

INNOVATIVE ELISA-PLATTFORM FÜR FLEXIBLE DIAGNOSTIK

Die Suche nach neuen Biomarkern (BM) wird seit einigen Jahren sowohl von Unternehmen als auch von der universitären Forschung stark forciert.

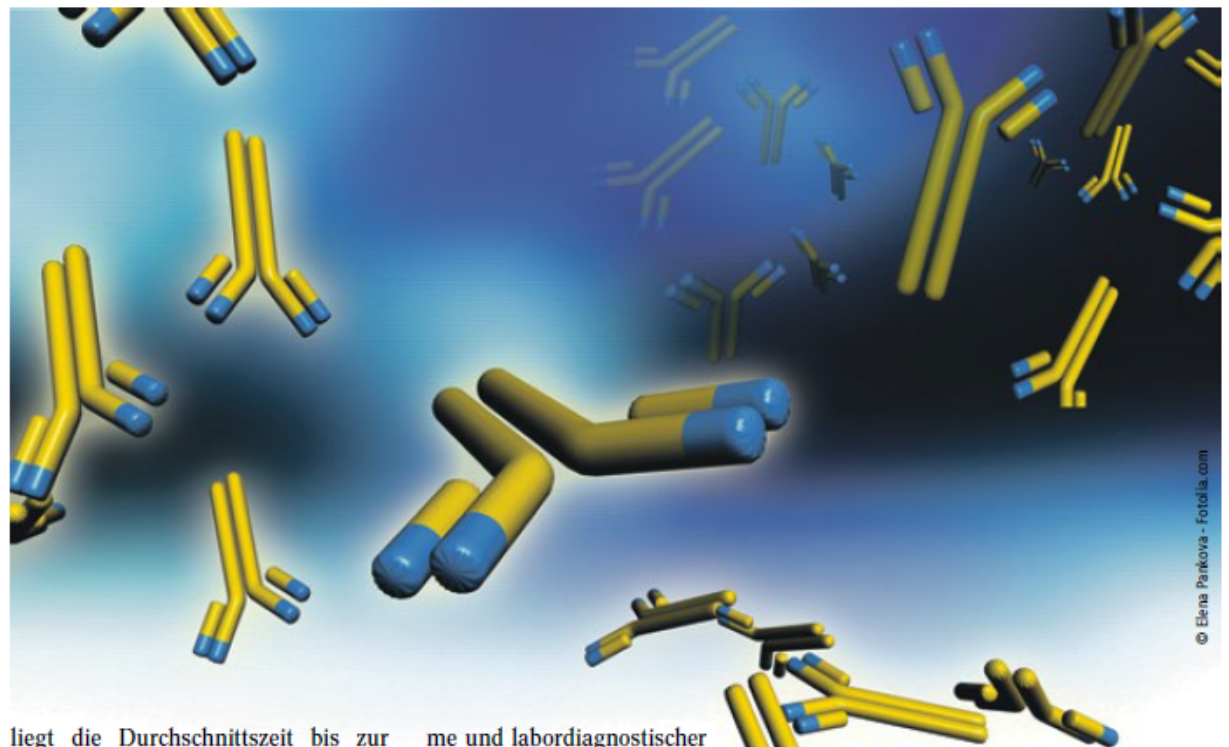


Achim Braukmann, Prof. Dr. Joachim Jose, beide Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Prof. Dr. Matthias Schneider und Dr. Stefan Vordenbäumen, Poliklinik für Rheumatologie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Dies ist der sinnvollen Überlegung geschuldet, Krankheiten früh zu diagnostizieren, die Therapie schnellstmöglich einzuleiten und anschließend bestmöglich zu kontrollieren. Wegen der immens großen Anzahl und der schwer einzuschätzenden Relevanz dieser neuen BM-Kandidaten sei an dieser Stelle lediglich auf die Krankheitsbilder verwiesen bei denen BM am stärksten beforscht werden: Onkologie (Tumormarker; Früherkennung, Optimierung der Medikation und Therapiekontrolle), entzündlich-rheumatologische Erkrankungen (Früherkennung, Differentialdiagnose), Diabetes mellitus Typ II (Früherkennung, Risikoeinschätzung), neurodegenerative und psychische Erkrankungen (Früherkennung, Risikoeinschätzung) und die koronare Herzerkrankung (Diagnose, Verlaufskontrolle).

