tragenden mononukleären Zellen, also von B-Zellen, T-Zellen, Monozyten/Makrophagen.
- der Komplementaktivierung. Diese erfolgt entweder im Komplex mit einem Liganden, z.B. Phosphorylcholin oder unter Bildung von Autoaggregaten.

CRP hemmt ebenfalls die proinflammatorische Aktivität der polymorphkernigen Granulozyten (PMN). Bindet CRP an die PMN-Oberfläche, wird es von einer membranständigen

Serinprotease lysiert. Es entstehen Tuftsin-ähnliche Peptide, die nicht wie Tuftsin selbst die PMN-Funktion aktivieren, sondern eine Hemmung bewirken (63).

Der intrazelluläre CRP-Pool ist im endoplasmatischen Retikulum. Der limitierende Schritt der CRP-Synthese ist wie bei anderen Plasmaproteinen der Transfer des Proteins vom endoplasmatischen Retikulum in den Golgi-Apparat. Nach Stimulation mit IL-6 vermindert sich in isolierten Hepatozyten des Kaninchens die Verweildauer des CRP von 18 Std. auf 2,5 Std., die intrazelluläre Konzentration nimmt um das 17fache zu und die Sekretionsrate um den Faktor 100.

Grundsätzlich kann jeder Hepatozyt eines Leberläppchens CRP bilden. Bei starker Stimulation werden zunehmend Hepatozyten ausgehend von der periportalen in Richtung mediolobuläre Zone in den Syntheseprozess mit einbezogen. Es besteht aber eine Heterogenität der Leberläppchen in der CRP-Bildung, das heißt, es existieren mehr und weniger stimulierte Lobuli. Während der Akute-Phase-Reaktion nimmt der Plasmaproteinumsatz von 3,5% des Gesamtproteinumsatzes auf etwa 10% zu. Die Halbwertszeit des CRP-Anstiegs beträgt 5-7 Std., die des Abfalls 2-4 Std.

4.5.1.1 Klinische Bedeutung des CRP (64-66)

Sowohl der CRP-Einzelwert als auch das CRP-Monitoring sind diagnostisch bedeutsam. Voraussetzung für das Auftreten einer CRP-Erhöhung ist das Vorliegen eines zytopathogenen Effektes. So bewirken z.B. bakterielle Infektionen, die immer mit einer Gewebeschädigung einhergehen, einen deutlichen CRP-Anstieg. Virusinfektionen, die keinen wesentlichen zytopathogenen Effekt bewirken, wie die Hepatitis B, Pneumonie, Meningitis, Poliomyelitis verursachen demgegenüber nur eine leichte CRP-Erhöhung. Die Höhe des CRP-Anstiegs kann deshalb ein wichtiges differentialdiagnostisches Kriterium bei Infektionen sein. Pauschal gilt, daß maximale Anstiege bis 50 mg/l eher für virale Infektionen und darüberliegende für bakterielle sprechen.

Bei bekannter Entzündungsursache besteht eine direkte Beziehung zwischen der Aktivität bzw. dem Ausmaß der Entzündung und der Höhe der CRP-Konzentration. Es gibt jedoch Ausnahmen. So scheint bei bestimmten Autoimmunerkrankungen kein oder nur ein geringer Stimulus für eine Akute-Phase-Reaktion vorzuliegen, trotz einer erheblichen Entzündungsreaktion. Beispielhaft sind zu nennen der systemische Lupus erythematodes, die Dermatomyositis, die Sklerodermie und die Colitis ulcerosa. Interkurrente Infektionen können jedoch bei diesen Autoimmunerkrankungen eine CRP-Erhöhung verursachen.

