Aus der Abteilung Gastroenterologie und Endokrinologie
(Prof. Dr. med. Dr. h.c. G. Ramadori)
im Zentrum Innere Medizin
der Medizinischen Fakultät der
Universität Göttingen

Bestimmung von Pentraxin-3 im Blutserum und dessen Bedeutung für Lebererkrankungen

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
für Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Jens Göbel
aus
Wolfhagen

Göttingen 2011

Dekan: Prof. Dr. med. C. Frömmel

I. Berichterstatter: Prof. Dr. med. G. Ramadori

II. Berichterstatter/in: Prof. Dr. med. Oellerich

III. Berichterstatter/in: Priv.-Doz. Dr. med. Lorf

Tag der mündlichen Prüfung: 05.03.2013

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACTH	Adrenokortikotropes Hormon
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
APP	Akute-Phase-Protein
AST	Aspartat-Aminotransferase
C1q	Komplementfaktor 1q
CD	Morbus Crohn („Crohn Disease“)
CRP	C-reaktives Protein
DC	Dendritische Zellen
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GDF-9	Growth differentiation factor-9
GGT	Gamma-Glutamyltransferase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
hCG	Humanes Choriongonadotropin
HCV	Hepatitis C-Virus
ICAM-1	Interzelluläres Adhäsionsmolekül-1
IL	Interleukin
INF	Interferon
kDA	Kilodalton
LTX	Lebertransplantation
LPS	Lipopolysaccharid
MBL	Mannose-bindendes Lectin
MW	Mittelwert
mRNA	Messenger-RNA
NAFLD	Nonalcoholic fatty liver disease
NARP	Neuronal pentraxin 2
NASH	nicht-alkoholische Steatohepatitis
OmpA	Outer membrane protein A

Ox-LDL	Oxidierte low density Lipoproteine
PAMP	Pathogen-associated molecular patterns
PR	Propylenröhrchen
PRR	Pattern recognition receptor
PSGL-1	P-selectin glycoprotein-1
PTX3	Pentraxin-3
PTX4	Pentraxin-4
®	Geschützter Markenname
RNA	Ribonukleinsäure
SAP	Serum-Amyloid-Protein
STABW	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
TLR	Toll-like receptor
TNF-α	Tumor necrosis factor -α
TSG-14	Tumor necrosis factor-α stimulated gene-14
t-Test	Student t-Test
U/l	Einheit pro Liter
UC	Colitis ulcerosa („Ulcerative colitis“)
vgl.	vergleiche
vs.	Versus

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1	**Einleitung**	1
1.1	Definition von Pentraxin-3 (PTX3)	1
1.2	Die Gruppe der „Pattern Recognition Receptors“	1
1.3	Eigenschaften von PTX3	2
1.3.1	Aufbau von PTX3	2
1.3.2	Produktions- und Bildungsorte	3
1.4	Induzierende Substanzen	4
1.5	Aufgabenbereich in der Immunabwehr	5
1.5.1	Funktion als Opsonin	5
1.5.2	Funktion bei der Aktivierung des Komplementsystems und bei der Apoptose	6
1.5.3	Funktion als immunregulatorisches Molekül	6
1.6	Aufgabe beim Aufbau der extrazellulären Matrix des Cumulus oophorus	7
1.7	PTX3-Serumkonzentration und Erhöhungen bei verschiedenen Erkrankungen	8
1.8	Hauptfunktionen der Leber	10
1.8.1	Die Akute-Phase-Reaktion der Leber	10
1.8.2	Der Einfluss der intestinalen Endotoxine bei der Akute-Phase-Reaktion	12
1.9	Krankheitsformen der Leber	13
1.9.1	Steatosis hepatis	13
1.9.2	Hepatitis	13
1.9.3	Leberzirrhose	13
1.9.4	Hepatozelluläres Karzinom	14
1.10	Lebertransplantation	14
1.10.1	Indikation	14
1.10.2	Postoperative Nachsorge	14

1.11	Klinisch-diagnostische Parameter	15
1.11.1	C-reaktives Protein	15
1.11.2	Alanin-Aminotransferase	15
1.11.3	Aspartat-Aminotransferase	15
1.11.4	Alkalische Phosphatase	16
1.11.5	Gamma-Glutamyltransferase	16
1.12	Zielsetzung der Arbeit	17
2	**Material und Methode**	18
2.1	Klinisch-diagnostische Parameter	18
2.2	Patientenselektion	18
2.3	Bestimmung der PTX3-Messwerte	18
2.3.1	Testverfahren	20
2.3.1.1	Vorbehandlung von Standards und Proben	20
2.3.1.2	Versuchsdurchführung	22
2.4	Datenauswertung	23
2.5	Statistische Methoden	23
3	**Ergebnisse**	24
3.1	Einfluss des Alters auf die PTX3-Werte	24
3.1.1	Altersvergleich bei Messungen drei oder mehr Monate nach Lebertransplantation	24
3.1.2	Altersvergleich bei Messungen fünf oder mehr Monate nach Lebertransplantation	25
3.2	Einfluss des Geschlechts auf die PTX3-Werte	25
3.2.1	Messungen drei oder mehr Monate nach Lebertransplantation	25
3.2.2	Messungen fünf oder mehr Monate nach Lebertransplantation	26
3.3	Patienten ohne Lebertransplantation	27
3.4	Patienten mit Lebertransplantation	28
3.4.1	Messungen drei oder mehr Monate nach Lebertransplantation	28
3.4.2	Messungen fünf oder mehr Monate nach Lebertransplantation	29
3.4.3	Vergleich der PTX3-Mittelwerte der drei Untersuchungskollektive	30

3.5	Vergleiche mit anderen klinisch-diagnostischen Parametern	31
3.5.1	Vergleich mit CRP	31
3.5.2	Vergleich mit AST	33
3.5.3	Vergleich mit ALT	34
3.5.4	Vergleich mit AP	35
3.5.5	Vergleich mit GGT	36
3.6	Vergleich der prozentualen Abweichungen vom Normwert bei den verschiedenen klinisch-diagnostischen Parametern	37
4	**Diskussion**	38
4.1	Diskussion der Methode hinsichtlich des Effekts von Geschlecht und Alter	38
4.2	Diskussion der erhobenen Daten	39
5	**Zusammenfassung**	47
6	**Anhang**	48
6.1	Patienteninformation und Patienteneinwilligung	48
6.2	Tabellen	50
7	**Literaturverzeichnis**	53

1 Einleitung

1.1 Definition von Pentraxin-3 (PTX3)

Bei PTX3 handelt es sich um einen löslichen Rezeptor, der zur Familie der Pentraxine gehört. Ein Synonym für PTX3 stellt TSG-14 (Tumor necrosis factor-α stimulated gene-14) dar. Dies war der erste Name für das Protein, weil es ursprünglich als ein Gen identifiziert wurde, das die TNF-α-Produktion in Fibroblasten anregte (LEE TH et al. 1990). Als ein Bestandteil des humoralen Armes der Immunabwehr kommt ihm eine besondere Bedeutung innerhalb des Immunsystems zu. Die Pentraxine sind Akute-Phase-Proteine der unspezifischen Immunabwehr und stellen eine Superfamilie von Proteinen dar, die durch eine zyklische multimere Struktur sowie eine bestimmte, annähernd 200 Aminosäuren lange sogenannte Pentraxin-Domäne charakterisiert sind. Dabei weisen alle Mitglieder innerhalb dieser Domäne eine identische, acht Aminosäuren lange Signatur auf (PEPYS und HIRSCHFIELD 2003). Ausgehend von der Primärstruktur der Untereinheit lassen sie sich in die zwei Gruppen der langen und der kurzen Pentraxine einteilen (MANTOVANI et al. 2008).

PTX3 ist ein typisches Beispiel für ein langes Pentraxin und wurde als erstes Protein dieser Gruppe entdeckt (LEE GW et al. 1994). Als weitere bisher bekannte Mitglieder führten OMEIS et al. (1996) Neuronal pentraxin 1 sowie HSU und PERIN (1995) Neuronal pentraxin 2, auch NARP genannt, an. Erst kürzlich entdeckten MARTINEZ DE LA TORRE et al. (2010) ein neues, als Pentraxin-4 (PTX4) bezeichnetes langes Pentraxin, dessen spezifische messenger-RNA (mRNA) sich von der der anderen Mitglieder der Pentraxinfamilie unterscheidet. Zu den kurzen Pentraxinen gehören als bekannteste Vertreter das C-reaktive Protein (CRP) und das Serum-Amyloid-Protein (SAP), zwei Akute-Phase-Proteine, die als Folge von Entzündungsprozessen auf Interleukin-6 (IL-6)-Einwirkung in der Leber gebildet werden können. Dabei nimmt besonders CRP in der Klinik als Messparameter für diagnostische Zwecke eine wichtige Rolle ein.

1.2 Die Gruppe der „Pattern Recognition Receptors“

Die Pentraxine lassen sich der Gruppe der „Pattern Recognition Receptors“ (PRRs) zuordnen. Diese Rezeptoren können Antigene anhand gewisser charakteristischer Musterstrukturen identifizieren. Bei diesen pathogenen Mustern handelt es sich um sogenannte „pathogen-

associated molecular patterns“ (PAMPs), bestimmte erkennbare Strukturmotive, die für ein breites Mikroorganismenspektrum typisch sind. Die PRRs sind Bestandteile des unspezifischen Immunsystems und leisten einen wichtigen Beitrag zur Einleitung der Immunantwort (TAKEUCHI und AKIRA 2010). Sie können in die Untergruppen der löslichen PRRs, der Oberflächen-PRRs und der intrazellulären PRRs eingeteilt werden.

Neben den Pentraxinen werden auch die Komplement-Faktoren und das Mannose-bindende Lectin (MBL) zu den löslichen PRRs gezählt. Diese Rezeptoren zirkulieren frei im Blut umher, bis sie auf ein entsprechendes PAMP treffen, mit dem sie eine Bindung eingehen können. Funktionell stellen sie Vorfahren von Antikörpern dar und spielen als Effektoren und Modulatoren des angeborenen Immunsystems eine Schlüsselrolle bei Entzündungsprozessen (BOTTAZZI et al. 2009).

1.3 Eigenschaften von PTX3

PTX3 wurde in den neunziger Jahren des letzten Jahrhunderts entdeckt. Verschiedene Untersuchungen über den Aufbau, die Bildung und die Herstellung sowie die Wirkung dieses Proteins wurden durchgeführt. Als ein löslicher PRR gehört es zur unspezifischen Immunabwehr (REBELO et al. 2009).

1.3.1 Aufbau von PTX3

In seiner Primärstruktur setzt sich PTX3 aus 381 Aminosäuren zusammen und hat ein Molekulargewicht von 45 Kilodalton (kDA) (MANTOVANI et al. 2008). Die C-terminale Domäne besteht aus 203 Aminosäuren und ähnelt derjenigen der kurzen Pentraxine CRP und SAP. Hinsichtlich der 178 Aminosäuren langen N-terminalen Domäne unterscheidet es sich hingegen von den kurzen Pentraxinen. Bei Untersuchungen an der Maus stellten INTRONA et al. (1996) genetische Informationen für PTX3 fest. Im menschlichen Genom ist PTX3 auf dem Chromosom 3q (q24-28) lokalisiert und besteht aus drei Exons. Das erste und das zweite Exon codieren das Signalpeptid sowie einen Proteinanteil, der keine besondere Ähnlichkeit zu sonst bekannten Sequenzen aufweist. Das dritte Exon enthält die klassische Pentraxindomäne (H-x-C-x-S/T-W-x-S) (INTRONA et al. 1996). Unterschiede zu CRP und SAP gibt es in Hinsicht auf Größe und Gewicht (45 kDA bei PTX3 gegenüber 23 kDA bei CRP), genetische

Organisation (3 Exons vs. 2 Exons), chromosomale Lokalisation (3 vs. 1) und auf induzierende Substanzen und Bildungsorte im Körper. Zudem gilt PTX3 im Gegensatz zu CRP und SAP als ein hoch konserviertes Protein im Verlauf der Evolution, es lässt sich von den Spinnentieren bis hin zu den Säugetieren nachweisen. Das bei der Maus untersuchte PTX3 ist mit dem des Menschen identisch. Dadurch ergibt sich die Möglichkeit, bei Ergebnissen aus Tierversuchen Rückschlüsse auf den Menschen ziehen zu können.

1.3.2 Produktions- und Bildungsorte

Während die kurzen Pentraxine CRP und SAP nur in der Leber produziert werden, kann PTX3 von vielen unterschiedlichen Zellarten gebildet werden, wobei verschiedene Mediatoren stimulierend oder hemmend wirken können. Aus diesem Umstand lässt sich erklären, dass PTX3 schneller verfügbar und nachweisbar ist als CRP, da es unmittelbar lokal von Zellen hergestellt werden kann und nicht erst in der Leber synthetisiert werden muss. Mononukleare Phagozyten und dendritische Zellen (DCs) werden als zwei der Hauptquellen für PTX3 angesehen.

Außerdem wurde eine PTX3-Bildung in Hepatozyten, bei Endothelzellen (BREVIARIO et al. 1992), Adipozyten (ABDERRAHIM-FERKUONE et al. 2003), Fibroblasten (GOODMAN et al. 2000), glatten Muskelzellen (KLOUCHE et al. 2004) sowie Chondrozyten und Synovialzellen nachgewiesen. NAUTA et al. (2005) stellten eine Produktion im Nierenepithel und DOS SANTOS et al. (2004) im Alveolarepithel fest. In neutrophilen Granulozyten wurden PTX3-Ansammlungen in speziellen Granula vorgefunden, die bei Entzündungsanzeichen rasch freigesetzt werden können. Bei eosinophilen und basophilen Granulozyten wurde dies hingegen nicht beobachtet. Neutrophile Granulozyten, denen die PTX3-Granula fehlten, wiesen eine mangelhafte Erkennung und Bekämpfung der Pathogene auf. Daraus lässt sich ableiten, dass PTX3 eine wichtige Rolle für die unspezifische Immunität besitzt und eine Funktion als opsonierende Substanz ausübt, wodurch neutrophile Granulozyten Antigene erkennen und beseitigen können (JAILLON et al. 2007).

1.4 Induzierende Substanzen

Je nach Gewebeart traten verschiedene stimulierende oder auch hemmende Substanzen für die PTX3-Produktion in Erscheinung. Als auslösende Reize für die Bildung und Freisetzung von PTX3 gelten primäre, durch Zytokine oder pathogene Moleküle von Mikroorganismen wie Lipopolysaccharid (LPS) oder „Outer membrane protein A“ (OmpA) bewirkte Entzündungssignale. TNF-α und IL-1b induzieren in Fibroblasten und in Endothelzellen die PTX3-Bildung, dieselbe Wirkung besitzt auch LPS (HAN et al. 2005). IL-4 soll nach ALLES et al. (1994) die Wirkung von IL-1b bei Monozyten blockieren können. Für IL-10 wurde von PERRIER et al. (2004) eine schwach induzierende Wirkung für die PTX3-Produktion in DCs und Monozyten nachgewiesen. Interferon-γ (IFN-γ) wurde von POLENTARUTTI et al. (1998) eine modulierende Funktion zugeschrieben, indem es die LPS-induzierte PTX3-Bildung reduziert. Aspergillus fumigatus fördert die PTX3-Produktion durch dendritische Zellen und Phagozyten, jedoch nicht durch Lymphozyten und Fibroblasten.