Rheumatoide Arthritis

Das Anliegen der finanziell aufwendigen Studien zur Identifizierung neuer BM lässt sich am Beispiel der rheumatoiden Arthritis besonders gut verdeutlichen. Mit rund 800.000 Erkrankten stellt die rheumatoide Arthritis die häufigste chronisch entzündliche Gelenkerkrankung dar. Durch den hohen Leidensdruck der Betroffenen und die immensen Kosten für Therapie, Reha-Maßnahmen und Arbeitsausfälle ist eine möglichst frühe Diagnose und Behandlung im Interesse aller Beteiligten. Trotzdem



liegt die Durchschnittszeit bis zur Diagnose einer rheumatoiden Arthritis bei rund 1,3 Jahren. Diese soll in der nächsten Zeit möglichst unter 0,7 Jahre verringert werden. Die Vorteile einer möglichst frühen Diagnose liegen sowohl auf der medizinischen wie auch auf der pharmakoökonomischen Seite und beinhalten bessere Krankheitskontrolle und Prognose sowie geringere Hospitalisierung und Ausfallzeiten der Betroffenen. Um dieses Ziel zu erreichen, bedarf es neben der rechtzeitigen Untersuchung bereits bekannter klinischer Sympto-

me und labordiagnostischer Parameter auch insbesondere der Erforschung neuer und aussagekräftiger BM, gerade für frühe Formen der Erkrankung. Beide Vorgaben können durch das zur Verfügung stellen einer neuen flexiblen und kosteffektiven ELISA-Plattform günstig beeinflusst werden.

Surface Display ELISA

Das unter dem Namen Autodisplay bekannt gewordene bakterielle

Oberflächenexpressionssystem bietet eine solche Plattform, mit deren Hilfe neu identifizierte oder bereits bekannte BM rasch und kostengünstig einem ELISA-Assay zugänglich gemacht werden können. Ein großer Vorteil des sogenannten Surface Display (SD-)ELISA ist dabei, dass

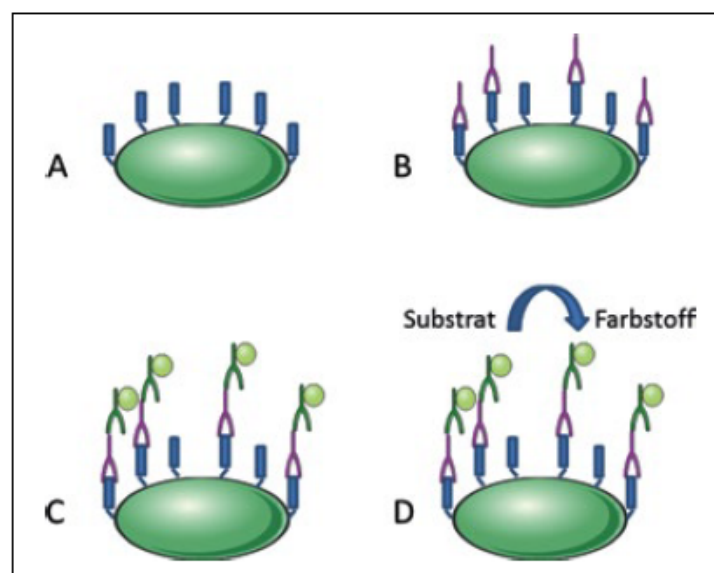


Abb. 1: Schematische Darstellung eines Surface-Display-ELISA in 4 Schritten
A) Beschichten der Microtiterplatte mit den antigen-präsentierenden E. coli Zellen.
B) Inkubation mit dem Patientenserum; Bindung der gesuchten Antikörper
C) Inkubation mit enzymgekoppeltem Zweitantikörper; Bindung des Zweitantikörpers an den Erstantikörper
D) Enzymatische Umsetzung eines Substrates zu einem farbigen Produkt; photometrischer Readout

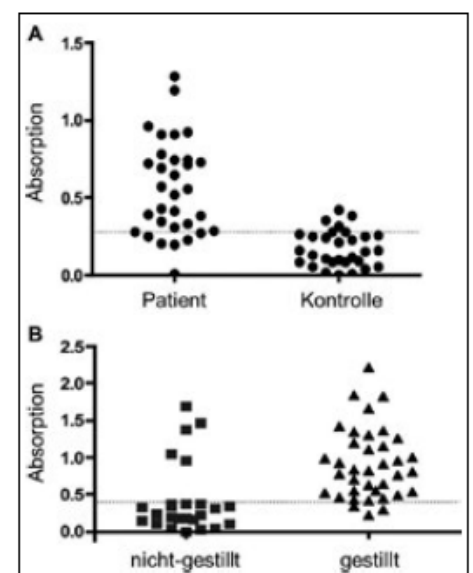


Abb. 2: Darstellung der SD-ELISA-Messungen für 60kDa Ro/SSA (A) und humanes α_{SI} -Casein (B). Die gestrichelten Linien beschreiben den kalkulierten „cut-off“-Wert für den jeweiligen Test.

