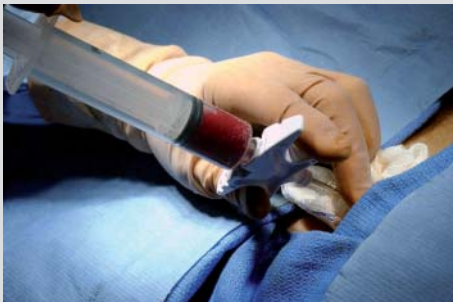


Stammzelltransplantation

Die Erfolgsgeschichte der Transplantation blutbildender (*hämatopoetischer*) Zellen begann mit einem Ereignis, das die Welt erschütterte: Nach dem Abwurf der Atombomben von Hiroshima und Nagasaki wurde rasch klar, dass radioaktive Strahlung zur Zerstörung des Knochenmarks führen kann. Diesen Umstand macht man sich heute bei der Leukämiebehandlung therapeutisch zunutze, wohl wissend, dass dabei nicht nur die bösartigen Zellen, sondern auch die gesunden Stammzellen zugrunde gehen.

Ohne spezifische Therapie wäre diese Komplikation für den Patienten tödlich, da er nicht mehr in der Lage wäre, Blutzellen jedweder Art (rote, weiße und Blutplättchen) zu bilden. 1957 gelang die erste Übertragung von stammzellhaltigem Knochenmark von einem gesunden auf einen leukämiekranken Zwilling, 1968 die erste allogene Transplantation zwischen nicht Verwandten. Heute gibt es in Deutschland über 100 Stammzell-Transplantationszentren.



Das klassische Verfahren ist die Übertragung von stammzellhaltigem Blut aus dem Knochenmark. Dem Spender wird dabei mit einer kräftigen Nadel in Vollnarkose etwa ein Liter Knochenmark-Blut-Gemisch entnommen, das aufgereinigt und in einen Blutbeutel überführt wird. Dieses Transplantat wird dann aus dem Beutel über einen Katheter in den Empfänger transfundiert.

Weniger eingreifend als diese Knochenmarkspende ist die Blutstammzellspende. Dabei wird dem Spender etwa eine Woche lang eine hormonartige Substanz (G-CSF) gespritzt, die bewirkt, dass Stammzellen aus dem Knochenmark ins Blut übergehen. Dort können sie dann mittels Apherese (Blutzellseparation) herausgefiltert und in einen Blutbeutel überführt werden.

Die transplantierten Stammzellen finden ihren Weg von selbst in die Knochen des Patienten und fangen nach etwa zehn Tagen mit der Produktion neuer Zellen an. Dabei teilen sie sich nach derzeitiger Auffassung "asymmetrisch", das heißt eine der beiden Tochterzellen behält ihre blutbildenden Stammzeleigenschaften bei, die andere reift zu einem der drei oben genannten Zelltypen und wandert in den Blutkreislauf aus.

Züchtung hämatopoetischer Stammzellen

Erste Erfolge

**Blutbildende Stammzellen spielen eine bedeutende Rolle bei der Leukämiebehandlung. Außerhalb des Körpers lassen sie sich bislang nicht in ausreichender Menge vermehren, aber die Erforschung der optimalen Milieubedingungen macht Fortschritte.**

Die hämatopoetischen Stammzellen (HSZ) sind die wohl bestuntersuchten adulten Stammzellen überhaupt. Sie werden seit über 30 Jahren für die Behandlung von Leukämiepatienten nach aggressiver Strahlen- oder Hochdosis-Chemotherapie eingesetzt, um die zerstörte Blutbildung wieder herzustellen. In Zellpräparaten enthaltene HSZ haben die Fähigkeit, über den Blutkreislauf in das Knochenmark des Patienten einzuwandern, sich dort einzunisten und ihre normale hämatopoetische Funktion aufzunehmen; so leisten sie einen entscheidenden Beitrag zur Heilung des Patienten.

Da sich die gesunden körpereigenen HSZ des Patienten nicht vollständig von den leukämischen Zellen trennen lassen, muss man in der Regel auf Spendermaterialien zurückgreifen. Neben herkömmlichen Knochenmarkspenden setzen sich zunehmend Stammzellpräparationen durch, die nach Zytokin-Stimulation aus peripherem Blut der Spender durch Apherese isoliert werden oder aus Resten von Nabelschnurblut stammen. Zunehmend propagieren kommerzielle Unternehmen zu diesem Zweck auch die vorsorgliche Einlagerung körpereigener (autologer) Nabelschnur Stammzellen von Neugeborenen, doch dies ist kritisch zu sehen: Im Nabelschnurblut von später an Leukämie erkrankten Kindern wurden bereits zum Zeitpunkt der Entnahme maligne Zellen nachgewiesen.