Glucocorticoide wirken inhibierend in hämatopoetischen Zellen wie DCs und Makrophagen. In anderen Zelltypen wie Fibroblasten oder Endothelzellen haben sie hingegen einen stimulierenden Effekt (DONI et al. 2008). Bei Patienten mit Cushing-Syndrom treten erhöhte PTX3-Spiegel auf, während sie bei Patienten mit Hypokortisolismus erniedrigt sind. MALAGUARNERA et al. (2000) registrierten ansteigende PTX3-Werte unter dem Einfluss von IL-6 bei Morbus Castleman. KLOUCHE et al. (2002) wiesen dies ebenfalls beim Kaposi-Sarkom nach.

In vaskulären Endothelzellen und glatten Muskelzellen lösen entzündliche Signale und oxidierte low-density Lipoproteine (ox-LDL) eine PTX3-Produktion aus. Auch wurde eine Beziehung zwischen dem LDL-Plasmaspiegel und der PTX3-mRNA-Expression in subkutanem Fettgewebe und in Leukozyten beobachtet (BOSUTTI et al. 2007). Im Cumulus oophorus wird die PTX3-Bildung hormonell durch Follikelstimulierendes Hormon (FSH) oder das Schwangerschaftshormon humanes Choriongonadotropin (hCG) (SALUSTRI et al. 2004) sowie durch den „Growth differentiation factor-9“ (GDF-9) (VARANI et al. 2002) reguliert.

1.5 Aufgabenbereich in der Immunabwehr

1.5.1 Funktion als Opsonin

Hinsichtlich der Aufgabe, die PTX3 im Immunsystem einnimmt, wurden bisher verschiedene Beobachtungen gemacht. Ein Mangel an PTX3 führt nicht zur allgemeinen Verschlechterung der Immunabwehr, für einige spezielle Bakterien und Pilzarten scheint die Anwesenheit von PTX3 jedoch essentiell für die Erkennung und Bekämpfung dieser Krankheitserreger zu sein. So erwies es sich gegenüber Aspergillus fumigatus, Paracoccidioides brasiliensis, Pseudomonas aeruginosa und Salmonella typhimurium als unverzichtbar (MANTOVANI et al. 2008). Makrophagen und DCs geben auf proinflammatorische Reize hin sowie durch Aktivierung von Toll-like-receptors („TLR engagement“) erhöhte Mengen an PTX3 frei (DONI et al. 2003). PTX3 unterstützt dabei durch eine opsonierende Wirkung die Phagozytose dieser Abwehrzellen. In Tierversuchen von DINIZ et al. (2004) wiesen Makrophagen bei Mäusen, die erhöhte PTX3-Spiegel hatten, eine verstärkte phagozytotische Aktivität gegenüber dem Bakterium Paracoccidioides brasiliensis auf. PTX3 besitzt also die Fähigkeit, bestimmte Pathogene zu erkennen und dem Immunsystem bei deren Bekämpfung und Beseitigung zu helfen. GARLANDA et al. (2002) vermuteten, dass Monozyten einen speziellen Rezeptor für PTX3 auf ihrer Oberfläche exprimieren können. Bei bestimmten Erkrankungen erweist sich PTX3 als essentiell. So verläuft eine Aspergillus-fumigatus-Infektion ohne das Vorhandensein von PTX3 tödlich. Indem es an die Galactomannan-Conidien des Bakteriums bindet, nimmt es eine opsonierende Aufgabe wahr.

LUCHETTI et al. (2000) beschrieben seine Bedeutung in Hinsicht auf Atherosklerose, rheumatoide Arthritis, Sepsis, Vaskulitis, Myokardinfarkt, chronisches Nierenversagen und chronische Herzinsuffizienz. Während die PTX3-Werte bei diesen Krankheiten stets erhöht vorlagen, wurden bei Patienten mit systemischem Lupus erythematodes im Vergleich zu gesunden Personen geringere PTX3-Spiegel gemessen. Eine Spezifität des PTX3 für gewisse Bakterien, Pilze, und Viren liegt nach JEANNIN et al. (2005) beispielsweise gegenüber Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Klebsiella pneumoniae, Streptococcus pneumoniae und Neisseria meningitides vor. Von BOZZA et al. (2006) wurde die Funktion von PTX3 bei viralen Erkrankungen untersucht. Dabei wurde in vitro festgestellt, dass PTX3 verschiedene Arten von Zytomegalieviren erkennen und binden kann und dadurch die Pathogenität dieser Erreger reduziert.

1.5.2 Funktion bei der Aktivierung des Komplementsystems und bei der Apoptose

Neben der Früherkennung bestimmter Krankheitserreger besitzt PTX3 auch einen Nutzen bei der Aktivierung des Komplementsystems. Bisher ist die Interaktion mit dem Komplement-faktor C1q zur Einleitung der klassischen Komplementkaskade am genauesten erforscht worden (NAUTA et al. 2003). Es ließ sich sowohl eine fördernde als auch eine hemmende Wirkung von PTX3 nachweisen, abhängig davon, in welchem Zustand C1q vorlag. Zudem beobachteten INFORZATO et al. (2006) einen hemmenden Effekt von PTX3 auf C1q durch Glykosylierung. Bei der Apoptose unterbindet PTX3 die Beseitigung apoptotischer Zellen durch dendritische Zellen oder Makrophagen (ROVERE et al. 2000).

1.5.3 Funktion als immunregulatorisches Molekül

PTX3 nimmt zwei gegensätzliche Aufgaben im Immunsystem wahr. Auf der einen Seite besitzt es mittels Opsonierung, Komplement-Aktivierung und Anlockung von Leukozyten eine wichtige Funktion bei der Bekämpfung von Pathogenen durch das Immunsystem. Andererseits wirkt es dämpfend auf exzessive Abwehrmaßnahmen, indem es, wie bereits beschrieben, Komplementfaktoren hemmen kann. Während die beiden kurzen Pentraxine CRP und SAP die Beseitigung geschädigter Zellen fördern, schützt PTX3 diese Zellen durch Opsonierung. DEBAN et al. (2010a) sahen darin die physiologische Bedeutung, dass die Einleitung einer Immunreaktion gegen körpereigene Antigene verhindert wird.

Eine massive Leukozyteninfiltration kann als ein zweischneidiges Schwert betrachtet werden, das nicht nur die Immunabwehr und Reparaturvorgänge in beschädigtem Gewebe auslösen kann. Als negative Folgen können weitergehende Gewebeschäden, Schockzustände, Septikämie und Komplikationen nach Transplantation auftreten. DEBAN et al. (2010b) beschrieben, dass lösliches PTX3 die exzessive Anlockung von neutrophilen Granulozyten durch eine Blockade von P-Selectin verhindert (vgl. Abb. 1). Der Transmembran-Rezeptor P-selectin glycoprotein-1 (PSGL-1) an der Oberfläche von neutrophilen Granulozyten vermittelt in Venolen durch Bindung an P-Selectin die Andockung der Granulozyten an entzündeten oder beschädigten Gewebestellen. Die neutrophilen Granulozyten setzen aus speziellen Granula PTX3 frei, das sich nun an viele P-Selectin-Moleküle bindet und den neutrophilen Granulozyten die Möglichkeit zur Ankopplung nimmt (McEVER 2010).

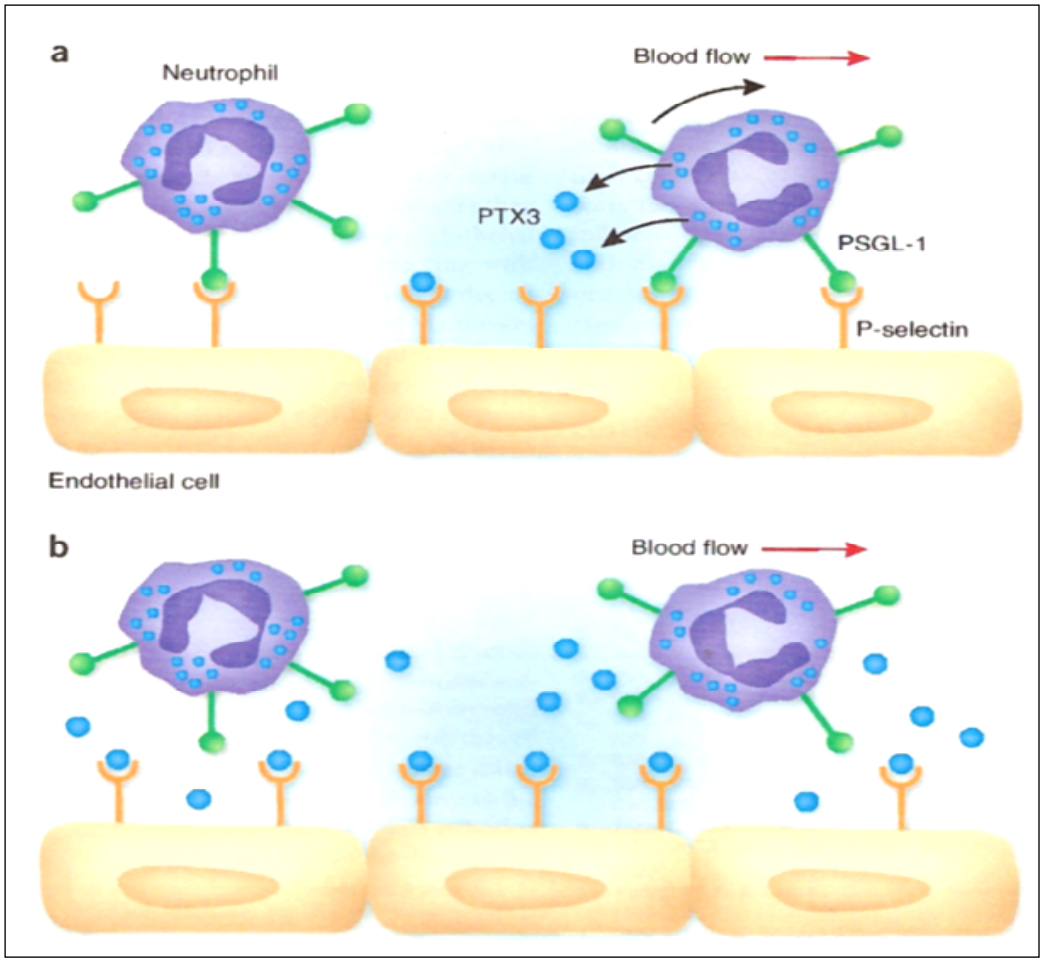

Abb. 1: Hemmung der Neutrophilen-Anlockung durch PTX3 (McEVER 2010, S. 283)

1.6 Aufgabe beim Aufbau der extrazellulären Matrix des Cumulus oophorus

Indem PTX3 am Aufbau der extrazellulären Matrix des Cumulus oophorus beteiligt ist, besitzt es eine wichtige Funktion für die weibliche Fruchtbarkeit. In Tierversuchen beobachteten SALUSTRI et al. (2004), dass bei Mäusen, denen PTX3 fehlte, schwere Missbildungen der Cumulus oophorus-Membran in Erscheinung traten. Wenn den Mäusen PTX3 zugeführt wurde, stellte sich wieder eine normale Eihügel-Morphologie ein. Vermutlich interagiert PTX3 mit Hyaluronsäure, die der Hauptbestandteil der Cumulus-Membran ist. Diese bewirkt als ein Glykosaminoglykan die viskoelastischen Eigenschaften der Matrix. PTX3 wird dabei eine entscheidende Bedeutung für die Organisation und Stabilisierung der Hyaluronsäure beigemessen.

1.7 PTX3-Serumkonzentration und Erhöhungen bei verschiedenen Erkrankungen

Der normale PTX3-Spiegel im Blut ist nach MANTOVANI et al. (2008) mit einem Durchschnittswert von 2 ng/ml beim Menschen sehr gering. Bei der Maus liegt im Vergleich dazu ein Wert von ca. 25 ng/ml vor. Als Folge entzündlicher Signale kann er sich jedoch auch im humanen Serum rasch und stark erhöhen. So wurden etwa bei endotoxischem Schock oder bei Sepsis Werte von 200 bis 800 ng/ml gemessen, wobei der Höhepunkt nach sechs bis acht Stunden auftrat (MANTOVANI et al. 2008). Bei einem Myokardinfarkt erreichte der PTX3-Spiegel innerhalb von sechs bis acht Stunden einen Spitzenwert, während sich bei CRP, das erst in der Leber produziert werden muss, nach 36 bis 48 Stunden der höchste Wert einstellte (PERI et al. 2000). In einer Untersuchung mit 724 Myokardinfarkt-Patienten zeigten LATINI et al. (2004), dass die Höhe der PTX3-Werte mit dem Schweregrad der Erkrankung korrelierte. Mit Hilfe von PTX3-Messungen konnte auch eine Voraussage einer 3-Monats-Sterblichkeit getroffen werden, was mit CRP und anderen Biomarkern nicht möglich war.

