

LabTOPs

Wissenswertes aus der
Laboratoriumsmedizin

17. Ausgabe – Januar 2015

Laboranalytik bei der autologen Stammzelltransplantation

Dr. sc. nat. Hannah Rieger
Oliver Röhrig
Dagmar Deuble

(eine Kooperation mit dem Zentralinstitut für
Transfusionsmedizin & Blutspendedienst)

Kurz-Portrait zweier Auto-Antikörper mit hohem Vewechslungs-Potential

Anja Effenberger-Klein

LabTOPs Wissenswertes aus der Laboratoriumsmedizin

Laboranalytik bei der autologen Stammzelltransplantation

Dr. sc. nat. Hannah Rieger¹, Oliver Röhrig², Dagmar Deuble²

¹Zentralinstitut für Klinische Chemie & Laboratoriumsmedizin,
²Zentralinstitut für Transfusionsmedizin & Blutspendedienst

Die autologe Stammzelltransplantation wird im Rahmen der Hochdosistherapie (Chemotherapie, Bestrahlung) von vielen onkologischen Erkrankungen durchgeführt, vor allem beim Multiplen Myelom, bei Hodgkin- und Non-Hodgkin-Lymphomen, Keimzelltumoren und bestimmten Sarkomtypen. Sie ermöglicht in vielen Fällen eine Heilung oder verlängert deutlich die rückfallfreie Zeit.

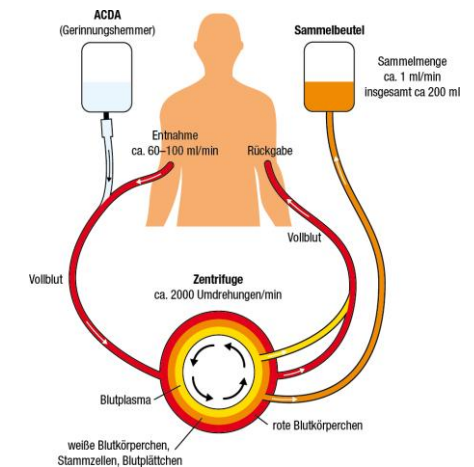
Die erhöhte Chemotherapiedosis führt allerdings zu einer erheblichen Schädigung der Blutbildung im Knochenmark. Um dieser Schädigung entgegenzuwirken, werden ca. 1 Tag nach Gabe der hochdosierten Chemotherapie die Stammzellen transplantiert, die sich im Knochenmark ansiedeln und dort die Blutbildung wiederherstellen. So lässt sich die Wirkung der Hochdosistherapie optimal nutzen.

Verfahren der autologen peripheren Blutstammzelltransplantation:

Bei der autologen peripheren Stammzelltransplantation werden dem Patienten vor der Hochdosistherapie Stammzellen aus dem peripheren Blutkreislauf entnommen. Die Ausschwemmung (Mobilisierung) von Blutstammzellen aus dem Knochenmark ins periphere Blut erfolgt durch die Gabe von Wachstumsfaktoren (G-CSF) und z.T. Chemokinrezeptor-Antagonisten, meist nach einer sogenannten Mobilisierungs-Chemotherapie. Im Labor wird am Ende dieser Phase, meist täglich, die Menge der Stammzellen im peripheren Blut bestimmt (Monitoring). Sobald eine ausreichende Menge an Stammzellen vorhanden ist, werden diese aus dem peripheren Blut gesammelt (Apherese). Die Menge der Stammzellen im Apheresat wird bestimmt und es wird solange gesammelt, z.T. auch an mehreren Tagen, bis eine für die Therapie ausreichende Menge an Stammzellen gewonnen wurde. Anschließend wird das Apheresat kryokonserviert und in der Gasphase über flüssigem Stickstoff bei $<-140^{\circ}\text{C}$ gelagert. 1 Tag nach Ende der Hochdosischemotherapie werden die Stammzellen in einem dafür

geeigneten Gerät innerhalb von 2 Minuten aufgetaut, auf 37°C erwärmt und über einen zentralvenösen Zugang retransfundiert.

Stammzellapherese in der Blutzentrale:



(https://www.cellex.me/informationen-fuer-spende/entnahme/periphere-stammzellennahme/PBSC_K.png)

Die Sammlung von peripheren Blutstammzellen erfolgt über einen sogenannten Zellseparator unter Citratantikoagulation. Dafür sind 2 Zugänge zum Patienten (periphere Venen oder zweilumiger Shaldonkatheter) erforderlich. Über den einen Schenkel fließt das Blut in die Maschine, wird zentrifugiert und durch optische Sensoren die sog. Buffycoatschicht, in der sich die Blutstammzellen befinden, ermittelt. Diese wird mittels Pumpen in den Präparatebeutel überführt. Alle anderen Blutbestandteile gelangen über den zweiten Zugang zurück zum Patienten.

Eine Stammzellsammlung dauert in der Regel ca. 5 Stunden und findet unter Kreislaufmonitoring statt. Um einer citratbedingten Hypocalcämie vorzubeugen erhält der Patient kontinuierlich Calcium über einen Perfusor. In der Regel wird das Verfahren von den Patienten sehr gut toleriert.

Stammzellmessung im Labor:

Die Zählung der Stammzellen erfolgt im Labor mit Hilfe der Durchflusszytometrie. Hierbei werden die Proben aus EDTA-Blut oder dem Apheresat mit Fluoreszenz-markierten

Antikörpern versetzt, die an das Stammzellantigen CD34 bzw. den Pan-Leukozytenmarker CD45 binden.



CD34-Stammzellmessung am Durchflußzytometer

Bei der folgenden Messung werden mit einer Laser-gestützten Analyse bis zu 100.000 Leukozyten ausgewertet.