Die große Hoffnung der Forscher ist es natürlich, diese Zellen außerhalb des Körpers (*ex vivo*) zu züchten. Entscheidend dabei ist, dass sie ihre Stammzelei-

genschaften behalten und nicht ausreifen. Auch wenn inzwischen verschiedene Bedingungen beschrieben wurden, die die Reifung in der Zellkultur deutlich verlangsamen, lassen sich HSZ außerhalb des Körpers leider immer noch nicht in nennenswertem Maßstab expandieren.

Aufgrund von Beobachtungen an transplantierten Patienten und Versuchstieren kann man zwar davon ausgehen, dass sich menschliche HSZ grundsätzlich vervielfältigen können, aber bislang ist es den Forschern noch nicht gelungen, die *in vivo* herrschenden Expansionsbedingungen in der Zellkultur nachzustellen. Weltweit arbeitet man deshalb an der Aufklärung der Mechanismen, die die Stammzeleigenschaften *in vivo* erhalten und die Zellvermehrung steuern.

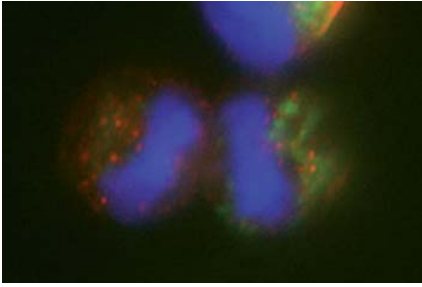
HSZ befinden sich normalerweise sowohl beim Menschen als auch bei der Maus in bestimmten Regionen im Knochenmark, den so genannten Stammzellnischen. Verschiedene Gruppen versuchen, das biochemische Milieu dieser Nischen zu charakterisieren, um es in Kultur besser nachbilden zu können.

Dr. Robert Oostendorp von der Technischen Universität München berichtete bei dem IGLD Meeting 2009, dass seine Arbeitsgruppe in der Mikroumgebung der Knochenmarkszellen von Mäusen stromale Zellen fand, die lösliches Sfrp1 (sezerniertes Frizzled-ähnliches Protein 1) produzieren. Es übt einen deutlichen Einfluss auf das Zellteilungs- und Differenzierungsverhalten von Stammzellen aus und scheint eine notwendige Voraussetzung dafür zu sein, die Zahl der murinen hämatopoetischen Stammzellen *in vivo* und *in vitro* zu erhalten.

Eigene Experimente

Oft wurde postuliert, dass sich Stammzellen asymmetrisch teilen und eine der entstehenden Tochterzellen die Stammzellefähigkeit der Pluripotenz beibehält, während die andere Tochterzelle zur Reifung bestimmt ist. Solche asymmetrischen Zellteilungen sind in Modellorganismen wie der Fruchtfliege und dem Fadenwurm sehr gut untersucht. Dort konnten auch Proteine identifiziert werden, die während der Zellteilung ungleich auf die entstehenden Tochterzellen verteilt werden und für das unterschiedliche Schicksal der beiden Tochterzellen verantwortlich sind.





*Asymmetrische Teilung einer Stammzelle: Während das rot angefärbte Protein gleichmäßig auf beide Tochterzellen verteilt wird, erhält nur eine von beiden das grün angefärbte Protein. Der blaue Farbstoff markiert die DNA der sich teilenden Zelle.*

Bei menschlichen hämatopoetischen Stammzellen suggerierten Beobachtungen

zwar ebenfalls die Fähigkeit zur asymmetrischen Teilung, jedoch waren bislang keine Proteine bekannt, die wie im Tiermodell ungleich verteilt werden. Unsere Gruppe überprüft derzeit das Modell der asymmetrischen Zellteilung. Durch eine Kombination durchflusszytometrischer und mikroskopischer Techniken ließen sich vier Proteine identifizieren, die in einigen hämatopoetischen Stamm- und Vorläuferzellen ungleich auf die bei der Teilung entstehenden Tochterzellen verteilt werden. In der Abbildung ist dies durch die unterschiedliche Fluoreszenz der markierten Antikörper erkennbar. Durch dieses Experiment konnten wir erstmals die aus Tierversuchen postulierte asymmetrische Verteilung von Proteinen in menschlichen Stamm- und Vorläuferzellen belegen.

In weiterführenden Studien untersuchen wir nun die Funktion, die diese asymmetrisch verteilten Proteine auf die beiden Tochterzellen ausüben. Wir hoffen, dadurch mehr über die Biologie dieser Zellen und ihre Züchtung außerhalb des Organismus zu lernen.