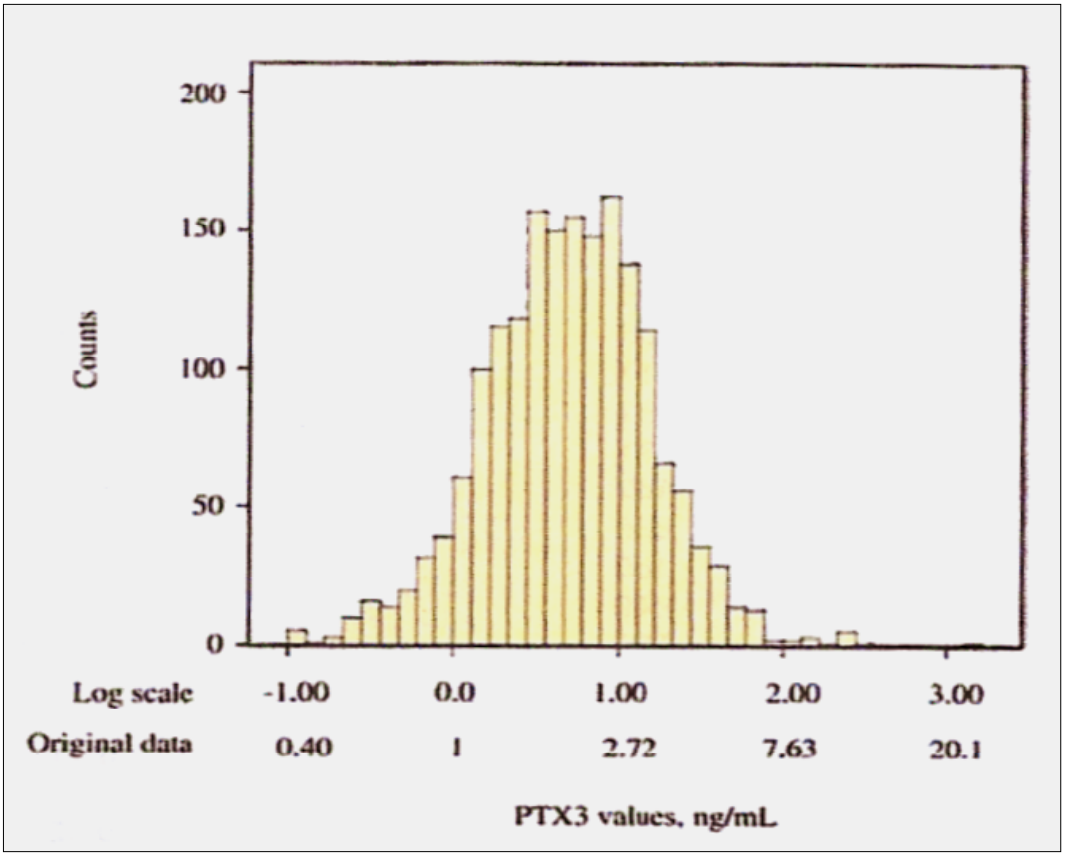

Abb. 2: Darstellung der gemessenen PTX3-Werte (ng/ml) (YAMASAKI et al. 2009, S. 473)
Counts: Anzahl der Messungen. Log scale: Logarithmische Skala
Original data: Wert der Messungen (ng/ml)

In einigen Publikationen wurde auf die Wirksamkeit von PTX3 als Indikator für verschiedene Erkrankungen eingegangen. YAMASAKI et al. (2009) prüften die Tauglichkeit von PTX3 als Biomarker. Dabei definierten sie den Begriff und die Funktion eines Markers entsprechend einem 2002 gegründeten „Workshop on Inflammatory Markers and Cardiovascular Disease: Applications to Clinical and Public Health Practice“ zur Bestimmung und Definition von Biomarkern. Demnach soll ein idealer Marker leicht zu handhaben sein und verständliche wie klare diagnostische Ergebnisse liefern. Darüber hinaus soll er nach PEARSON et al. (2003) unabhängig von Risikofaktoren sein, so dass er allgemeine Gültigkeit besitzen kann.

YAMASAKI et al. (2009) stellten fest, dass der PTX3-Spiegel bei Frauen mit durchschnittlich 2,12 [2,05, 2,19] ng/ml allgemein höher liegt als bei Männern mit durchschnittlich 1,87 [1,81, 1,94] ng/ml. Außerdem war er bei älteren Personen höher als bei jüngeren und wies einen Zusammenhang zum Body-Mass-Index und eine umgekehrte Korrelation zu Triglyzeriden auf. Der Normwert für gesunde Japaner wurde dabei mit 2,0 ng/ml festgesetzt (vgl. Abb. 2). YAMASAKI et al. (2009) gingen davon aus, dass sich für Europäer keine starken Abweichungen davon ergeben.

KATO et al. (2008) untersuchten die Funktion, die PTX3 bei entzündlichen Darmerkrankungen in der Diagnose einnehmen kann. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass PTX3 als ein Marker für akut entzündliche Darmerkrankungen tauglich ist. Bei Patienten mit aktiver Colitis ulcerosa (UC) sowie aktivem Morbus Crohn („Crohn disease“, CD) waren die gemessenen Werte für PTX3 im Plasma deutlich am höchsten (8,22 $\pm$ 5,48 ng/ml bzw. 5,80 $\pm$ 3,59 ng/ml). Bei Patienten mit kompensierten UC und CD unterschieden sich die Werte (2,35 bzw. 2,29 ng/ml) nur gering von den Normwerten gesunder Patienten (1,76 $\pm$ 1,02 ng/ml). Im Normalzustand fand eine PTX3-Produktion in geringem Maße in Zellen der Lamina propria statt, bei Vorliegen einer Entzündung stieg die Konzentration durch starke PTX3-Freisetzung von Endothelzellen und einwandernden Zellen der Immunabwehr markant an.

Weiterhin wurde darauf verwiesen, dass PTX3-Anstiege auch bei Patienten mit instabiler Angina pectoris (INOUE et al. 2007), Arthritis (LUCHETTI et al. 2000), Psoriasis (BEVELACQUA et al. 2006) sowie Morbus Wegener und Mikroskopischer Polyangiitis (FAZZINI et al. 2001) registriert wurden. BIAGI et al. (2008) beschrieben den Einfluss von Pilzinfektionen auf die Höhe der PTX3-Werte. Bei 23 gesunden Kindern im Alter von vier

Monaten bis sechzehn Jahren ermittelten sie einen durchschnittlichen PTX3-Wert von 1,54 ng/ml. In einer Gruppe von 38 Kindern zwischen drei und sechzehn Jahren stieg das mittlere PTX3-Niveau aufgrund bakterieller und viraler Entzündungen auf 3,62 ng/ml an. Eine drastische PTX3-Erhöhung auf durchschnittlich 19,41 ng/ml stellten sie bei jungen Leukämiepatienten mit einer pulmonalen Aspergillus-Infektion fest. SPRONG et al. (2009) maßen die PTX3-Werte von Patienten mit Meningokokkenerkrankungen. Dabei fanden sie heraus, dass der Mittelwert von PTX3 bei Patienten mit einem Schock deutlich höher lag als bei Patienten, die keinen Schock erlitten hatten. Auch waren die PTX3-Werte stärker erhöht als gleichzeitig genommene CRP-Werte. Damit wiesen sie nach, dass PTX3 einen frühen Schockindikator bei Patienten mit schweren Meningokokkenerkrankungen darstellt.

YONEDA et al. (2008) prüften den klinischen Nutzen von PTX3 in Hinsicht auf Lebererkrankungen. Bei Patienten mit der alkoholfreien Leberverfettung NAFLD unterschieden sie zwischen drei Patientenkollektiven. 42 nicht-alkoholische Steatohepatitis (NASH)-Patienten hatten deutlich höhere PTX3-Werte als 28 non-NASH-Patienten und eine Kontrollgruppe von zehn gesunden Personen. Außerdem war eine Korrelation zwischen der Höhe der PTX3-Werte und dem Schweregrad der Lebererkrankungen und des Fibrosestadiums zu erkennen. Daraus folgerten sie, dass PTX3-Messungen einen klinischen Nutzen bei der Diagnose von Leberzirrhose besitzen können. Damit würde zusätzlich zu der Leberbiopsie als bisherigem Goldstandard für die Diagnosestellung eine nicht-invasive Methode zur Verfügung stehen.

1.8. Hauptfunktionen der Leber

Die Leber nimmt im Stoffwechsel des Körpers eine zentrale Funktion ein. Sie ist ein lebenswichtiges Organ für die Protein-, Fettsäure- und Gallensäure-Synthese, weist eine Entgiftungsfunktion auf und ist Speicherort für Glykogen.

1.8.1 Die Akute-Phase-Reaktion der Leber

Bei einer Akute-Phase-Reaktion handelt es sich um eine akute Entzündungsreaktion, die eine Gewebezerstörung verhindern soll. Sie wird bei Infektionen, Gewebeschädigungen, Malignomen oder Autoimmunerkrankungen in Gang gesetzt. Zuerst tritt eine lokale Reaktion

auf, Endothelzellen entsenden Botenstoffe, um Immunzellen anzulocken (vgl. Abb. 3). Monozyten, Makrophagen, Thrombozyten, Granulozyten und Mastzellen begrenzen die Infektionen, eliminieren die geschädigten oder zerstörten Zellen und fördern Reparaturmecha-

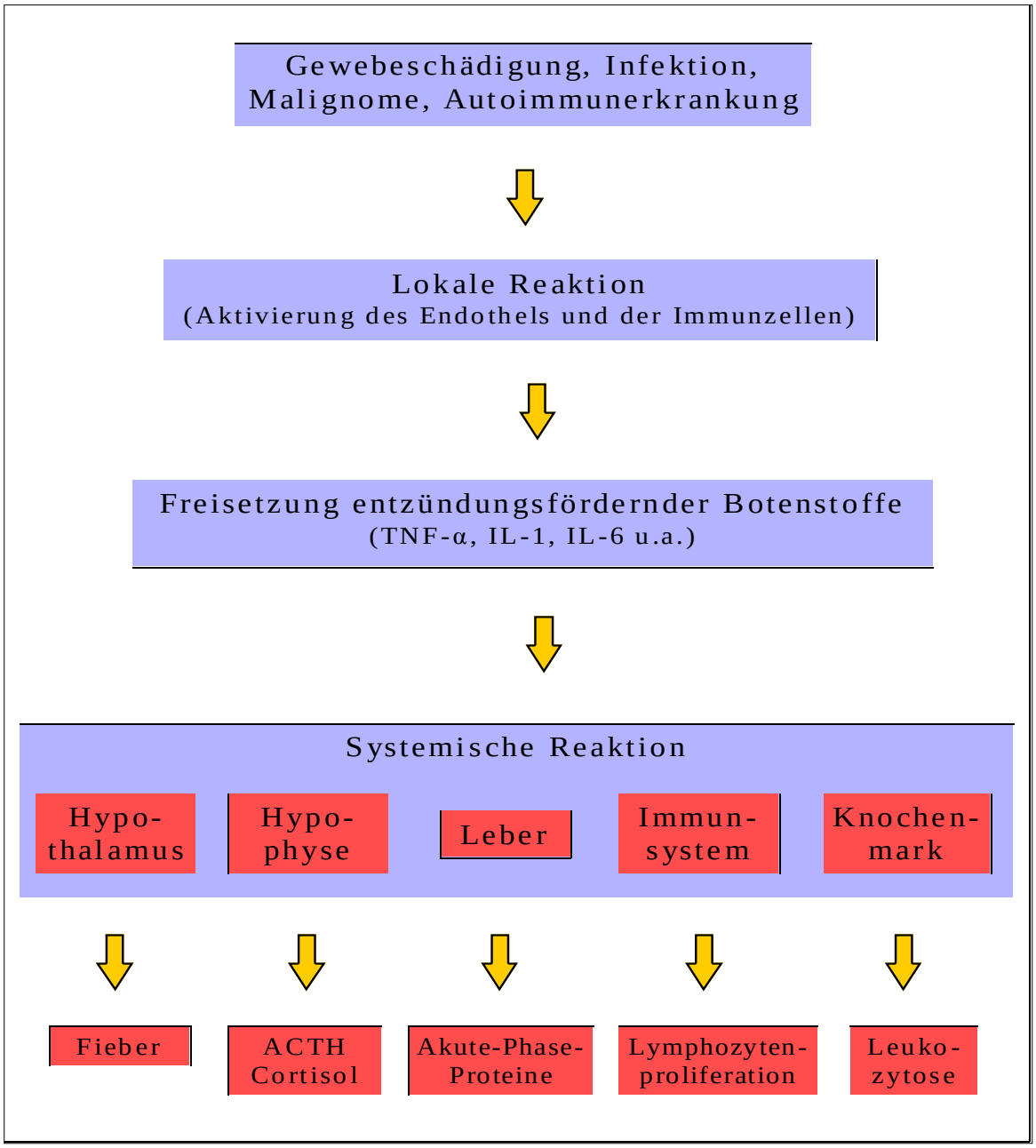

Abb. 3: Der Ablauf der Akute-Phase-Reaktion

nismen (GABRIEL et al. 2000). In einer systemischen Reaktion erfolgt auf einen entzündlichen oder gewebeschädigenden Reiz hin die Produktion von Zytokinen (IL-1, IL-6, TNF-α u.a.), den wichtigen Mediatoren der Akute-Phase-Reaktion. Die dadurch ausgelöste Aktivierung von Hypothalamus und Hypophyse führt zu einer erhöhten Körpertemperatur und

zur Ausschüttung des adrenokortikotropen Hormons (ACTH) und Cortisol. Die Lymphozytenproliferation wird beschleunigt und die Leukozytose im Knochenmark forciert (MOSHAGE 1997). Gleichzeitig mit diesen parallel ablaufenden systemischen Reaktionen in anderen Organen wird durch den Anreiz der Zytokine IL-6 und IL-1 in der Leber eine verstärkte Synthese verschiedener Plasmaproteine induziert (RAMADORI und CHRIST 1999). Dazu gehören als bekannte Vertreter beispielsweise CRP, SAP, Fibrinogen, α1-Antitrypsin sowie die Komplementfaktoren. Innerhalb von etwa 6 bis 24 Stunden steigt durch die Wirkung von Cortisol und Zytokinen die Konzentration der Akute-Phase-Proteine (APPs) im Blut auf ein Vielfaches an (KRAMER 2006). So kann z. B. der CRP-Wert auf das Tausendfache anwachsen. Die APPs unterstützen das Immunsystem bei der Bekämpfung des entzündlichen Prozesses und bei der Beseitigung des Gewebeschadens. In der klinischen Diagnostik dienen sie zudem als wichtige diagnostische Marker im Hinblick auf Entzündungen und Gewebeschädigungen.

1.8.2 Der Einfluss der intestinalen Endotoxine bei der Akute-Phase-Reaktion

NOLAN (2010) berichtete, dass die enterischen Endotoxine bei Lebererkrankungen eine bedeutende Rolle spielen. Zu Beginn einer Erkrankung entstehen Schäden an den Kupffer-Zellen. Diese fixierten Makrophagen, die sich an der Innenwand der Lebersinusoide befinden, eliminieren Schadstoffe, Stoffwechselprodukte und Bakterien aus dem Pfortaderblut. Aus dem Fortschreiten des Krankheitsprozesses resultiert eine zehn- bis tausendfach erhöhte Empfindlichkeit dieser Sinusoidalzellen gegenüber Endotoxinen (NOLAN 1981), die zu einer weiteren Schädigung der Hepatozyten und zu einer verstärkten Ausschüttung von Endotoxinen in den Blutkreislauf führt. Die vermehrten Endotoxine im Pfortaderkreislauf regen die Kupffer-Zellen zur stärkeren Produktion von Zytokinen an, von denen vor allem TNF-α starke zytotoxische Wirkungen besitzt. In einer japanischen klinischen Studie mit 105 Patienten zeigte FUKUI (2005), dass das Endotoxinniveau im Plasma mit der Schwere der jeweiligen alkoholbedingten Hepatopathie korrelierte. Zytokine wie TNF-α, IL-6 und IL-8 waren bei schweren Erkrankungen stark angestiegen. Diese erhöhte Endotoxinkonzentration im Plasma hatte Einfluss auf das Niveau der klinisch-diagnostischen Parameter. Sie setzte eine Akute-Phase-Reaktion in Gang, woraufhin ein Anstieg bei den APPs auftrat.

