

Neues gkf-Projekt

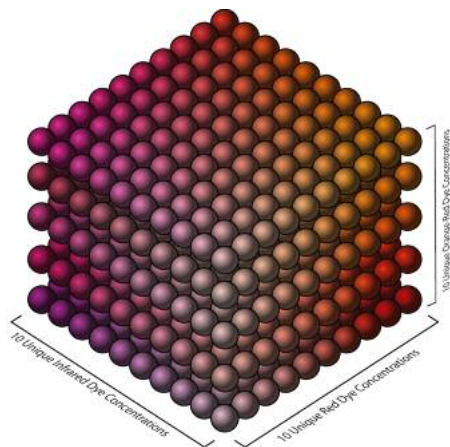
Perlen für die Diagnostik

Wie kann man die Diagnostik und die Verlaufskontrolle beim malignen Lymphom, einem bösartigen Lymphdrüsenkrebs, verbessern? Um diese Frage zu beantworten, erproben die Wissenschaftler Ingo Nolte, Hugo Murua Escobar und Nina Eberle von der Klinik für Kleintiere der Stiftung Tierärztliche Hochschule eine neue Diagnostikmethode, die mithilfe mikroskopisch kleiner Perlen spezielle Botenstoffe der Zellen aufspürt und dabei besonders effizient arbeitet.

Das maligne Lymphom ist der häufigste Blutkrebs bei Hunden. Durchschnittlich 114 Tiere von 100.000 erkranken daran. Es ist eng verwandt mit dem Non-Hodgkin-Lym-

phom (NHL) des Menschen. Daher kann die Erforschung des malignen Lymphoms beim Hund eventuell auch wichtige Erkenntnisse für Diagnostik und Therapie des NHL beim Menschen erbringen.

Die gute Nachricht für alle Hundefreunde ist, dass das maligne Lymphom des Hundes gut auf eine Chemotherapie anspricht. Entscheidend für den Therapieerfolg sind jedoch eine frühzeitige Erkennung und Behandlung sowie die Verlaufskontrolle der Behandlung. Bei letzterer wird in regelmäßigen Abständen überprüft, ob und wie die therapeutischen Maßnahmen bei dem Patienten wirken, um bei mangelhafter Wirksamkeit oder schweren Nebenwirkungen die Behandlung zu verändern.



Graphik mit freundlicher Genehmigung von Luminex. Die Miniperlen in 500 verschiedenen Rottönen.

Marker als Kennzeichen

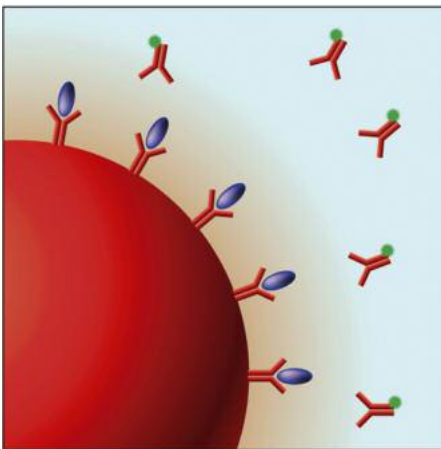
Um die Diagnose und Verlaufskontrolle beim malignen Lymphom zu verbessern, erforscht die Arbeitsgruppe der TiHo Hannover, ob bei dieser Erkrankung besondere Marker oder Markermuster im Blut der Patienten festzustellen sind. Als Marker werden biochemische Stoffe bezeichnet, die typischerweise bei einer bestimmten Krankheit vermehrt im Körper auftreten. Im Idealfall können Marker der Frühdiagnostik dienen oder Aufschluss über die Schwere der Erkrankung, den Therapieerfolg und die Aussichten des Patienten geben. In einigen