Aufgrund seiner kurzen Halbwertszeit ist CRP ein dynamischer Parameter, der rasch die Veränderungen im inflammatorischen Ablauf anzeigt. Die wiederholte CRP-Bestimmung ermöglicht deshalb die Überwachung eines Entzündungsgeschehens. Eine wichtige Bedeutung hat das CRP-Monitoring z.B.:

- nach operativen Eingriffen. Während CRP nach 3-5 Tagen bei unkompliziertem Verlauf signifikant abfällt, zeigt z.B. die Leukozytenzahl und die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit kein eindeutiges Verhalten. Treten Kom-

Tab. 10: Indikationen zur CRP-Bestimmung (67)

<ul style="list-style-type: none"> ■ Erkennung systemischer Entzündungsgeschehen (Ausnahmen: zum Beispiel gewisse Entzündungen wie SLE, Colitis ulcerosa)
<ul style="list-style-type: none"> ■ Beurteilung des Erfolgs einer Antibiotikatherapie bakterieller Infektionen ■ Erkennung intrauteriner Infektionen bei vorzeitigem Blasensprung
<ul style="list-style-type: none"> ■ Differenzierung zwischen aktiver Erkrankungsform und inaktiver Form mit zusätzlicher Infektion: – zum Beispiel bei Patienten mit SLE und Colitis ulcerosa
<ul style="list-style-type: none"> ■ Einschätzung der Krankheitsaktivität rheumatischer Krankheiten und Beurteilung einer antiinflammatorischen Therapie ■ Früherkennung postoperativer Komplikationen (Wundinfektion, Thrombose, Pneumonie) ■ Abgrenzung der Infektion von einer Abstoßungsreaktion bei Knochenmarktransplantierten

plikationen auf wie Wundinfektion, Pneumonie oder Thrombose, fällt CRP nicht ab, sondern steigt sogar noch an. Die CRP-Konzentration ist abhängig von dem Ausmaß des Eingriffs und z. B. bei Cholecystektomie höher als bei einer Lymphknotenbiopsie.

– bei entzündlichen Organerkrankungen. So steigt bei hämorrhagischen Verlaufsformen der akuten Pankreatitis der CRP-Wert auf über 200 mg/l an, während er beim unkomplizierten Verlauf abfällt.

– zur Auswahl und Erfolgskontrolle einer Antibiotikatherapie.

– zum Auffinden und der Dosierung einer günstigen entzündungshemmenden Therapieform. Bei effektiver Therapie kommt es innerhalb von 48 Std. zu einem Abfall des Fiebers und zur Besserung des klinischen Zustandsbildes.

Das CRP ist zwar ein hochsensitiver Parameter für akut-entzündliche Geschehen, hat aber nur eine geringe differentialdiagnostische Wertigkeit in akuten klinischen Situationen oder für spezifische Infektionskrankheiten. In einem kritischen Übersichtsbeitrag (67) wurden die in Tab. 10 genannten Indikationen empfohlen.

5.0 Schlußfolgerung

Dieser Beitrag bietet eine Übersicht zur Pathobiochemie, Diagnostik und der Literatur der Entzündung. Während das CRP ein Entzündungsparameter mit relativ breiter Indikation ist, hat die Bestimmung der inflammatorischen Cytokine nur eine eng begrenzte Bedeutung. Klinische Studien werden in den nächsten Jahren zeigen, ob die inflammatorischen Cytokine als bedeutsame Größen für die Diagnostik, Differenzierung und Verlaufsbeurteilung entzündlicher Geschehen herangezogen werden können. Zumindest für die frühe Diagnostik von Infektionen ist die quantitative Bestimmung inflammatorischer Cytokine mit den kommerziell verfügbaren Immunoassays wertlos im Vergleich zur CRP-Bestimmung (68).