1.9 Krankheitsformen der Leber

1.9.1 Steatosis hepatis

Eine Steatosis hepatis entsteht durch eine übermäßige Fetteinlagerung in den Hepatozyten. Es bilden sich Fettvakuolen aus, die in der Regel reversibel sind. Mögliche Ursachen dafür sind meist eine Hyperalimentation sowie ungenügende körperliche Bewegung, aber auch Alkoholabusus, Medikamente, Toxine, Diabetes mellitus, Schwangerschaft oder Proteinmangel (MANNS et al. 2005). Wenn zusätzlich zu den Fettvakuolen auch Entzündungsanzeichen auftreten, spricht man von einer Steatohepatitis, die in ca. zehn Prozent aller Fälle zu einer Leberzirrhose führt.

1.9.2 Hepatitis

Bei einer Hepatitis handelt es sich um eine Infektion der Hepatozyten. Ein typisches klinisches Merkmal ist der Ikterus, er tritt aber nicht zwingend auf, es kann auch ein anikterischer Verlauf erfolgen (WAGNER und VAN HUSEN 1997). Übersteigt die Krankheitsdauer einen Zeitraum von sechs Monaten, so spricht man von einer chronischen Hepatitis. Daraus kann sich als Folgeerkrankung eine Leberzirrhose oder ein hepatozelluläres Karzinom (HCC) bilden (CORNBERG et al. 2008).

1.9.3 Leberzirrhose

Eine Leberzirrhose stellt das irreversible Endstadium chronischer Lebererkrankungen dar. Die Entwicklung dahin verläuft in der Regel über mehrere Jahre bis Jahrzehnte. Infolge eines pathologischen Ablaufs von Untergang und Regeneration der Hepatozyten kommt es schließlich zu einer gestörten Gewebearchitektur, die knotige Veränderungen aufweist. Aus einer übermäßigen Bindegewebsproduktion resultiert eine verminderte Durchblutung der Leber und eine portale Hypertension. Diagnostisch sind die leberspezifischen Parameter meist erhöht, oft tritt begleitend ein Aszites auf (WAGNER und VAN HUSEN 1997). Die definitive Diagnose erfolgt durch eine Leberbiopsie (WELLHOENER et al. 2008).

1.9.4 Hepatozelluläres Karzinom

Das hepatozelluläre Karzinom ist mit sechs Prozent aller männlichen und drei Prozent aller weiblichen Krebserkrankungen weltweit einer der häufigsten bösartigen Tumore. Meist entsteht es auf dem Boden einer Leberzirrhose. Die Therapie besteht in der Regel in einer teilweisen Leberresektion. Als minimal-invasives Verfahren ist eine laser- oder eine radiofrequenzinduzierte Thermotherapie möglich, Zytostatika weisen keinen starken therapeutischen Effekt auf.

1.10 Lebertransplantation

1.10.1 Indikation

Als Indikation für eine Lebertransplantation (LTX) gilt eine akut verlaufende Lebererkrankung mit einem raschen Funktionsausfall. Neben diesem fulminanten Leberversagen ist sie auch bei einer chronischen Lebererkrankung in fortgeschrittenem Stadium als letzte Therapiealternative angezeigt.

1.10.2 Postoperative Nachsorge

Auf eine postoperative Nachsorge lässt sich aufgrund vieler möglicher Komplikationen nicht verzichten. Häufig zu beobachten sind Infektionen, Gefäß- und Gallengangsprobleme, eine erhöhte Blutungsneigung und Thrombosegefahr sowie eine Abstoßungsreaktion. Letztere soll durch eine medikamentöse Immunsuppression verhindert werden. Dabei werden heute in der Regel Calcineurininhibitoren wie Cyclosporin oder Prograf® (Wirkstoff: Tacrolimus) angewandt. Die Serumspiegel der Medikamente müssen regelmäßig kontrolliert werden, in den meisten Fällen können diese im Verlauf reduziert werden. Nach erfolgreicher Transplantation sollten sich die vorherigen Symptome der Lebererkrankung zurückbilden. Die Überlebensrate ist stark vom individuellen Gesundheitszustand des Patienten abhängig. 2005 wurden 1-Jahres-Überlebensraten von über 90%, 5-Jahres-Überlebensraten von über 80% und 10-Jahres-Überlebensraten von über 70% erreicht (NEUHAUS und PFITZMANN 2005).

1.11 Klinisch-diagnostische Parameter

1.11.1 C-reaktives Protein

Das CRP zählt zur Familie der kurzen Pentraxine. Es wird in der Leber vor allem durch die Anregung von IL-6 gebildet und gelangt von dort in den Blutkreislauf. Als ein Akute-Phase-Protein dient es in der klinischen Diagnostik als ein unspezifischer Entzündungsparameter und weist eine opsonierende Wirkung auf (SZALAI et al. 1999). Es spricht vor allem auf bakterielle Infektionen sowie Abstoßungsreaktionen im Rahmen von Organtransplantationen an, auf virale Erkrankungen reagiert es jedoch kaum. Die gemessene Konzentration liegt gegenüber dem tatsächlichen Krankheitsgeschehen 12 bis 24 Stunden zurück. Als normal werden Werte bis 8 mg/l angesehen, Werte zwischen 8 und 50 mg/l sind Anzeichen für leichte oder lokal begrenzte Entzündungen, Werte oberhalb von 50 mg/l für schwerere Entzündungen.

1.11.2 Alanin-Aminotransferase

Die Alanin-Aminotransferase (ALT), früher auch Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) genannt, ist ein Enzym, das unter Beihilfe von Vitamin B_6 die Reaktion von α-Ketoglutarat zu Pyruvat katalysiert. Es kommt im Hepatozyten-Zytoplasma vor und hat einen Normwert von bis zu 45 U/l. Eine ALT-Erhöhung tritt schon bei geringem Zellschaden auf (ELKE et al. 2008) und gibt immer einen Hinweis auf eine Leber- oder Gallengangsentzündung mit einer Schädigung der Hepatozyten. Leichte Erhöhungen sind bei Lebertumoren, Leberverfettung, Lebermetastasen, Cholangitis oder medikamentenbedingt anzutreffen. Höhere Werte deuten auf eine chronische Hepatitis, eine Leberzirrhose oder auf toxische Leberzellschädigungen hin.

1.11.3 Aspartat-Aminotransferase

Die Aspartat-Aminotransferase (AST), früher auch als Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) bezeichnet, stellt ein Enzym dar, das die Reaktion von α-Ketoglutarat zu Glutaminsäure katalysiert. Beim Menschen ist es hauptsächlich in den Mitochondrien der Leberzellen aufzufinden, in geringer Konzentration auch in der Skelettmuskulatur, im Myokard, in den Nieren und im Gehirn (GIANNINI et al. 2005). Der Normwert liegt im

Bereich bis 35 U/l. Ein AST-Anstieg kann einen schweren Leberschaden anzeigen, aber auch bei einem Herzinfarkt vorkommen. Ein gleichzeitiges Auftreten von hohen ALT-Werten verweist auf eine Lebererkrankung. Starke Erhöhungen können durch eine Hepatitis oder zytotoxische Leberzellschädigungen bedingt sein.

1.11.4 Alkalische Phosphatase

Die Alkalische Phosphatase (AP) bezeichnet eine Gruppe von Enzymen, die an der Dephosphorylierung von Proteinen beteiligt sind. Insgesamt sind 15 Isoenzyme bekannt, darunter auch eines für die Leber. Bei klinisch-diagnostischen Messungen wird die Gesamtheit dieser Enzyme erfasst, der Referenzbereich befindet sich zwischen 40 und 129 U/l.

Erhöhte AP-Messwerte in Kombination mit dem Anstieg anderer Leber-Messparameter sind charakteristisch für eine Lebererkrankung. Ein gleichzeitiges Ansteigen der Gamma-Glutamyltransferase (GGT)-Werte gibt einen Hinweis auf eine Leberschädigung (REISER 2009). Sehr hohe Werte rühren meist von einer Gallengangerkrankung her. Sind die AP-Werte allein erhöht, kann dies auch durch Knochenerkrankungen oder Tumor-Metastasen verursacht sein.

1.11.5 Gamma-Glutamyltransferase

Die Gamma-Glutamyltransferase ist ein Enzym, das fest an die Zellmembran von Hepatozyten gebunden ist. Als Referenzbereich gelten Werte bis 38 U/l. Hohe GGT-Messwerte sind als Anzeichen für eine Zerstörung von Hepatozyten zu werten und sollten mit denjenigen von AST, ALT, AP und Bilirubin verglichen werden, um die genaue Ursache sicher bestimmen zu können. Ein leichteres Anwachsen der Werte tritt bei chronischem Alkoholkonsum, in Folge bestimmter Medikamente oder bei einer genetischen Enzymvariante auf (ELKE et al. 2008). Stärkere Erhöhungen finden sich bei chronischer Hepatitis, Leberzirrhose oder Lebermetastasen, die höchsten Werte liegen bei toxischer Leberzell-schädigung, akuter Hepatitis, Cholestase oder Cholangitis vor.

1.12 Zielsetzung der Arbeit

Anliegen dieser retrospektiven Analyse ist es, die Bedeutung von Pentraxin-3-Werten im Blutplasma in Hinsicht auf Lebererkrankungen zu prüfen. Bei einem Patientenkollektiv des Universitätsklinikums Göttingen sollten bereits bestimmte PTX3-Werte analysiert und auf Unterschiede zu den Werten von Patienten nach einer Lebertransplantation untersucht werden. Wenn bei diesen Patienten auch gleichzeitig die Messwerte von anderen klinisch-diagnostischen Markern für Lebererkrankungen bestimmt worden waren, dann wurden diese mit den PTX3-Werten verglichen. Es sollte geprüft werden, welche Funktion PTX3 bei der klinischen Diagnose von Lebererkrankungen einnehmen kann. Der schematische Ablauf der Untersuchung wurde in Abbildung 4 in Form eines Flussdiagramms erstellt.

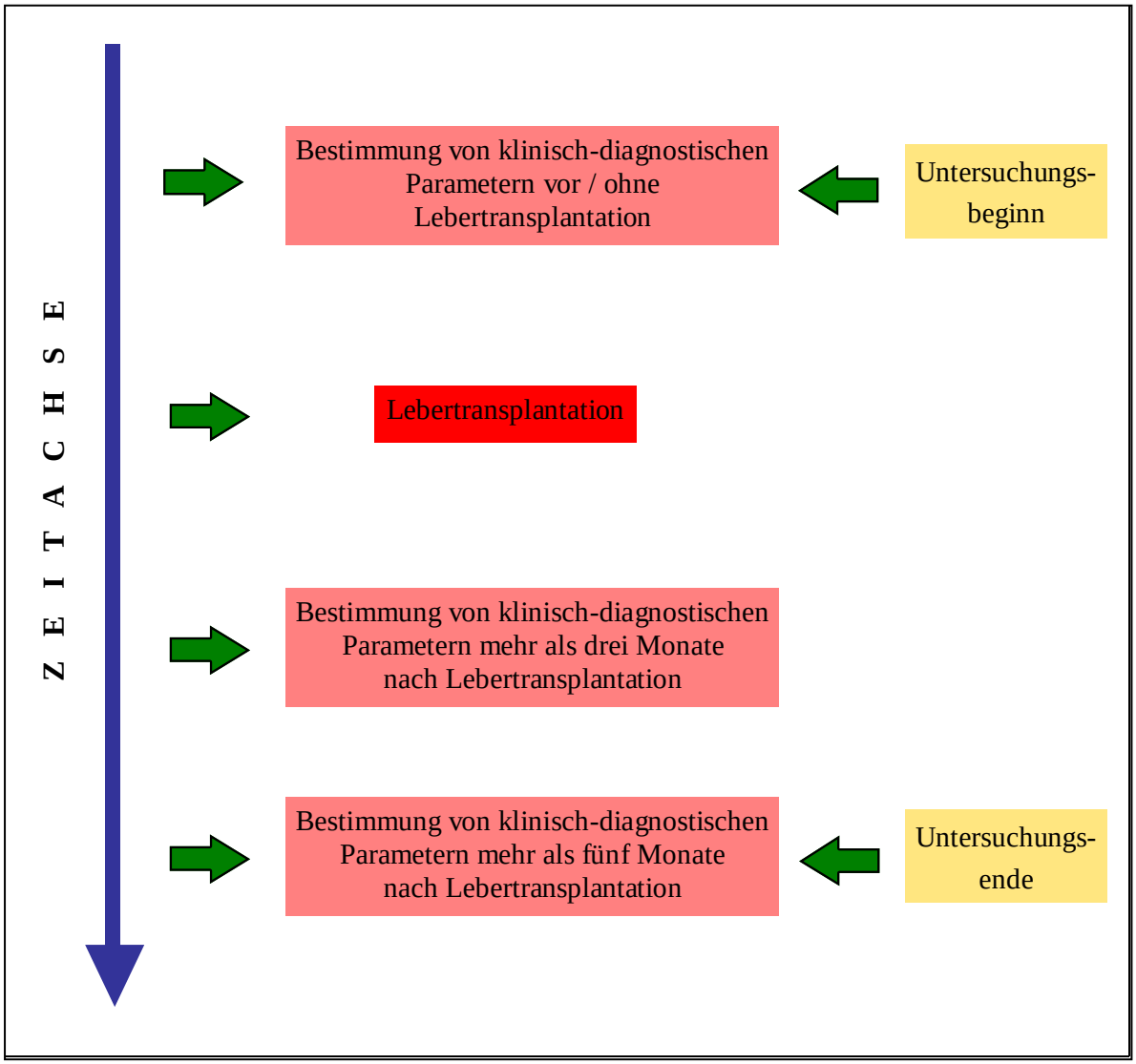

Abb. 4: Schematischer Ablauf der Untersuchung zur Übersicht mit Zeitachse

2 Material und Methode

2.1 Klinisch-diagnostische Parameter

Die erhobenen Daten der klinisch-diagnostischen Marker CRP, ALT, AST, AP und GGT dienten als Vergleichswerte für die diagnostische Aussagekraft von PTX3-Werten bei Lebererkrankungen.

2.2 Patientenselektion

Messungen von klinisch-diagnostischen Parametern an insgesamt 62 Patienten mit Lebererkrankungen im Zeitraum von Mai 2008 bis November 2010 stellen die Basis dieser Arbeit dar. Als Ausschlusskriterien galten Erkrankungen an anderen Organen der Patienten, die für eine Erhöhung der PTX3-Werte oder der anderen Parameter verantwortlich sein könnten. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 56,4 Jahre. Der von YAMASAKI et al. (2009) beschriebene Effekt des Lebensalters und des Geschlechts auf die Höhe des PTX3-Werts wurde zunächst untersucht, um seinen Einfluss auf die Messungen beim Vergleich der PTX3-Werte der drei Patientenkollektive (Patienten ohne Lebertransplantation / Patienten drei oder mehr Monate nach Lebertransplantation / Patienten fünf oder mehr Monate nach Lebertransplantation) beurteilen zu können.