Um eine genaue Quantifizierung, unabhängig von einer Messung am Hämatologie-Automaten zu erhalten, werden den Proben Quantifizierungs-Beads zugesetzt, die eine genau bekannte Konzentration aufweisen.

Um sicherzustellen, dass nur vitale Stammzellen gezählt werden, wird zusätzlich ein Vitalfarbstoff (7AAD, Amino-Actinomycin) verwendet, der an die DNA von toten Zellen bindet und es dadurch ermöglicht, diese von der Zählung auszuschließen.

Literatur: Klinker & Weißinger (2004), Autologe Stammzelltransplantation, Bayrisches Ärzteblatt (2): S. 118.

Kurz-Portrait zweier Auto-Antikörper mit hohem Verwechslungs-Potential

Anja Effenberger-Klein

Zentralinstitut für Klinische Chemie & Laboratoriumsmedizin

In letzter Zeit sind im Labor gehäuft Falsch-Anforderungen der ähnlich klingenden Auto-Antikörper SM-AK (Smooth Muscle bzw. anti-Glatte-Muskulatur-AK) und Sm-AK (Smith-AK) aufgefallen, daher stellen wir im Folgenden beide Auto-Antikörper kurz vor, um die Anforderung der jeweils korrekten Analyse zu erleichtern.

1. SM-AK (ASMA)

= Smooth Muscle-AK = Glatte-Muskulatur-Auto-AK

Zielantigen(e):

Die Autoantikörper können sich gegen unterschiedlichen Antigene im Zytoplasma der glatten Muskelzellen richten

(Actin, Myosin, Tropomyosin, Troponin u.a.) und erzeugen je nach Target im indirekten Immunfluoreszenztest ggf. unterschiedliche zytoplasmatische Fluoreszenzmuster. Die SM-AK (=ASMA, GM-AK) gehören zu den Auto-Antikörpern ohne Organspezifität.

Vorkommen (in absteigender Sensitivität):

- Autoimmun-Hepatitis Typ 1
(in der Subspezifität anti-Actin-AK, häufig hochtritiv positiv, häufig zusammen mit positiven ANAs und SLA/LP-AK)
- Primär biliäre Zirrhose (PBC)
(häufig zusammen mit positiven ANAs und AMAs, v.a. in der Subspezifität anti-M2-AK)
- Autoimmun-Hepatitis Typ 2
(häufig zusammen mit pos. LKM1- und LC1-AK)
- Chronische Lebererkrankungen (v.a. HCV, HBV)
- Akute Leberaffektionen (z.B. virale Infektionen mit Hepatitisviren, CMV, EBV), hierbei in der Regel eher niedrigtritiv positiv
- Toxische Leberaffektionen (v.a. Alkohol)
- Glutensensitive Enteropathie (Zöliakie)
- Malignome (v.a. HCC, aber auch Lebermetastasen anderer Malignome).

Bestimmung im Labor:

Quantitativ mit indirektem Immunfluoreszenz-Test (IIFT)

Anforderung: Material: ca. 1 ml Serum
Karte ixserv: „Spezial-Analytik“ → „ASMA“

2. Sm-AK (SmD-AK)

= Smith-AK = Spliceosomen-AK

Zielantigen:

Die Autoantikörper richten sich gegen das Core-Protein des U1-snRNP-Partikels (Spliceosom) im Zellkern und gehören damit zu den ENAs (=extrahierbare nukleäre Antikörper). SmD-AK setzen immer einen positiven ANA-Nachweis im IIFT voraus, das Fluoreszenzmuster ist mittel- bis grobgranulär.

Die Sm-AK (=SmD-AK) gehören zu den Auto-Antikörpern ohne Organspezifität.

Vorkommen:

Systemischer Lupus Erythematoses (SLE)

- hierfür sind die SmD-AK hochspezifisch, aber nicht

sehr sensitiv, da sie nur bei ca. 20-30% der Patienten vorkommen, bei Kaukasiern sogar nur bei 10-15%)

- ein Nachweis von SmD-AK bei SLE korreliert häufig mit schweren Organmanifestationen

Von Bedeutung sind negative SmD-AK bei der Diagnose von Mischkollagenosen (Sharp Syndrom, MCTD), da Negativität bei gleichzeitig positivem Nachweis von U1-snRNP-AK und negativen dsDNA-AK eine hohe Sensitivität und Spezifität für Mischkollagenosen aufweist.

Bestimmung im Labor:

Qualitativ: ENA-Screen (Blot oder ELISA)

Quantitativ: ELISA

Anforderung: Material: ca. 1 ml Serum
Karte ixserv: „Spezial-Analytik“
- qualitativ → „ENA-Profil“
- quantitativ → „SmD-AK“

Abkürzungen (die im Text nicht erklärt sind):

ANA	= antinukleäre Antikörper
SLA/LP	= soluble liver antigen / liver pancreas (antigen)
AMA	= antimitchondriale Antikörper
LKM1	= liver-kidney-mikrosom 1 (antigen)
LC1	= Lebercytosol 1 (-Antigen)
HCV	= Hepatitis C-Virus
HBV	= Hepatitis B-Virus
CMV	= Cytomegalie-Virus
EBV	= Epstein-Barr-Virus
HCC	= hepatozelluläres Carcinom
ELISA	= enzyme linked immunosorbent Assay

Kontakt:

Redaktion: Dr. med. Maria Shipkova

Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin mit Laborpraxis,
Ärztlicher Direktor Prof. Dr. med. Eberhard Wieland
Zentrum für Diagnostik
Klinikum Stuttgart
Kriegsbergstraße 60
70174 Stuttgart
Tel. 0711 278-34801
E-Mail: e.wieland@klinikum-stuttgart.de

www.klinikum-stuttgart.de
www.labor-wieland.de