Tabella: Abkürzungen

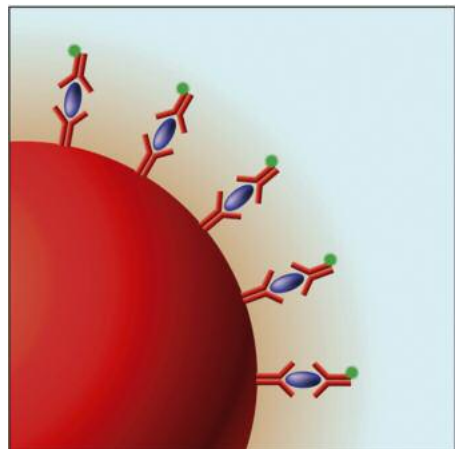
HMGB1	High mobility group protein 1 erhöht bei malignem Lymphom. Körper eigener „Alarmstoff“, wird beim Zelltod und schweren Erkrankungen freigesetzt.
IL-1β	Interleukin 1 β ist ein hochwirksamer Botenstoff bei Entzündungen, löst beispielsweise Fieber aus.
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom, bösartige Krebserkrankung beim Menschen.
sRAGE	Soluble Receptor of Advanced Glycation End-Products. Erhöht bei malignem Lymphom. Ursprünglich eine Andockstelle (Rezeptor) auf der Zellmembran für bestimmte Stoffe, die aus Verbindungen von Zuckern mit Eiweißen entstehen.

Fällen können Marker auch bei der Wahl eines für den individuellen Fall besonders gut geeigneten Medikaments helfen. Als mögliche Marker des malignen Lymphoms haben die Hannoveraner Wissenschaftler bestimmte Zytokine, Botenstoffe der Zellen, ins Visier genommen. Dabei interessieren sie sich vor allem für Stoffe,

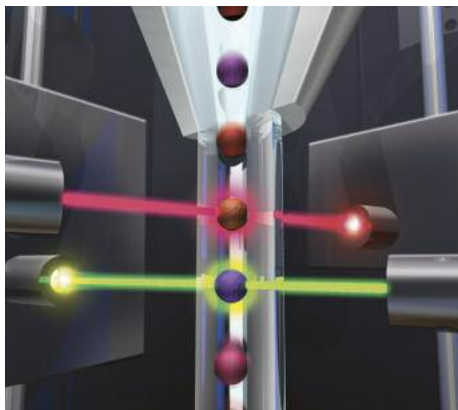
die vermehrt bei Lymphom-Erkrankungen zu finden sind, wie die Arbeitsgruppe in vorangegangenen Studien festgestellt hatte. Daneben werden auch Botenstoffe überprüft, die bei Entzündungen wichtige Funktionen haben. Diese Stoffe sind ins Blickfeld der Forscher geraten, weil das maligne Lymphom wie sein Pendant NHL beim



Graphik mit freundlicher Genehmigung von Luminex. Der gesuchte Stoff (violette „Eier“) hat sich an die Antikörper auf der Oberfläche des Beads angelagert. An die frei schwimmenden Detektionsantikörper ist ein besonderer Farbstoff, der Reporterfarbstoff (grünes Kügelchen), gekoppelt.



Graphik mit freundlicher Genehmigung von Luminex. Die Zielstoffe sind fest an die Miniperle gebunden und über die Detektionsantikörper mit dem Reporterfarbstoff markiert.



Graphik mit freundlicher Genehmigung von Luminex. Der rote Laserstrahl identifiziert die Art des Beads, der grüne Laser bringt - wenn vorhanden- den Reporterfarbstoff zum Fluoreszieren und registriert so, ob die Miniperle mit dem Zielstoff beladen ist.

Menschen vom Abwehrsystem ausgeht und möglicherweise das Ergebnis einer außer Kontrolle geratenen Abwehrreaktion ist.

Präparierte Perlen

Zum Aufspüren der Zytokine verwenden die Forscher eine neue Technologie namens Luminex xMAP Technologie. Bei dieser Technik werden winzige in unterschiedlichen Rottönen gefärbte Perlen (Fachbegriff „Beads“ von englisch „Perle“) eingesetzt. Diese Kügelchen sind nur 5,6 Mikrometer groß und daher für das bloße Auge nicht sichtbar. Sie werden so präpariert, dass die Beads derselben Färbung nur jeweils einen der gesuchten Stoffe (Zielstoff/target) an sich binden können.