2.3 Bestimmung der PTX3-Messwerte

Die Ermittlung der PTX3-Werte für diese Arbeit erfolgte aus Plasmaproben mit einem enzymgekoppelten Immunadsorptionstest (ELISA = Enzyme-linked Immunosorbent Assay), dem „Quantikine® Human Pentraxin 3/TSG-14 Immunoassay“ (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN 55413, United States of America). Dieses immunologische Nachweis-verfahren, das auf einer enzymatischen Farbreaktion basiert, wurde entwickelt, um menschliches PTX3 in Zellkulturen, Plasma und Speichel zu messen.

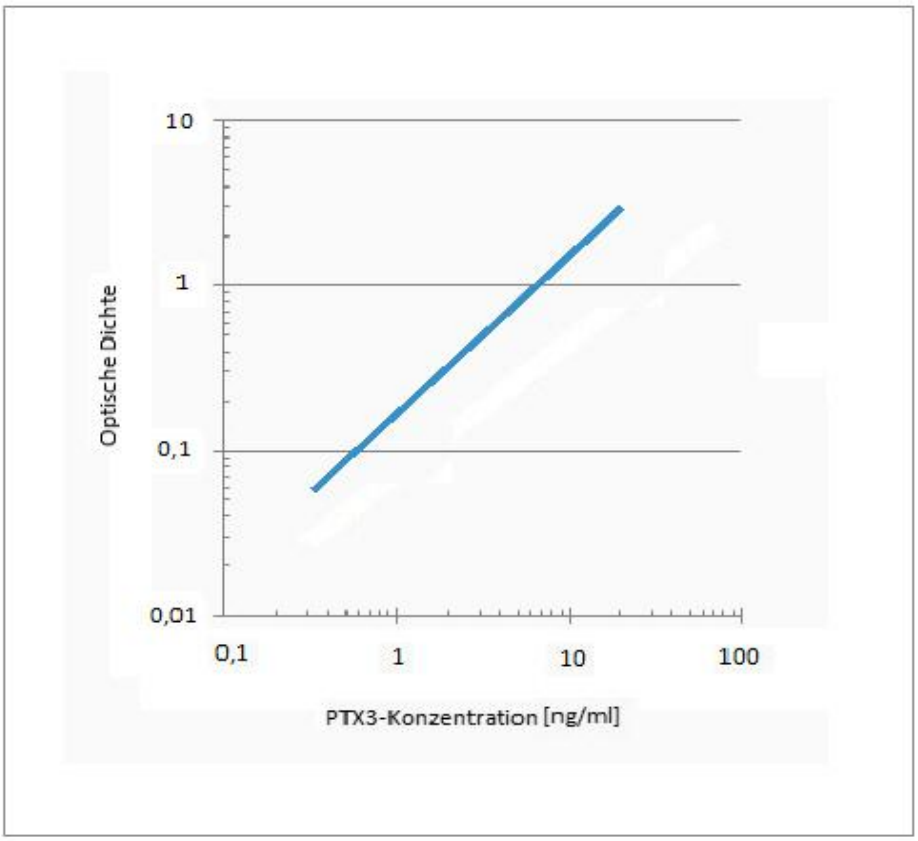

Abb. 5: Quantikine® -Standardkurve (Quantikine®
Human Pentraxin3/TSG-14 Immunoassay. Catalog Number DPTX30, S. 9)

Die erzielten Ergebnisse mit vorbehandeltem, natürlichem, menschlichem PTX3 führen bei logarithmischer Darstellung zu einem Diagramm mit einer linearen Kurvenform. Diese Kurven verlaufen parallel zu der Standardkurve, die mit den Quantikine® kit standards erzielt wird (vgl. Abb. 5), was die Eignung des Quantikine® Human PTX3 kit für die Bestimmung der Messwerte für natürliches menschliches PTX3 belegt.

Das Nachweisverfahren verwendet die quantitative Sandwich-Enzym-Immunoassay-Technik. Diese ELISA-Technik nutzt zwei verschiedene Antikörper, die sich spezifisch an das zu untersuchende Antigen, in diesem Falle PTX3, anbinden. Mit einem Enzym wird dieser Antikörper-Antigen-Komplex markiert. Durch die katalysierte Reaktion dieses Enzyms wird das Vorhandensein des Antigens nachgewiesen, indem das entstehende Reaktionsprodukt durch Farbumschlag sichtbar wird. Dabei steht die Stärke des Farbumschlags in Beziehung mit der Antigenkonzentration und lässt somit auch eine quantitative Bewertung zu.

2.3.1 Testverfahren

2.3.1.1 Vorbehandlung von Standards und Proben

Vor Gebrauch werden alle Reagenzien auf Zimmertemperatur gebracht. Während des gesamten Versuches sollten Handschuhe und Mundschutz getragen werden, um die Messwerte nicht zu verfälschen (die durchschnittliche PTX3-Konzentration im Speichel beträgt 4,95 ng/ml).

40 ml des Waschpufferkonzentrates werden mit 960 ml deionisiertem oder destilliertem Wasser verdünnt, sodass man insgesamt 1000 ml erhält. Die Farbreagenzien A und B werden in jeweils gleichem Volumen miteinander vermischt. Für jede einzelne Vertiefung der Mikroplatte werden 200 µl des Gemisches benötigt. Zu 20 ml des Calibrator Diluent werden 20 ml deionisiertes oder destilliertes Wasser gegeben.

Die 200-ng-PTX3-Standardlösung wird einem Milliliter deionisiertem oder destilliertem Wasser beigefügt, um eine Stammlösung von 200 ng/ml zu erhalten. Diese so entstandene Lösung sollte danach mindestens 15 Minuten ruhig stehen und vor dem Gebrauch leicht geschüttelt werden.

Ein für PTX3 spezifischer Coating-Antikörper wird an eine Streptavidin-beschichtete Mikrotiterplatte mit 96 Vertiefungen gebunden. Die vorbehandelten Standards und die PTX3 enthaltenden Proben werden in die Vertiefungen der Platte gefüllt. Dabei werden in jede Vertiefung 200 µl der biotinylierten Antikörperlösung eingebracht. Anschließend wird die Platte vorsichtig abgedeckt und für 15 bis 60 Minuten bei Raumtemperatur auf einem horizontal orbital eingestellten Mikroplatten-Schüttler bei ca. 500 Umdrehungen pro Minute inkubiert.

Nachdem dies erfolgt ist, wird jede Vertiefung aspiriert und zweimal gewaschen. Dazu werden jeweils 400 µl des Waschpufferkonzentrates verwendet. Der übrig gebliebene Waschpuffer wird sorgfältig entfernt, die Platte umgedreht und auf saubere Papiertücher gestellt. Damit die Vertiefungen auf der Mikroplatte nicht eintrocknen, sollte der weitere Versuchsablauf nun gleich nach den beiden Waschvorgängen fortgesetzt werden.

In einem Polypropylen-Röhrchen (PR) werden zu 100 µl des PTX3-Standards 800 µl der bereits zuvor verdünnten Calibrator-Diluent-Lösung zusammen mit 100 µl des „Pretreatment D“ hinzugefügt. Daraus ergibt sich der Standard von 20 ng/ml. Dann werden 10 Mikroliter „Pretreatment D“ mit 100 µl der Patienten-Proben in einem PR vermischt und anschließend für zehn bis 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert.

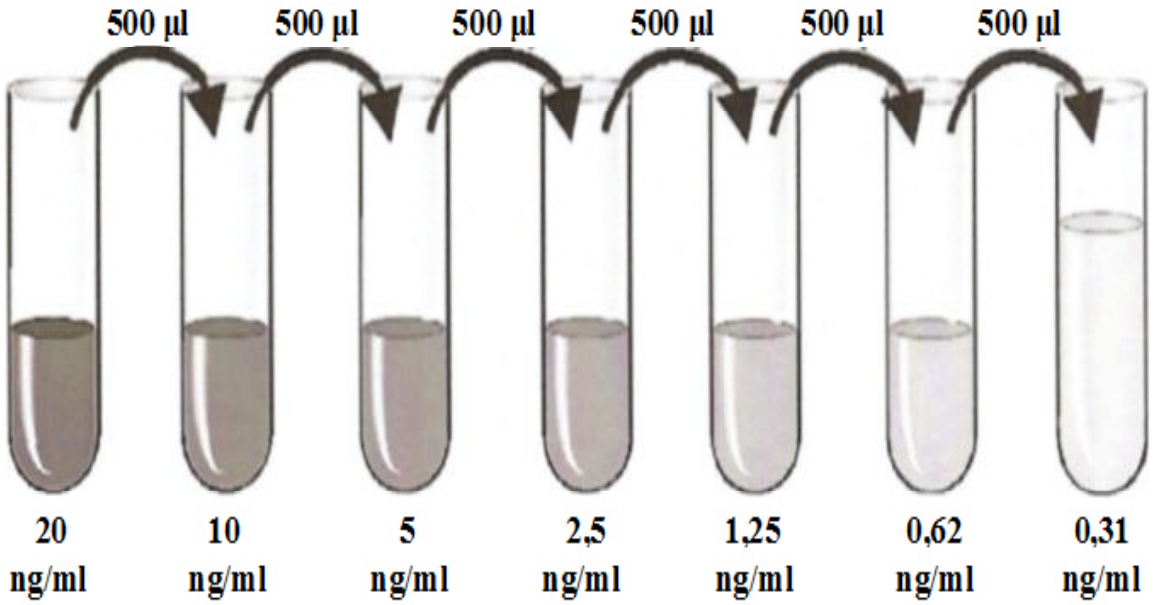

Abb. 6: Bereitung der Standardlösungen (Quantikine®
Human Pentraxin3/TSG-14 Immunoassay. Catalog Number DPTX30, S. 6)

Sechs zusätzliche markierte PRs mit 500 µl Calibrator Diluent werden vorbereitet. 500 µl der Standardlösung mit 20 ng/ml werden in das erste Röhrchen gefüllt, womit man 1000 µl einer Lösung mit der Konzentration von 10 ng/ml erhält. Die Hälfte dieser Lösung wird in das nächste Röhrchen gegeben, woraus 1000 µl einer Lösung mit der halbierten Konzentration von 5 ng/ml resultieren. Setzt man dieses Verfahren nach gleichem Prinzip weiter fort, so befinden sich in drei weiteren Röhrchen 500 µl der Konzentrationen 2,5 ng/ml, 1,25 ng/ml und 0,62 ng/ml und in einem letzten PR 1000 µl mit 0,31 ng/ml (vgl. Abb. 6). Die 20 ng/ml-Standardlösung dient als hoher Standard, Calibrator Diluent RD5-24 (1X) als Null-Standard (0 ng/ml).

2.3.1.2 Versuchsdurchführung

Zunächst werden die vorbehandelten Standards und die PTX3 enthaltenden Proben in die Vertiefungen der Platte gefüllt. Während der anschließenden Inkubationszeit bindet der an die Mikrotiterplatte gebundene Antikörper das in den Proben enthaltene PTX3. Danach wird die komplette Platte aspiriert und insgesamt viermal gewaschen, indem jeweils 400 Mikroliter des Waschpufferkonzentrates verwendet werden. Diese Waschungen dienen der Entfernung der ungebundenen Bestandteile, damit nur das an den Coating-Antikörpern fixierte PTX3 auf der Platte vorhanden ist.

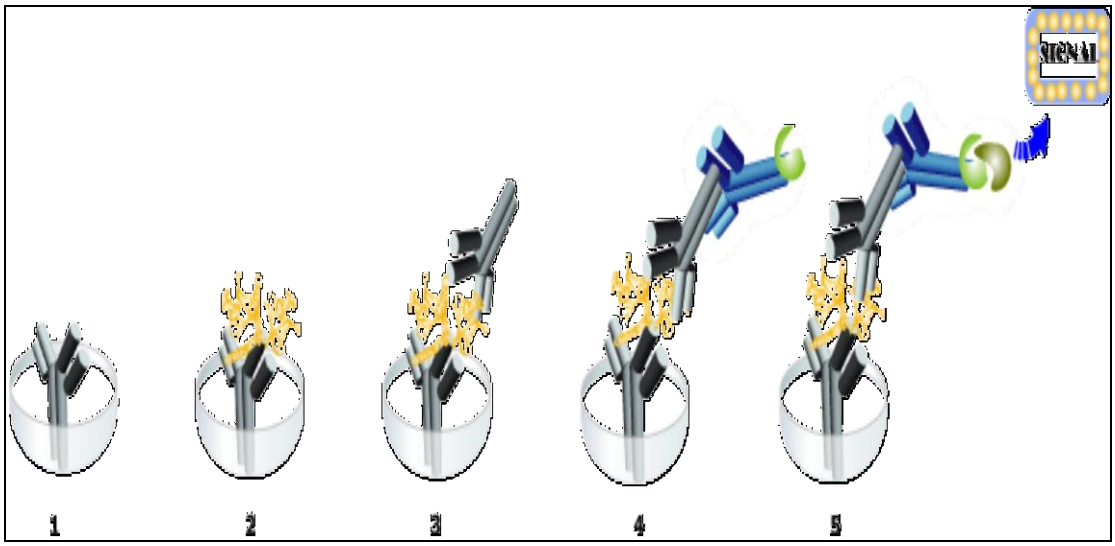

Abb. 7: Versuchsdurchführung beim „Quantikine® Human Pentraxin 3/TSG-14 Immunoassay“ (www.genwaybio.com/gw_file.php?fid=3040)

Nun wird ein für PTX3 spezifischer enzymgebundener Antikörper in die Vertiefungen der Platte eingebracht. Dieser Detektionsantikörper vereinigt sich mit einem anderen Epitop des PTX3, wodurch ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex entsteht. Nach der nächsten Aspiration und der vierfachen Waschung der Mikrotiterplatte zur Beseitigung der ungebundenen Detektionsantikörper wird eine chromogene Substratlösung hinzugefügt und die Platte wird lichtgeschützt für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Durch die Zugabe einer Stopp-Lösung in jede Vertiefung sollte sich ein Farbumschlag von Blau zu Gelb entwickeln. In Abbildung 7 wird der gesamte Ablauf der Versuchsdurchführung noch einmal grafisch dargestellt. Innerhalb der nächsten 30 Minuten wird die optische Dichte jeder Vertiefung mit einem Mikroplatten-Lesegerät bei einer Wellenlänge von 450 nm bestimmt. Die Intensität der Farbe ist proportional zur Konzentration des gebundenen PTX3.

2.4 Datenauswertung

Die erhobenen Daten wurden zur späteren Anfertigung von Tabellen und Abbildungen mit Säulen- bzw. Liniendiagrammen sowie zur statistischen Auswertung in Microsoft-Office-Excel-2007®-Datenblätter übertragen. Die Patientennamen wurden durch Zuordnung von Patientennummern anonymisiert. Weiterhin wurde das Datum der Messwertbestimmung notiert.