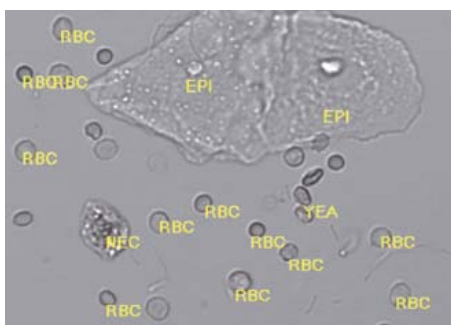
Es ist sicherlich noch ein längerer Weg, bis eine Stammzelllexpansion im klinischen Maßstab und unter klinisch kompatiblen Bedingungen durchgeführt werden kann. Wir sind aber optimistisch, dass es uns Wissenschaftlern in der kommenden Dekade gelingen wird.

Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Bernd Giebel  
Institut für Transfusionsmedizin  
Universitätsklinikum Essen  
bernd.giebel@uk-essen.de

## Effizienzgewinn durch vollständige Automatisierung des mikroskopischen Sediments

# Intelligenter Workflow im Harnlabor

**SediMAX heißt der jüngste Urin-Analyser von A. Menarini Diagnostics. Er bietet eine schnelle, anwenderfreundliche und zuverlässige Hightech Anwendung für den herkömmlichen mikroskopischen Urinsediment-Untersuchungsprozess. Diese Methode erweist sich als essentiell für eine Vielzahl von Erkrankungen.**



*Eine intelligente Software identifiziert die verschiedenen Zelltypen aufgrund morphologischer Kriterien.*

Dank seines integralen Mikroskops und seiner Bildverarbeitungs-Software kann SediMAX eine Vielzahl von Partikeln identifizieren. Daraus erstellt SediMAX eine Zählstatistik jedes Partikels der Probe und liefert eine Gesamt-Interpretation der Ergebnisse. Während SediMAX die gesamte Arbeit sorgfältig, präzise und richtig (bis

zu 80 Proben / Stunde) erledigt, kann sich der Anwender auf andere Labortätigkeiten konzentrieren. Das Besondere an dem Sedimentanalyser ist sein Gedächtnis. Nach der Testdurchführung unterstützen eine anwenderfreundliche PC-Bedienung und die komplett zugängliche Datenbank mit den gesamten Bildern am Bildschirm eine Nachbewertung der Proben für die problematischsten, vom System markierten Fälle. Die für die Erstellung der Diagnose erforderliche Erfahrung des menschlichen Anwenders und dessen Bewertung werden auf diese Weise für die Nach-Evaluierung von Proben auf dem Bildschirm systematisch mit einbezogen und genutzt.

Die auf dem Monitor angezeigten Bilder entsprechen denen der herkömmlichen mikroskopischen Untersuchung. D.h., es handelt sich um eine Gesamtgesichtsfeld-Darstellung, mit der Möglichkeit, Einzelpartikel noch zusätzlich heraus zu vergrößern. Dieses einzigartige Merkmal erlaubt auch mehr als einem Anwender gleichzeitig die Betrachtung des Bildschirms und die Diskussion der Bilder. Daraus ergibt sich der Zusatznutzen – den SediMAX für Schulungszwecke einzusetzen.

Der SediMAX bietet in Kombination mit dem Harnstreifen-Vollautomaten ein System für den kompletten Harnbefund. Verbunden werden die zwei Systeme mittels einer mechanischen Verbindungsbrücke. Mit der Kombination erhält der An-

wender einen Gesamtbefund durch eine chemische und eine Sediment-Analyse, der ihm ein Höchstmaß an Sicherheit bei der Interpretation bietet.

Nach der chemischen Analyse durch den Harnstreifen-Vollautomaten kann mittels eines integrierten PC-Interfaces eine Zuweisung ausschließlich der positiven Proben zum SediMAX für die Sediment-Analyse erfolgen. Am Ende des Prozesses erscheint der gesamte Befund sowohl aus chemischer als auch Sediment-Analyse simultan auf dem Bildschirm. In der Kopplung bilden Harnteststreifenautomat und SediMAX damit ein optimales Gespann zur Erreichung von Qualität, Ergebnissicherheit und schnellerer Befunderstellung.

Durch den vollautomatischen Kombinationsbetrieb sowohl der Teststreifenanalytik als auch des Harnsediments wird die erwünschte Optimierung der Labororganisation (Workflow-Optimierung) im Harnlabor erreicht. Einfach, zuverlässig sowie zeit- und kostensparend erfüllt SediMAX die Anforderungen von Labors aller Größen. Damit wird er sich in kürzester Zeit als unersetzlicher Bestandteil effizienter Labore erweisen.

Dr. Christian Heller, Produktmanager  
A. Menarini Diagnostics Deutschland  
Division der BERLIN-CHEMIE AG  
Glienicke Weg 125, 12489 Berlin  
cheller@menarinidiagnostics.de