Schrifttum:

1. Cochrane, C. G., Gimbrone, Jr., M. A. (eds.) (1992) Cellular and molecular mechanisms of inflammation, Vol. 1–3 Academic Press, San Diego
2. Griffin, F. M. (1992) Acute undifferentiated fever. *Current Opinion in Infectious Diseases* 3, 628–631.
3. Rother, K., Hänsch, G. M., Rauterberg, E. W. (1991) Complement in inflammation: Induction of nephritis and progress to chronicity. *Int. Arch. appl. Immunol.* 94, 23–37.
4. Hänsch, G. M. (1991) The membrane attack complex in renal injury. In: *Immunology of renal disease* (Pusey, C. D., ed.), Kluwer, Dordrecht, S. 81–95.
5. Kramer, M. D., Hänsch, G. M., Rother, K. O. (1992) Complement and plasminogen: pathways in inflammation. *Behring Inst. Mitt.* 97, 145–156.
6. Cockcroft, S. (1992) G-protein-regulated phospholipases C, D and A₂-mediated signalling neutrophils. *Biochim. Biophys. Acta* 1173, 135–160.
7. Smith, W. L. (1992) Prostanoid biosynthesis and mechanism of action. *Am. J. Physiol.* 263, F 181–F 191.
8. Voet, D., Voet, J. G. (eds) (1992) *Biochemie S. 659–668*. VCH-Weinheim.
9. Tibes, U., Rodenwald, E., Scheuer, W. (1993) Phospholipasen A₂, Cyto-kine und zelluläre Entzündungsreaktionen. Im Druck.
10. Hepler, J. R., Gilman, A. G. (1992) G-Proteins. *Trends in Biochemical Sciences* 17, 383–387.
11. Sardesai, V. M. (1992) Biochemical and nutritional aspects of eicosanoids. *J. Nutr. Biochem.* 3, 562–579.
12. Schreiber, S., Raedler, A., Stenson, W. F., MacDermott, R. P. (1992) The role of the mucosal immune system in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology Clinics of North America* 21, 451–502.
13. Grimminger, F., Seeger, W. (1990) Regulation inflammatorischer Abläufe – Angriffspunkte und Grenzen steroidal Antiphlogistika. *Med. Welt* 41, 951–964.
14. Jutila, M. A. (1992) Leukocyte traffic to sites of inflammation. *APMIS* 100, 191–201.
15. Zimmermann, G. A., Prescott, S. M., McIntyre, T. M. (1992) Endothelial cell interactions with granulocytes: tethering and signalling molecules. *Immunology Today* 13, 93–99.
16. Lasky, L. A. (1992) Selectins: Interpreters of cell-specific carbohydrate information during inflammation. *Science* 258, 964–968.
17. Mally, M., Schade M. (1991) Adhäsionsmoleküle steuern die Kommunikation der Zellen. *Lab.med.* 15, 391–398.
18. Montefort, S., Holgate, S. T. (1991) Adhesion molecules and their role in inflammation. *Respiratory Medicine* 85, 91–99.
19. Cheresch, D. A. (1991) Structural and biologic properties of integrin-mediated cell adhesion. *Clinics in Laboratory Medicine* 12, 217–235.
20. Yang, K. D., Hill, H. R. (1991) Neutrophil function disorders: Pathophysiology, prevention and therapy. *The Journal of Pediatrics* 119, 343–354.
21. Carp, H., Miller, F., Hoidal, R., Janoff, A. (1982) Potential mechanism of emphysema: α_1 -proteinase-inhibitor recovered from lung of cigarette smokers contains oxidized methionine and has decreased elastase inhibitor capacity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79, 2041–2046.