Um die diagnostische Stärke der PTX3-Werte im Vergleich zu den anderen klinisch-diagnostischen Markern beurteilen zu können, wurde bei allen Parametern die prozentuale Abweichung der Messwerte zum jeweiligen Normwert errechnet und in der Exceldatei vermerkt. Diese prozentualen Werte wurden in Gruppen erfasst, wobei den jeweiligen Werten eines anderen Markers der gleichzeitig bestimmte prozentuale PTX3-Wert desselben Patienten zugeordnet wurde.

2.5 Statistische Methoden

Die Auswertung nach qualitativen Merkmalen erfolgte mit Hilfe des statistischen Programms von Microsoft Office Excel 2007®. Zunächst wurden bei allen Gruppen von Messwerten die arithmetischen Mittelwerte und die jeweilige Standardabweichung der Verteilung bestimmt.

Um die errechneten Mittelwerte zu vergleichen, wurden statistische Signifikanzberechnungen nach dem t-Test durchgeführt. Mit dem Signifikanzniveau $\alpha = 0{,}05$ bzw. $\alpha = 0{,}01$ wurde eine maximale Irrtumswahrscheinlichkeit von fünf bzw. einem Prozent festgelegt. War der p-Wert des t-Tests kleiner als das Signifikanzniveau, so resultierten für $p < 0{,}05$ signifikante und für $p < 0{,}01$ hochsignifikante Unterschiede.

3 Ergebnisse

3.1 Einfluss des Alters auf die PTX3-Werte

3.1.1 Altersvergleich bei Messungen drei oder mehr Monate nach Lebertransplantation

Es wurden zwei Patientenkollektive miteinander verglichen. In der Tabelle 1 ist der Alters-durchschnitt von 17 Patienten, die zwischen 59 und 77 Jahren alt waren, angegeben. Er betrug bei insgesamt 56 PTX3-Messungen mit einem Mittelwert von 3,04 ng/ml 67,8 Jahre. In der Tabelle 2 ist das Durchschnittsalter von 41,7 Jahren bei 12 Patienten im Alter von 30 bis 50 Jahren aufgeführt. Hier ergab sich bei 56 PTX3-Messungen ein Mittelwert von 1,39 ng/ml.

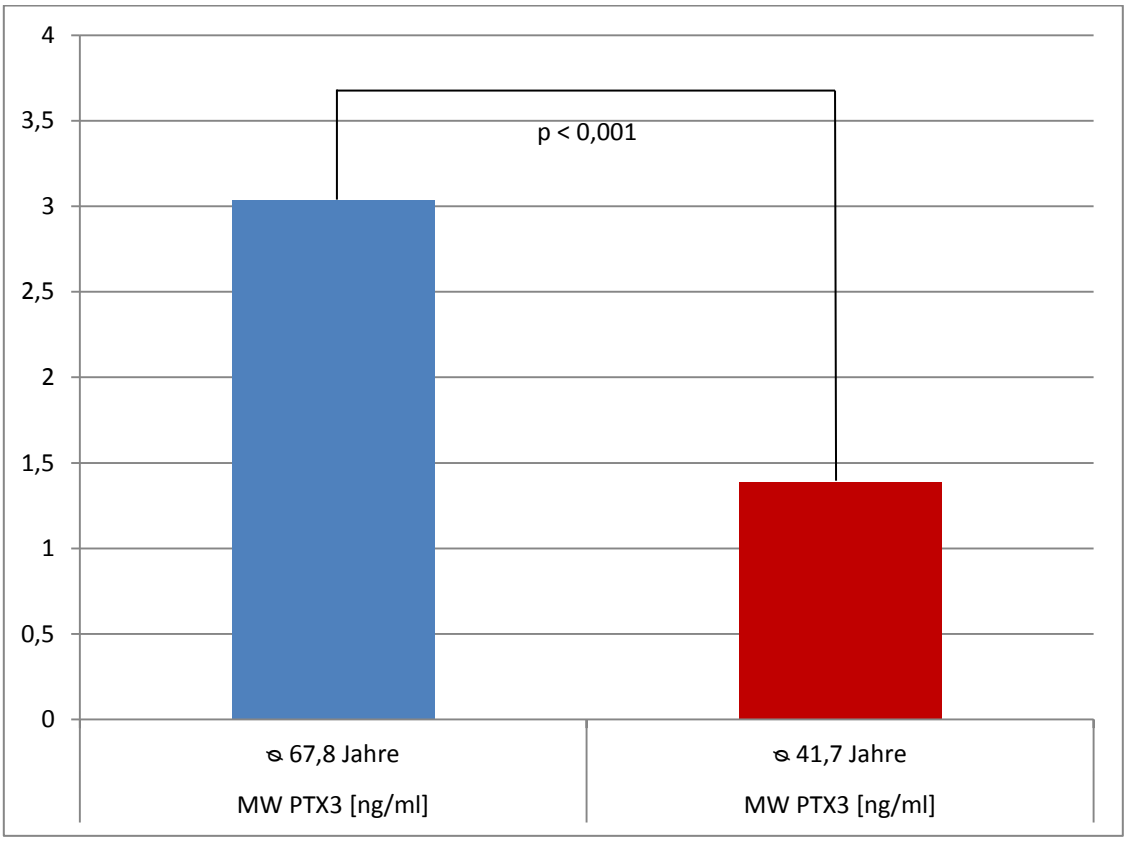

Abb. 8: PTX3-Werte im Altersvergleich bei der Patientengruppe drei oder mehr Monate nach Lebertransplantation

Die statistische Prüfung des t-Tests im Vergleich der PTX3-Mittelwerte dieser beiden Alterskollektive ergab einen hochsignifikanten Wert von $p < 0{,}001$.

3.1.2 Altersvergleich bei Messungen fünf oder mehr Monate nach Lebertransplantation

Bei diesem Vergleich beinhaltet die Tabelle 3 den Mittelwert der 36 PTX3-Werte von 13 Patienten im Alter von 61 bis 77 Jahren in Höhe von 2,55 ng/ml. Der Altersdurchschnitt betrug hierbei 69,2 Jahre. Tabelle 4 gibt mit 1,28 ng/ml den Mittelwert der 36 Messungen von 15 jüngeren Patienten an, die zwischen 30 und 52 Jahren alt waren. Hier ergab sich ein Durchschnittsalter von 44,5 Jahren.

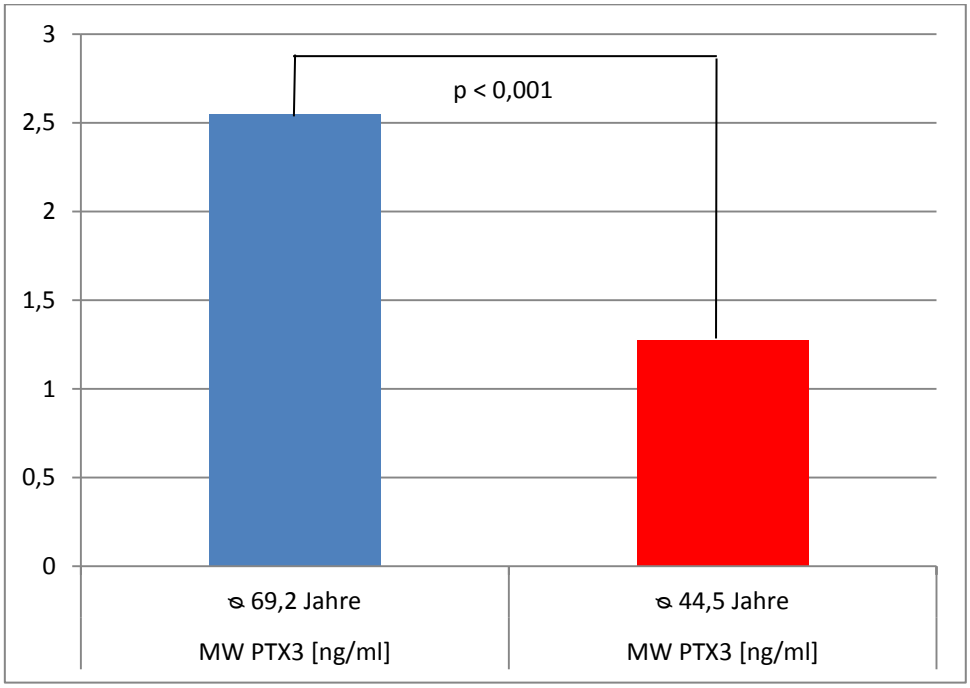

Abb. 9: PTX3-Werte im Altersvergleich bei der Patientengruppe fünf oder mehr Monate nach Lebertransplantation

In der statistischen Analyse nach dem t-Test trat im Vergleich der PTX3-Mittelwerte dieser beiden Alterskollektive ein hochsignifikanter Wert von $p < 0{,}001$ auf.

3.2 Einfluss des Geschlechts auf die PTX3-Werte

3.2.1 Messungen drei oder mehr Monate nach Lebertransplantation

In zwei Patientenkollektiven wurden weibliche und männliche Patienten gegenübergestellt. In Tabelle 5 befindet sich der Mittelwert in Höhe von 2,62 ng/ml bei 42 Messungen an

insgesamt zwölf Patientinnen. Die 42 PTX3-Werte von insgesamt 17 männlichen Patienten ergaben einen Mittelwert von 2,31 ng/ml (vgl. Tab. 6).

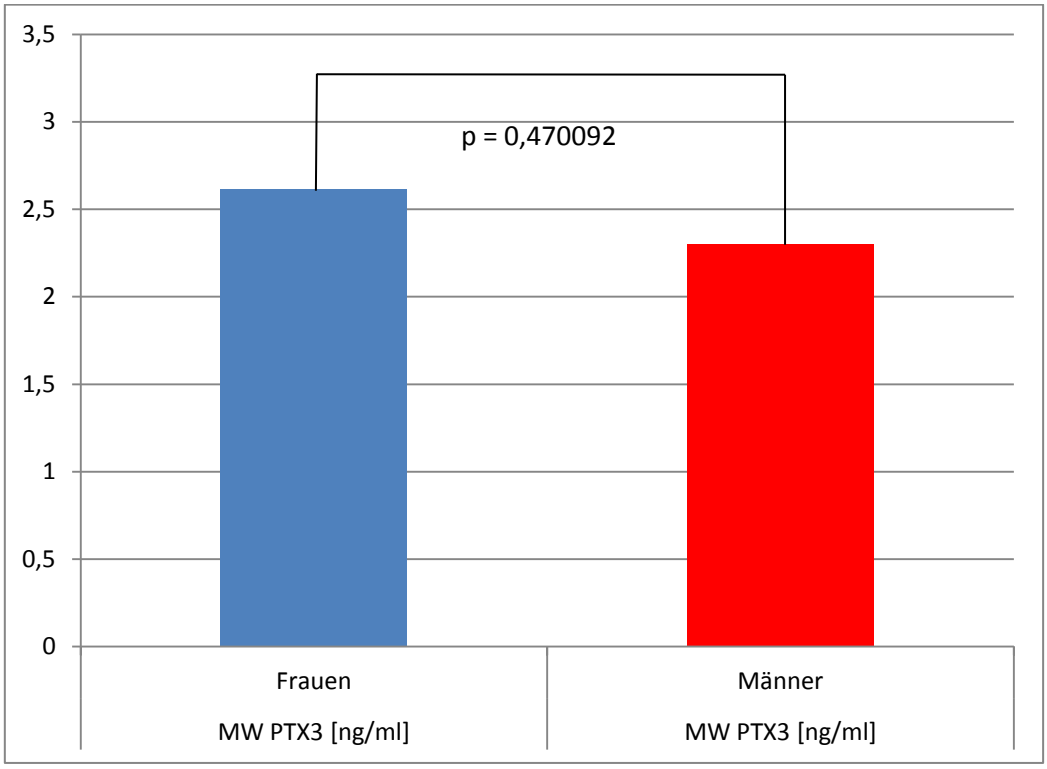

Abb. 10: PTX3-Werte im Geschlechtsvergleich bei der Patientengruppe drei oder mehr Monate nach Lebertransplantation

Zwischen den beiden Gruppen gab es keinen signifikanten Unterschied, aus dem t-Test resultierte ein Wert von p = 0,47.

3.2.2 Messungen fünf oder mehr Monate nach Lebertransplantation

Führte man den geschlechtsbezogenen Vergleich zum Zeitpunkt fünf oder mehr Monate nach Lebertransplantation durch, dann waren bei einem insgesamt abgesenkten PTX3-Niveau wiederum höhere PTX3-Werte bei den Frauen zu finden. Dem PTX3-Mittelwert von 2,37 ng/ml bei den weiblichen stand ein Mittelwert von 2,15 ng/ml bei den männlichen Patienten gegenüber. Die Mittelwerte in der Tabelle 7 wurden aus 22 Messungen an 11 Patientinnen ermittelt, diejenigen in der Tabelle 8 aus ebenfalls 22 Messungen an 14 männlichen Patienten.

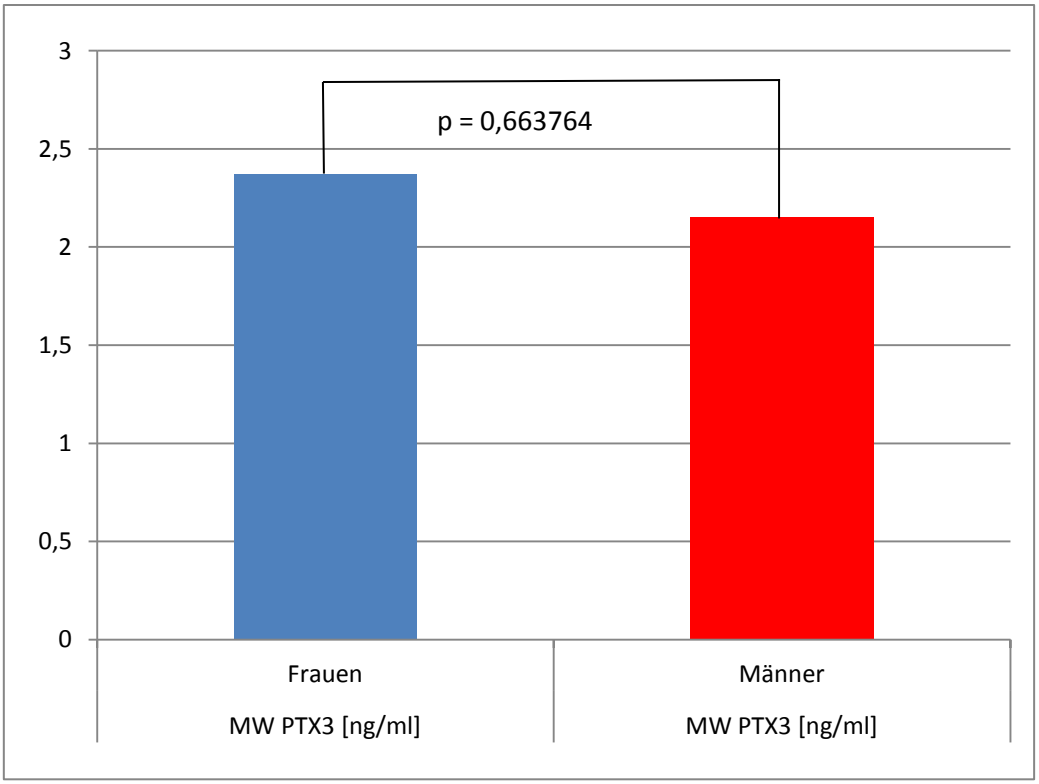

Abb. 11: PTX3-Werte im Geschlechtsvergleich bei der Patientengruppe fünf oder mehr Monate nach Lebertransplantation

Auch hier konnte man im t-Test bei einem Wert von p = 0,66 keine signifikante Abweichung zwischen beiden Geschlechtern feststellen.