das Antigen nicht aus einem Gewebe oder rekombinanten Wirtsorganismus extrahiert und kosten- und zeintensiv rein dargestellt werden muss. Stattdessen wird es auf der Oberfläche eines sich selbst vermehrenden Wirtsorganismus (z.B. E. coli) dargestellt. Diese Antigen-präsentierenden Zellen dienen dann, wie in Abb. 1 dargestellt, als Ausgangspunkt für einen SD-ELISA mit dessen Hilfe z.B. Serumproben auf Antikörper gegen das jeweilige Protein untersucht werden können. Mittels einfacher biotechnologischer Verfahren ist es so innerhalb kurzer Zeit möglich, ein Antigen als neuen BM zu etablieren und auf Grund der preiswerten und schnellen Herstellung sehr schnell zu validieren. Weder die Komplexität (Proteingröße und Struktur) noch die Herkunft (human, tierisch oder bakteriell) stellen nach derzeitigem Kenntnisstand einen limitierenden Faktor für den Einsatz dieses Verfahrens dar. Etwaige Antikörperreaktionen gegen den Wirtsorganismus können problemlos durch entsprechende Vorbehandlung der Seren egalisiert werden. Die schematische Darstellung des SD-Elisa in Abb. 1 zeigt die vier grundlegenden Schritte. Zunächst wird eine Microtiterplatte mit den antigen-präsentierenden Bakterien-

zellen beschichtet, die an die hydrophobe Oberfläche adsorbieren. Anschließend wird ggfls. vorbehandeltes Patientenserum dazugegeben aus dem die Antigen bindenden Antikörper haften bleiben. Diese werden mit einem Enzym-gekoppelten Zweitantikörper markiert und die enzymatische Reaktion setzt einen photometrisch quantifizierbaren Farbstoff frei. Durch die Auswahl des Zweitantikörpers kann zudem eine Subgruppenanalyse der bindenden Antikörper aus dem Serum erfolgen (IgG1-4, IgE, etc.). Das Verfahren ist durch die einfache Versuchsanordnung leicht zu automatisieren und ermöglicht so auch das Verarbeiten einer größeren Probenzahl.

Mit Hilfe des SD-ELISA konnten bereits humane Serum Antikörper gegen 60kDa Ro/SSA (BM beim Sjörgen-Syndrom, Abb. 2A), Lactotransferrin (Antigen in Verbindung mit Autoimmunerkrankungen), und bovines α_{S1} -Casein (häufiges Allergieantigen bei Kuhmilchallergien) etabliert werden. Bei einer Untersuchung zur möglichen Kreuzreaktivität zwischen bovinem und humanem α_{S1} -Casein konnte für Letzteres eine bislang nicht bekannte Korrelation zwischen Gestillt-wordsen-sein und einer offensichtlich lebenslang

andauernden Antikörperantwort im Blutserum aufgedeckt werden (Abb. 2B). Beim „proof-of-principle“ konnte für das 60kDa Ro/SSA (Sensitivität: 86,67%; Spezifität: 83,33%) und für bovines α_{S1} -Casein (Sensitivität: 100%; Spezifität: 100%) eine Validierung im Vergleich zu einem in der Routinediagnostik verwendeten Standard-ELISA erfolgreich durchgeführt werden. Dabei ergab sich sowohl für die Sensitivität als auch für die Spezifität in beiden Fällen eine sehr hohe Akkuratheit im Vergleich zu den Ergebnissen der Standard-ELISA. Weitere Untersuchungen zur Identifizierung neuer BM für schwer zu diagnostizierende Krankheitsbilder sind im Gange.

Die Methode des SD-ELISA ist also geeignet als Plattformtechnologie auf Forschungsebene die Entwicklung neuer BM-Tests deutlich zu beschleunigen und auf der diagnostischen Ebene bestehende Testverfahren kostengünstig und ohne Qualitätsverlust zu ersetzen.

| www.uni-muenster.de |
| www.uni-duesseldorf.de |

SEMINAR ZUR PATIENTENNAHEN DIAGNOSTIK

Die zukünftige Gesundheitsversorgung im Kontext des demographischen Wandels und die Forderung nach einer immer schnelleren Verfügbarkeit von Labordaten führen auch zu einer Veränderung der Patientendiagnostik. Neben der zentralen Labordiagnostik gewinnt die patientennahe Labordiagnostik (Point-of-Care-Testing, POCT) eine immer größere Bedeutung. Dabei beschränkt sich die Anwendung mobiler Diagnostiksysteme nicht auf die stationäre und ambulante Versorgung oder die Notfallmedizin, sondern findet vermehrt auch zuhause statt. Diese Erweiterung ergibt sich unter anderem durch die vereinfachte Handhabung von POCT-Systemen. Der Cluster MedizinTechnik.NRW und die Deutsche Gesellschaft für Biomedizinische Technik im VDE veranstalten am 13. November in Düsseldorf das Seminar „Mobile Diagnostik am Point-of-Care: Forschung - Produkte - Anwendung“. Experten aus Hochschulen, Gesundheitswesen und Industrie diskutieren die Anwendungen und Möglichkeiten aktueller mobiler Diagnostiksysteme.