22. Jochum, M., Fritz, H., Nast-Kolb, D., Inthorn, D. (1990) Granulozyten-Elastase als prognostischer Parameter. *Dt. Arztebl.* 87, B 1106–1110.
23. Lang, H., Dreher, M., Heubner, A. (1989) Diagnostische Validität der Plasma-Elastase als prädiagnostischer, biochemischer Marker für infektiöse bzw. entzündliche Komplikationen. *Mitt. Dt. Ges. Klin. Chemie* 7, 10–16.
24. Brynskov, J., Nielsen, O. H., Ahnfelt-Ronne, L., Bendtsen, K. (1992) Cytokines in inflammatory bowel disease. *Scand. J. Gastroenterol.* 27, 897–906.
25. Groß, V., Andus, T., Leser, H. G., Roth, M., Schölmerich, J. (1991) Inflammatory mediators in chronic inflammatory bowel diseases. *Klin. Wochenschr.* 69, 981–987.
26. Remick, D. G. (1991) Significance of in vivo detection of tumor necrosis factor. *Laboratory Investigation* 65, 259–261.
27. Sullivan, G. W., Mandell, G. L. (1991) The role of cytokines in infection. *Current Opinion in Infectious Diseases* 4, 344–349.
28. Cerami, A. (1992) Inflammatory cytokines. *Clinical Immunology and Immunopathology* 62, 3–10.
29. Matthews, S. J., Sullivan, J. S. (1992) A role for tumor necrosis factor α in the human mixed lymphocyte culture reaction. *Immunology and Cell Biology* 70, 107–110.
30. Calandra, T., Baumgärtner, J. D., Grau, G. E., Wu, M. M., Schellekens, J., Verhoff, J., Glauser, M. P. (1990) Prognostic values of tumor necrosis factor/cachectin, interleukin-1, interferon α , and interferon γ in the serum of patients with septic shock. *J. Infect. Dis.* 161, 982–987.
31. Hamilton, G., Hofbauer, S., Hamilton, B. (1992) Endotoxin, TNF α , interleukin-6 and parameters of the cellular immune system in patients with intraabdominal sepsis. *Scand. J. Infect. Dis.* 24, 361–368.
32. Odeh, M. (1990) The role of tumor necrosis factor- α in acquired immunodeficiency syndrome. *Journal of Internal Medicine* 228, 549–556.
33. Ohga, S., Miyazaki, C., Okada, K., Akazawa, K., Ueda, K. (1992) The inflammatory cytokines in measles: correlation between serum interferon-levels and lymphocyte subpopulations. *Eur. J. Pediatr.* 151, 492–496.
34. Fugger, R., Hamilton, G., Steinger, R., Mirza, D., Schulz, F., Mühlbacher F. (1991) Intraoperative estimation of endotoxin, TNF α and IL-6 in orthotopic liver transplantation and their relation to rejection and postoperative infection. *Transplantation* 52, 302–306.
35. Beuscher, H. U., Rausch, U. P., Röllinghoff, M. (1992) Die Rolle von Interleukin-1 bei Infektionen und Sepsis. *Immun. Infekt.* 20, 128–133.
36. Azzi, A., Boscoboinik, D., Hensey, C. (1992) The protein kinase C family. *Eur. J. Biochem.* 208, 547–557.
37. Cannon, J. G., Tomkins, R. G., Gelfand, J. A. et al. (1990) Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor in septic shock and experimental endotoxin fever. *J. Infect. Dis.* 161, 79–84.