3.3 Patienten ohne Lebertransplantation

Untersucht wurden 25 Patienten des Universitätsklinikums mit Lebererkrankungen, insgesamt wurden 32 PTX3-Messungen vorgenommen. Von den 25 Patienten wiesen 21 eine Leberzirrhose auf. In 17 Fällen bestand eine äthyltoxische Ätiologie, sowie jeweils einmal eine primär biliäre und eine kryptogene. Eine Patientin war an einer hepatischen Enzephalopathie erkrankt. In sechs Fällen lag eine Hepatitis, in drei Fällen ein hepatozelluläres Karzinom vor.

Der in Tabelle 9 aufgeführte Durchschnittswert aller PTX3-Messungen betrug 8,15 ng/ml. Fünf Werte lagen in unmittelbarer Nähe des Normbereichs von 2,0 ng/ml. Als höchster Wert wurden 25,9 ng/ml ermittelt.

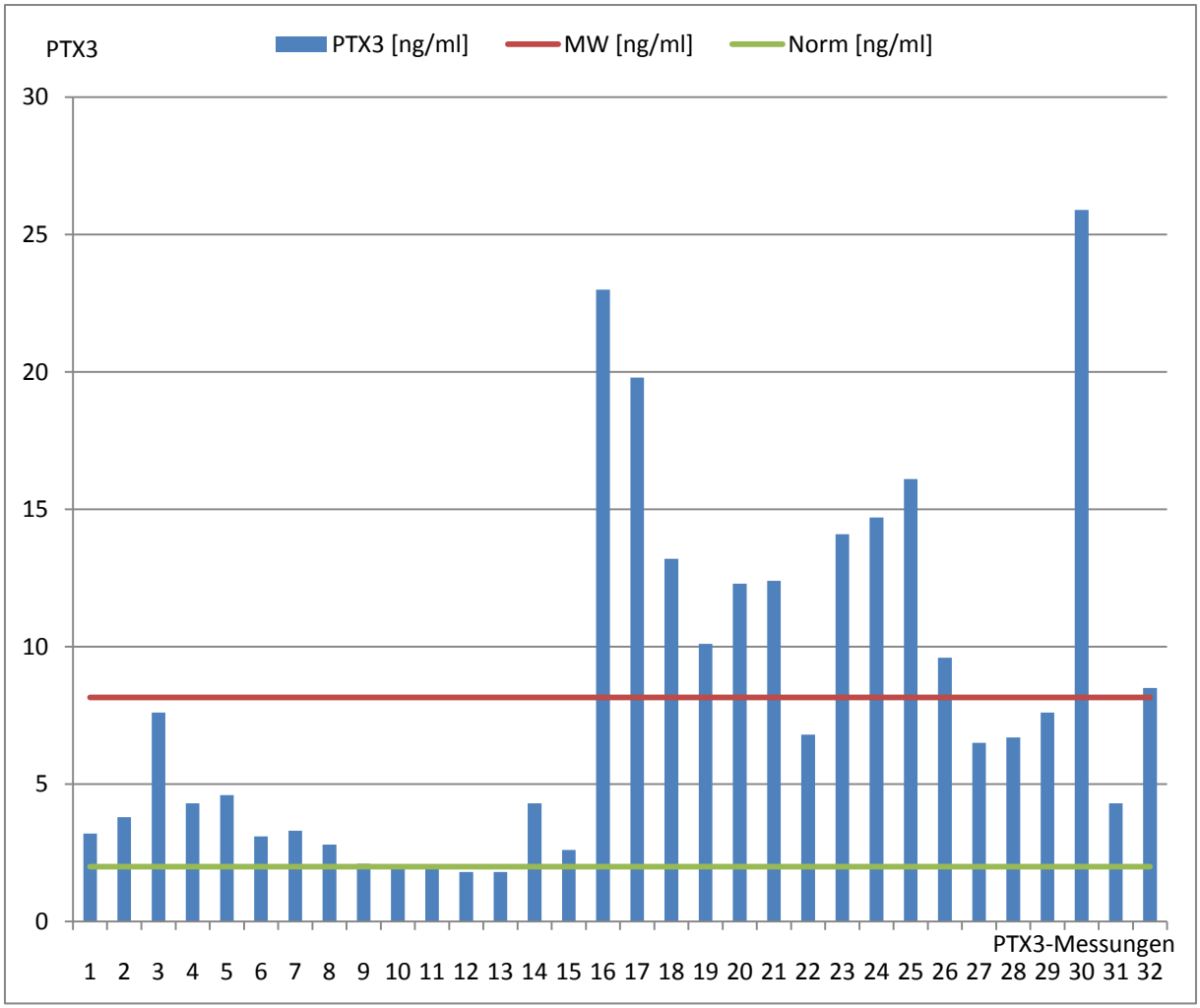

Abb. 12: Patientenmesswerte ohne Lebertransplantation (n = 32)

Rote Linie: Mittelwert von 8,15 ng/ml

Grüne Linie: Normwert von 2,0 ng/ml

Die statistische Signifikanzberechnung nach dem t-Test ergab bei Patienten mit Lebererkrankungen im Vergleich zum Normwert einen hochsignifikanten Wert von $p < 0{,}001$.

3.4 Patienten mit Lebertransplantation

3.4.1 Messungen drei oder mehr Monate nach Lebertransplantation

Bei 39 Patienten mit einer Lebertransplantation führten 146 Messungen, die drei oder mehr Monate nach der Transplantation vorgenommen wurden, zu einer durchschnittlichen PTX3-Konzentration von 2,41 ng/ml (vgl. Tab. 9).

Fünf Messungen wiesen drei bis vier Monate nach Transplantation eine deutliche Erhöhung im Bereich von ca. 10 ng/ml auf. Aus späteren Messungen resultierten bei diesen Patienten jedoch deutlich reduzierte Werte.

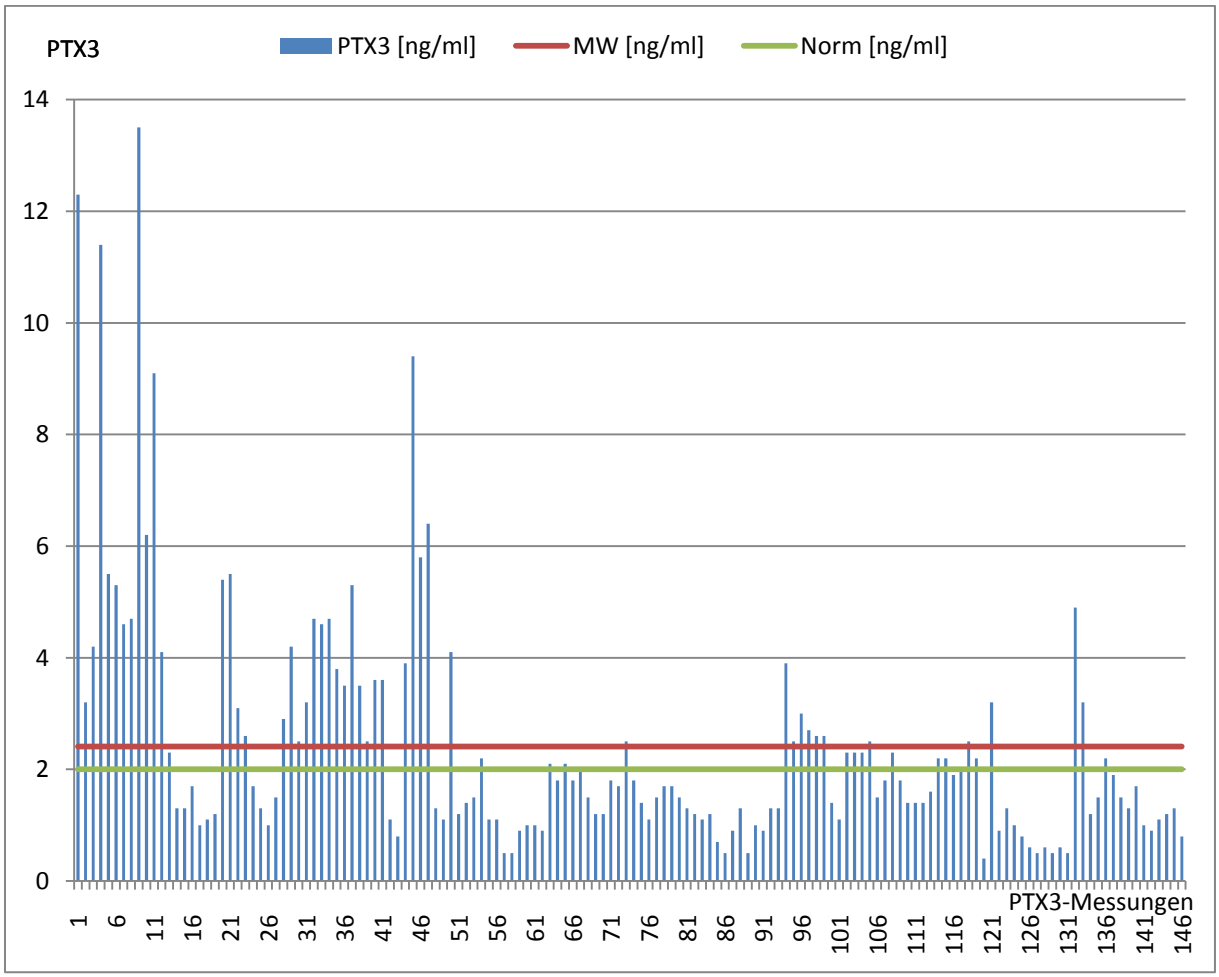

Abb. 13: Messwerte drei oder mehr Monate nach Lebertransplantation (n = 146)
Rote Linie: Mittelwert von 2,41 ng/ml
Grüne Linie: Normwert von 2,0 ng/ml

In der statistischen Auswertung mit Hilfe des t-Tests war bei dieser Patientengruppe eine signifikante Differenz zum Normwert bei einem Wert von p = 0,02435 erkennbar.

3.4.2 Messungen fünf oder mehr Monate nach Lebertransplantation

In diesem Patientenkollektiv wurden 99 Messungen von 37 Patienten berücksichtigt, die fünf oder mehr Monate nach der Lebertransplantation erhoben wurden. Die in dem Kapitel 3.4.1

beobachteten stark erhöhten PTX3-Werte im Bereich von 10 ng/ml kamen nun nicht mehr vor. Der höchste Wert betrug 6,4 ng/ml, der PTX3-Durchschnittswert hatte sich auf 2,19 ng/ml reduziert und lag damit nur noch geringfügig über dem Normwert von 2,0 ng/ml (vgl. Tab. 9).

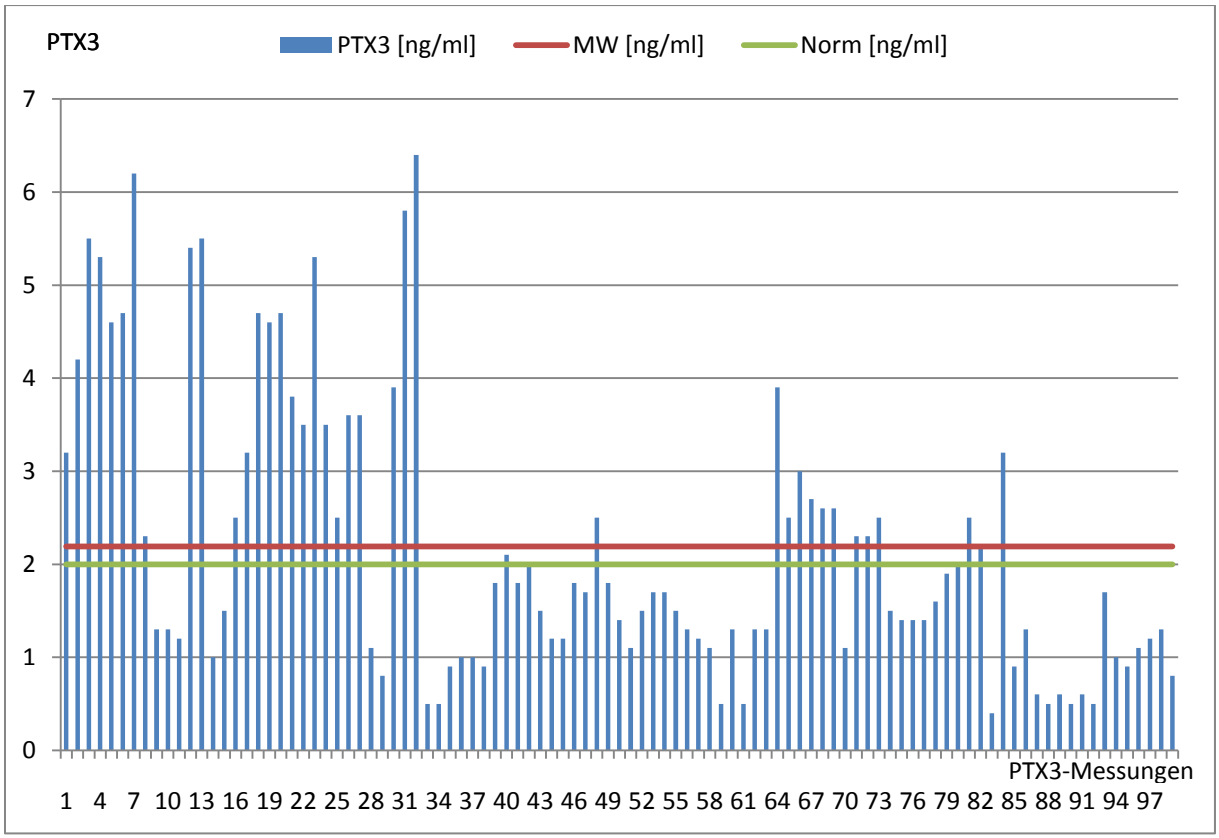

Abb. 14: Messwerte fünf oder mehr Monate nach Lebertransplantation (n = 99)
Rote Linie: Mittelwert von 2,19 ng/ml
Grüne Linie: Normwert von 2,0 ng/ml

Bei diesen Messungen war im t-Test bei einem Wert von p = 0,21520 keine signifikante Abweichung vom Normwert festzustellen.