| www.vde.com/poct |
| www.medizin-technik-nrw.de |

„GEBROCHENES HERZ“ NACHGEWIESEN

Etwa 2,5% der Menschen, die mit einem Herzinfarkt-Verdacht ins Krankenhaus kommen, leiden am „Syndrom des gebrochenen Herzens“.

Doch es ist für den Notfallarzt schwierig, den Unterschied zwischen den beiden lebensbedrohlichen Erkrankungen festzustellen: Die Patienten haben die gleichen Symptome wie Brustschmerz und Luftnot und auch das EKG und bestimmte Biomarker sind gleich. Daher kann die korrekte Diagnose nur mittels Herzkatheteruntersuchung gestellt werden, wo sich – im Gegensatz zum Herzinfarkt – offene Herzkranzgefäße nachweisen lassen. Wissenschaftler der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) und des UniversitätsSpitals Zürich, Schweiz, haben nun herausgefunden, dass das „Syndrom des gebrochenen Herzens“ anhand von bestimmten mikroRNAs im Blut der Patienten erkannt werden kann. „Ein bestimmtes Muster aus vier mikroRNAs unterscheidet das Syndrom von einem Herzinfarkt“, sagt Prof. Dr. Dr. Thomas Thum, Direktor des MHH-Instituts für Molekulare und Translationale Therapiestrategien (IMTTS). Prof. Thum führte die Studie gemeinsam mit Priv.-Doz. Dr. Dr. Christian Templin vom UniversitätsSpital Zürich durch.

Beim „Syndrom des gebrochenen Herzens“ handelt es sich um eine Funktionsstörung des Herzmuskels, die auch „Takotsubo-Kardiomyopathie“ heißt. Die Störung tritt plötzlich ein, meist nach einer außerordentlichen emotionalen Belastung. Sie tritt zu 90% bei älteren Frauen auf – wohingegen ein Herzinfarkt zu 70% ältere Männer betrifft.

In den ersten Stunden sind beide Erkrankungen gleich gefährlich und es kommt häufig zu ernsten und auch lebensbedrohlichen Komplikationen. Vier bis fünf Prozent der Patienten, die mit entsprechenden Symptomen ins Krankenhaus kommen, sterben. Der Unterschied zeigt sich jedoch nach der akuten Phase: Beim „Syndrom des gebrochenen Herzens“ erholt sich die Pumpfunktion des Herzens meist wieder vollständig und nach ein paar Wochen funktioniert der Herzmuskel in der Regel wieder normal. Beim Herzinfarkt entstehen jedoch Narben, die dauerhaft bleiben und das Pumpen beeinträchtigen können.

Priv.-Doz. Dr. Dr. Christian Templin leitet das größte Register für diese Erkrankung (www.takotsubo-registry.com).

| www.mh-hannover.de |

SIEMENS

Intelligente Testlösungen. Schnellere Bearbeitung.

Siemens Lösungen bieten ausgezeichnete klinische und Workflow-Performance für erfolgreiches Arbeiten.

www.healthcare.siemens.de/laboratory-diagnostics

Die klinische Diagnostik unterliegt wissenschaftlichen ebenso wie ökonomischen Anforderungen. Ihre Leistung hängt letztlich davon ab, wie effektiv diese beiden integralen Elemente zusammenarbeiten. Siemens Healthcare Diagnostics liefert Ihnen dabei den Schlüssel zum Erfolg. Unsere Lösungen kombinieren das breit gefächerte Testmenü, das Sie sich wünschen, mit den innovativen Technologien, die Sie zur effizienten Probenbearbeitung benötigen.

Unsere Assays unterstützen jedoch nicht nur Ihre klinische Exzellenz. Wir bringen unser umfassendes technisches Know-how in die Entwicklung innovativer Diagnostiklösungen ein, die ein produktiveres Arbeiten ermöglichen. Trainings, Weiterbildungen und eine Vielfalt von Service- und Supportleistungen stellen sicher, dass Ihre Arbeitsabläufe stets optimal funktionieren. So vereinen Sie ausgezeichnete klinische und Workflow-Performance für einen erstklassigen Dienst am Patienten.

Answers for life.