38. Kirkham, B. (1991) Interleukin-1, immune activation pathways, and different mechanisms in osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 50, 395-400.
39. Tuomanen, E. (1990) Advances in the diagnosis and management of bacterial meningitis. *Current Opinion in Infectious Diseases* 3, 596-602.
40. Hirano, T. (1992) Interleukin-6 and its relation to inflammation and disease. *Clinical Immunology and Immunopathology* 62, 60-65.
41. Diamant, M., Kayser, L., Rasmussen, A. K., Bech, K., Feldt-Rasmussen, U. (1991) Interleukin-6 production by thyroid epithelial cells. Enhancement by interleukin-1. *Autoimmunity* 11, 21-26.
42. Kawano, M., Hirano, T., Matsuda, T. et al. (1988) Autocrine generation and essential requirements of BSF-2/IL-6 for human multiple myelomas. *Nature* 332, 33-35.
43. Bataille, R., Jourdan, M., Zhang, X. G., Klein, B. (1989) Serum levels of interleukin-6, a potent myeloma cell growth factor as a reflect of plasma cell dyscrasias. *J. Clin. Invest.* 84, 2008-2011.
44. Leary, A. G., Ikebuchi, K., Hirai, Y. et al. (1988) Synergism between IL-6 and IL-3 in supporting proliferation of human hemopoietic stem cells: Comparison with interleukin-1 α . *Blood* 71, 1759-1763.
45. Stasi, R., Venditti, A., del Poeta, G. et al. (1992) High interleukin-6 plasma levels in acute promyelocytic leukemia. *Ann. Haematol.* 64, 303-304.
46. Rose-John, S., Schooltink, H., Lenz, D. et al. (1990) Studies on the structure and regulation of the human hepatic interleukin-6 receptor. *J. Biochem.* 190, 79-83.
47. Baumann, H., Gaudlie, J. (1990) Regulation of hepatic acute phase plasma protein genes by hepatocyte stimulating factors and other mediators of inflammation. *Mol. Biol. Med.* 7, 147-160.
48. Hall, G. M., Desborough, J. P. (1992) Interleukin-6 and the metabolic response to surgery. *Br. J. Anaesthesia* 69, 337-338.
49. Viedma, J. A., Pérez-Mateo, M., Dominguez, J. E., Carballo, F. (1992) Role of interleukin-6 in acute pancreatitis. Comparison with C-reactive protein and phospholipase A. *Gut* 33, 1264-1267.
50. Rehmann, B., Trautwein, C., Böker, K. H. W., Manns, M. P. (1992) Interleukin-6 in liver diseases. *J. Hepatology* 15, 277-280.
51. Sheron, N., Bird, G., Goka, J., Alexander, G., Williams, R. (1991) Elevated plasma interleukin-6 and increased severity and mortality in alcoholic hepatitis. *Clin. Exp. Immunol.* 84, 449-453.
52. Karrer, U., Aeschlimann, A., Fassbender, K., Vogt, P., Müller, W. (1992) Interleukin-6 (IL-6), löslicher Interleukin-2-Rezeptor (sIL-2R) und Mikroheterogenität des alpha-1 sauren Glykoproteins (AGP): neue Marker der Akute-Phase-Reaktion? *Schweiz. med. Wschr.* 122, 233-236.
53. Smith, K. A. (1992) Interleukin-2. *Current Opinion in Immunology* 4, 271-276.
54. Williams, T. M., Fox, K. R., Kant, J. A. (1991) Interleukin-2: Basic biology and therapeutic use. *Hematologic Pathology* 5, 45-55.
55. Obara, T., Vodian, M. A., Kung, P. C. (1992) Clinical significance of interleukin-2 receptor for monitoring the diseases associated with activated lymphocytes and viral infections. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 6, 423-436.
56. Prummel, M. F., Wiersinga, W. M., van der Gaag, R., Mourits, M. P., Koornneef, L. (1992) Soluble IL-2 receptor levels in patients with Graves' ophthalmopathy. *Clin. exp. Immunol.* 88, 405-409.
57. Holt, I., Cooper, R. G., Denton, J., Maeger, A., Hopkins, S. J. (1992) Cytokine inter-relationships and their association with disease activity in arthritis. *British Journal of Rheumatology* 31, 725-733.
58. Laut, J., Senitzer, D., Petrucci, R., Sablay, L. B., Barland, P., Glicklich, D. (1992) Soluble interleukin-2 receptor levels in lupus nephritis. *Clinical Nephrology* 38, 179-184.
59. Schmitt, W. H., Heesen, C., Csernok, E., Rautmann, A., Gross, W. L. (1992) Elevated serum levels of soluble interleukin-2 receptor in patients with Wegener's granulomatosis. *Arthritis and Rheumatism* 35, 1088-1096.
60. Noronha, I. L., Daniel, V., Möhring, K., Opelz, G. (1992) Analysis of plasma interleukin-2 receptor (sIL-2R) and tumor necrosis factor-alpha (TNF α) in renal transplant patients. *Clin. Transplantation* 6, 277-284.
61. Pepys, M. B. (ed.) (1989) Acute phase proteins in the acute phase response. Springer, Heidelberg.
62. Kushner, I., Gewurz, H., Benson, M. D. (1981) C-reactive protein and the acute phase response. *J. Lab. Clin. Med.* 97, 739-750.
63. Shepard, E. G., Anderson, R., Rosen, O. (1990) Peptides generated from C-reactive protein by a neutrophil membrane protease. *J. Immunol.* 145, 1469-1476.
64. Hind, C. R. K., Pepys, M. B. (1984) The role of serum C-reactive protein (CRP) measurement in clinical practice. *Internal Medicine for the Specialist* 5, 112-151.
65. Fehr, J. (1988) Die klinische Bedeutung des CRP-(C-reaktiven Protein)-Monitoring. *Therap. Umschau* 45, 85-92.
66. Thomas, L. (ed) (1992) Akute Phase Reaktion. In: *Labor und Diagnose. Die Medizinische Verlagsgesellschaft, Marburg* S. 770-790.
67. Young, B., Gleeson, M., Cripps, A. W. (1991) C-reactive protein: A critical review. *Pathology* 23, 118-124.
68. Sheldon, J., Riches, P., Gooding, R., Soni, R., Hobbs, J. R. (1993) C-reactive protein and its cytokine mediators in intensive-care patients. *Clin. Chem.* 39, 147-150.