Nachdem sich die Beads in der Probe mit ihrem jeweiligen Zielstoff, in diesem Fall einem der gesuchten Botenstoffe, verbun-

den haben, werden der Mischung sogenannte Detektionsantikörper, die an einen Reporterfarbstoff gekoppelt sind, zugegeben. Miniperle, Zielstoff und die Detektionsantikörper mit dem Reporterfarbstoff bilden dann einen festen Komplex.

Diese Komplexe werden durch zwei Laser mit je einer bestimmten Lichtfarbe (Wellenlänge) geschickt. Ein roter Laser bringt den speziellen roten Farbton eines Kügelchens zum Fluoreszieren und identifiziert auf diese Weise das jeweilige Bead. Der zweite Laser lässt den Reporterfarbstoff aufleuchten, so dass das angeschlossene Lesegerät sofort erkennt, ob an der Perle der Zielstoff gebunden ist. Schließlich errechnet ein Computer, welche Zielstoffe in welcher Menge in der Probe vorhanden waren. Es entsteht also ein genaues Bild über den Gehalt der Probe an allen gesuchten Stoffen.

Schneller und effizienter

Die neue Luminex xMAP Technologie hat gegenüber traditionellen Methoden der Analyse entscheidende Vorteile. Mithilfe der mittlerweile 500 unterschiedlichen Färbungen der Beads kann eine Vielzahl von Analysen gleichzeitig mit derselben Probe durchgeführt werden. Das spart viel kostbare Zeit. Darüber hinaus ist die benötigte Probenmenge dabei wesentlich kleiner als bei herkömmlichen Methoden - nur noch wenige Tropfen statt vieler Milliliter Blut müssen dem Patienten entnommen werden. Schließlich können so nicht nur Einzelstoffe sicher aufgespürt, sondern auch ein typisches Stoffmuster für die entsprechende Krankheit auf einen Blick erkannt werden.

Das Team der TiHo kann für einen Großteil der gesuchten Zytokine auf ein Perlenset zurückgreifen, das als 'Milliplex MAP Canine Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel' bereits kommerziell erhältlich ist. Für den Nachweis von drei weiteren Zytokinen (HMGB1, sRAGE und IL-1 β), deren Werte beim malignen Lymphom erhöht sind, wie die Forscher in vorangegangenen Studien selbst festgestellt haben, müssen sie das neue System erst noch erproben und justieren.

Im Rahmen der Studie werden die Wissenschaftler Proben von etwa 150 Hunden mit malignem Lymphom untersuchen und mit Proben von 30 gesunden Hunden vergleichen. 270 Proben von 90 Patienten stammen aus einer Gewebekbank mit tiefgefrorenem Material, das die Forscher selbst in den vergangenen 10 Jahren gesammelt haben. Darüber hinaus erwartet das Team während der Laufzeit der Studie die Proben von etwa 60 Hunden mit malignem Lymphom aus dem laufenden Klinikbetrieb. Insgesamt werden drei Proben von jedem Patienten untersucht.

Die erste Probe wird vor dem Beginn der Chemotherapie entnommen, die zweite in

der Mitte der Behandlung und die dritte nach Abschluss der Therapie - so können die Forscher feststellen, wie sich die Werte der Zytokine im Verlauf der Therapie verändern und welche sich als Marker für die Diagnose, Therapiekontrolle und Prognose von Patienten mit malignem Lymphom eignen.

(Barbara Welsch)

Titel des Forschungsvorhabens **Charakterisierung des Zytokinexpressionsmusters bei Hunden mit malignem Lymphom und Einfluss auf das Ansprechen bei Zytostatikatherapie.**

Kontakt

Prof. Dr. Ingo Nolte
PD Dr. Hugo Murua Escobar
Dr. Nina Eberle
Klinik für Kleintiere
Stiftung Tierärztliche Hochschule
Hannover
Bünteweg 9
30559 Hannover
ingo.nolte@klt.tiho-hannover.de

Gesellschaft zur Förderung Kynologischer Forschung e. V.



**Forschung
für den Hund**

Postfach 14 03 53
53058 Bonn
Service-Telefon (0180) 334 74 94
www.gkf-bonn.de



**UNTERSTÜTZEN
SIE DIE GKF!**

Volksbank Bonn · BLZ 380 601 86 · KTO 100 10 10 014