Anschrift für die Verfasser:

Prof. Dr. L. Thomas
Krankenhaus Nordwest
Laboratoriumsmedizin
Steinbacher Hohl 2-26
6000 Frankfurt/M. 90

URSPRUNG UND TRADITION UND INNOVATION

ZUKUNFT SERVICES

Zukunftsorientierte Forschung im eigenen Labor, wirtschaftliche Lösungen und umfassender Service weltweit gehören ebenso zu unseren Identitätsmerkmalen wie umweltgerechtes Handeln.

Die Kooperation mit internationalen Universitäten, modernste Technologie, garantieren unvergleichliche Produktqualität.

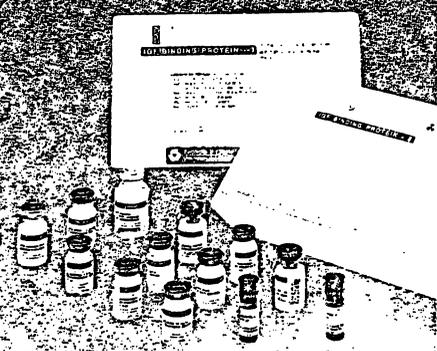
Der intensive Kontakt zu Wissenschaft und Forschung ermöglicht es uns, Ihnen eine große Anzahl von wissenschaftlich fundierten Publikationen zu unseren Kits zur Verfügung zu stellen.

Entdecken Sie die Vorzüge unseres Rund-um-Services.

Gerne senden wir Ihnen detaillierte Produktinformationen. Oder lassen Sie sich von einem unserer Außendienstmitarbeiter fachkundig beraten.

IGF BP 3 IGF Bindungsprotein 3

-  Zusätzliche Bestimmung zur Diagnose von Wachstumsstörungen.
-  Reflektiert die GH-Sekretion über Tage durch konstante Plasma-Spiegel, da keine circadiane Rhythmik.
-  Eine einzelne Bestimmung erfasst einen GH-Mangel oder GH-Überschuß.
-  Bei kleinen Kindern noch verlässlichere Werte im Vergleich zur IGF-I-Bestimmung



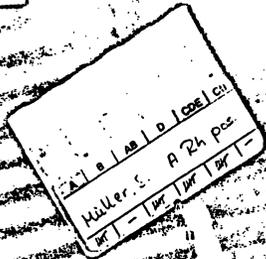
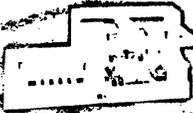
Nichols Institute

Diagnostika GmbH
Dieselstrasse 18
W-6350 Bad Nauheim
Tel 06032 - 35057
Fax 06032 - 35050

Ihr Service-Partner
in der Schweiz
Nichols Institute
Diagnostics S.A.
45 A, Route des Acacias,
1227 Les Acacias/Geneva,
Tel (022) 3429840
Fax (022) 3429848

IHR GEBÜHRENFREIES SERVICELEFON
HOTLINE 0130-849191

**Sprechen Sie mit uns
über Automation
in der Immunhämatologie**



Die Technik der Zukunft - heute!



Serologisch-Chemisches Institut
Dr. E. Cohnen,
Wilhelm-Levison-Straße 5
5300 Bonn 1
Telefon (02 28) 21 53 06

41 Jahre Blutgruppen-Testseren
„Problemlose Blutgruppentestung
mit der SERCO-Spezial-Tupfelplatte“

Anti-A/B/AB/A₁/H/A_{HP}/D/C/c/E/e
C^W/M/N/S/s/K/k/P/Fy^a/Fy^b/Jk^a/
Jk^b/Le^a/Le^b/Lu^a/Lu^b/G^c/Gm¹/Gm²
Gm³/Gm⁵/Gm¹⁷/Gm²¹/Km¹/Km³

Präzision und Vielfalt ...

... denn es gibt über 6000 Präzisions-Glasinstrumente und -Geräte
für Arzt und Labor - mit dem Markenzeichen "Assistent"!

Zum Beispiel verschiedenste
Geräte zum Mischen von Flüssig-
keiten.

Die Abbildung zeigt den
"Assistent"-Tümel-Rollenmischer
No. 348 mit fünf synchron
laufenden, diagonal exzentrisch
gelagerten PVC-Rollen.

Dieses Gerät ermöglicht das
gleichmäßige Mischen von Unter-
suchungs-Proben (z.B. Vollblut)
sowie sonstiger Zellsuspensionen.
Maße: 430 x 180 x 95 mm.

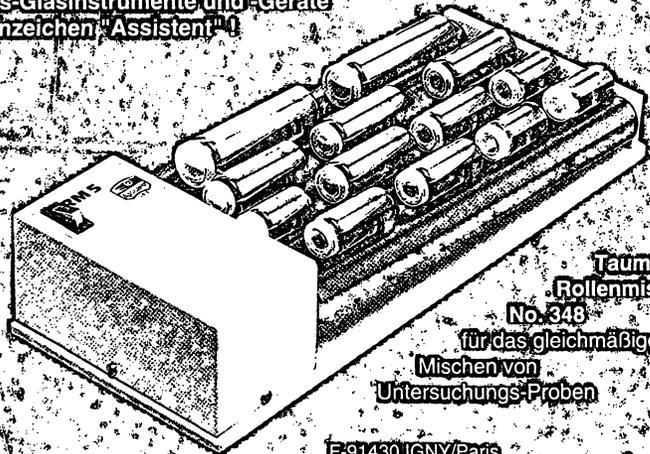
Ihr Fachhändler informiert Sie
ausführlich über unsere Produkte.

Glaswarenfabrik

Karl Hecht



Präzisions-Glasinstrumente
und -Geräte für Arzt und Labor



**Tümel-
Rollenmischer**

No. 348

für das gleichmäßige

Mischen von
Untersuchungs-Proben

D-8741 Sondheim/Rhön
Tel. (0 97 79) 221 • TX 672 865
Fax (0 97 79) 13 88 1-18 68

CH-8595 Altnau TG/Schweiz
Tel. (072) 65 22 22
Fax (072) 65 22 27

F-91430 IGNY/Paris
245, Rue Lavoisier
Tel. (1) 69 85 37 37
Fax (1) 60 19 07 15

A-6122 Fritzens/Tirol, Fischerweg 1
Tel. (0 52 24) 5 26 46-0
Fax (0 52 24) 5 76 79