3.4.3 Vergleich der PTX3-Mittelwerte der drei Untersuchungskollektive

In Abbildung 15 wurden die Durchschnittswerte der Patienten mit Lebererkrankungen ohne Transplantation denjenigen von LTX-Patienten gegenübergestellt. Die PTX3-Messungen erfolgten drei oder mehr sowie fünf oder mehr Monate nach Transplantation.

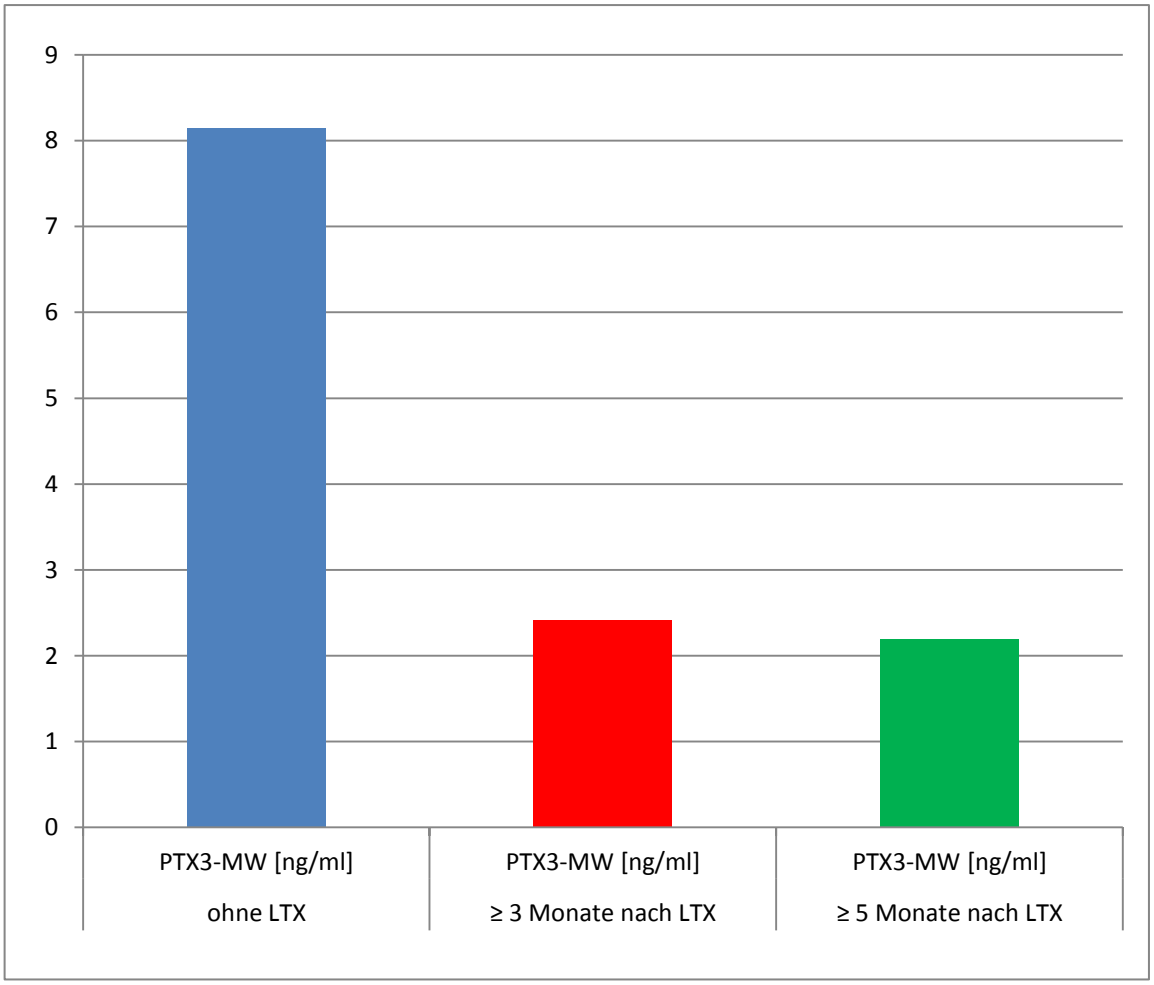

Abb. 15: Die PTX3-Mittelwerte der drei Untersuchungskollektive

3.5 Vergleiche mit anderen klinisch-diagnostischen Parametern

3.5.1 Vergleich mit CRP

Bei einer Gegenüberstellung der PTX3- und der CRP-Werte vom gleichen Tag wurden jeweils 47 Werte von 13 Patienten erfasst. Die ermittelten Differenzen sind als prozentuale Abweichung von dem festgelegtem Normwert des Parameters, der mit 100 Prozent festgesetzt wurde, angegeben.

Insgesamt 22 Werte von PTX3 und CRP wiesen dieselbe von der Norm abweichende Tendenz auf. In sechs Fällen (12,77%) waren sowohl die PTX3- als auch die CRP-Werte erhöht und 16mal ging mit einem niedrigen PTX3-Wert ebenso ein niedriger CRP-Wert einher. 41 CRP-Werte befanden sich gemeinsam mit 16 PTX3-Werten (34,04%) im

Normbereich. In 25 Fällen war festzustellen, dass bei einem CRP-Wert von < 8 mg/l die jeweilige PTX3-Messung oberhalb der Norm von 100% lag. Dies ergibt eine Prozentzahl von 53,19%. Umgekehrt kam es nicht vor, dass bei einem PTX3-Wert unterhalb des Normbereiches allein CRP erhöht war.

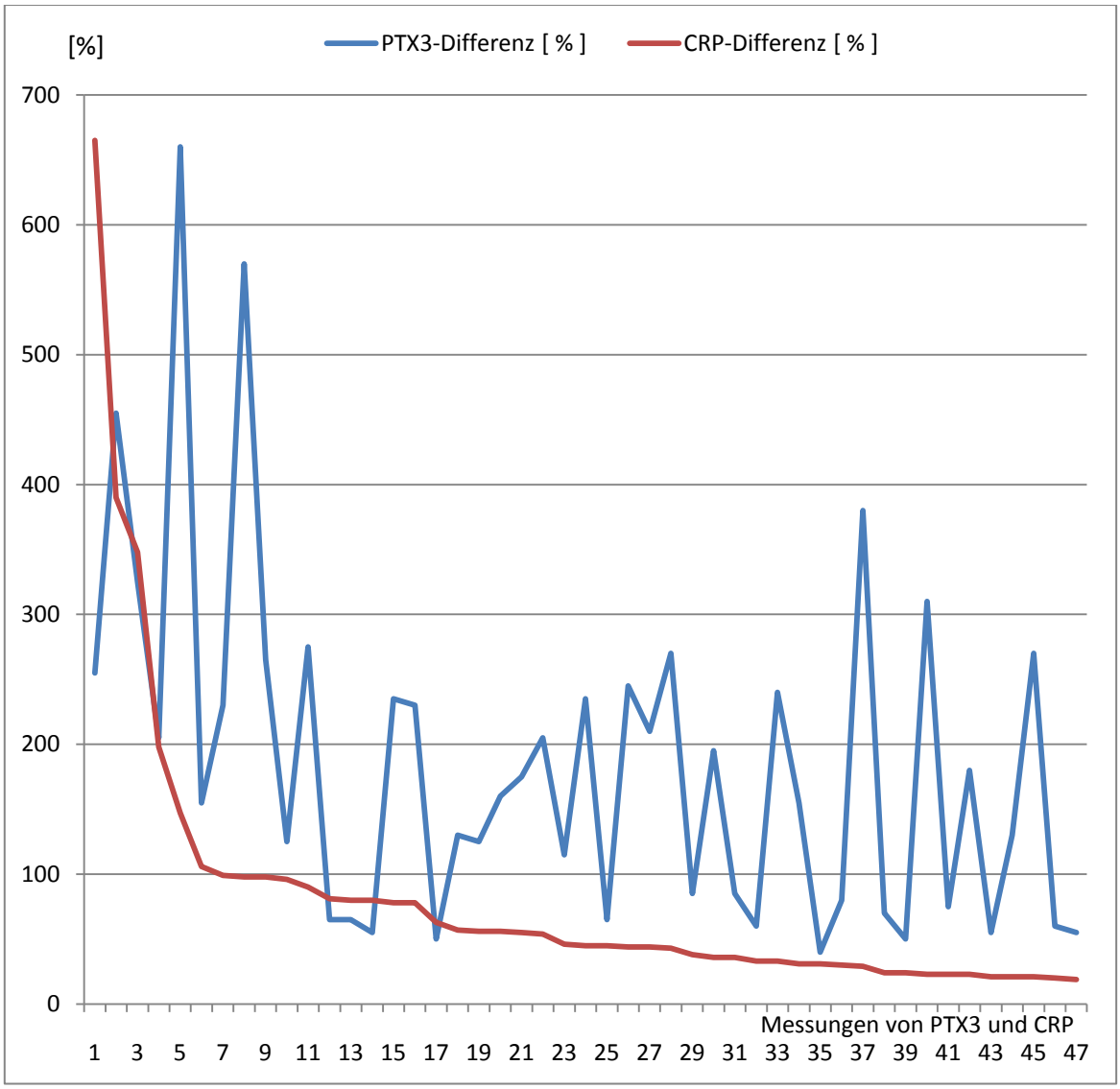

Abb. 16: Vergleich der prozentualen Abweichungen vom Normwert bei PTX3 und CRP (n = 47)

Für eine bessere grafische Darstellung wurden die CRP-Werte und ihre prozentuale Differenz zum Normwert nach der Größe absteigend sortiert. Auf gleiche Weise wurde nachfolgend auch mit den klinisch-diagnostischen Parametern AST, ALT, AP und GGT verfahren.

Bei der statistischen Untersuchung mit dem t-Test konnte man in diesem Vergleich mit einem Wert von $p < 0{,}001$ einen hochsignifikanten Unterschied zwischen beiden Parametern hinsichtlich der prozentualen Abweichung vom Normwert feststellen (vgl. Tab. 11).

3.5.2 Vergleich mit AST

48 PTX3-Werte von 14 Patienten wurden den am gleichen Tag bestimmten AST-Werten gegenübergestellt. Bei 20 Messungen korrelierten die Erhöhungen der PTX3-Werte und der AST-Werte miteinander (41,67%), siebenmal waren beide niedrig. In 26 Fällen lagen die AST-Werte im Normbereich, dabei befand sich siebenmal der PTX3-Wert ebenso im Norm-

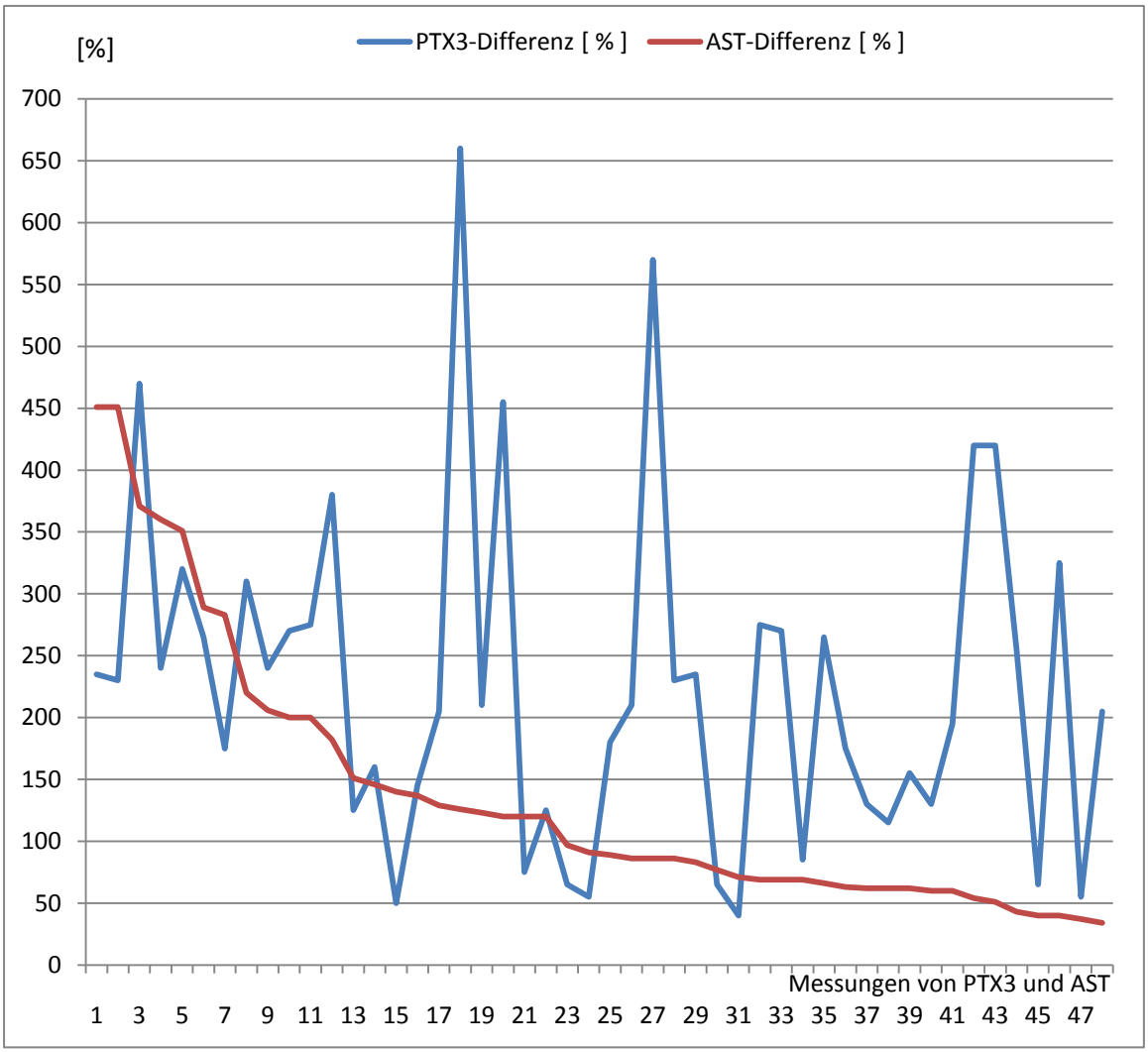

Abb. 17: Vergleich der prozentualen Abweichungen vom Normwert bei PTX3 und AST (n = 48)

bereich (14,58%) und 19mal war er erhöht (39,58%). Zweimal war der AST-Wert allein oberhalb und der PTX3-Wert innerhalb der Norm zu finden (4,17%). Die statistische Signifikanzberechnung nach dem t-Test führte in Bezug auf die prozentuale Abweichung vom jeweiligen Normwert zu einem hochsignifikanten Wert von $p < 0{,}001$ (vgl. Tab. 11).

3.5.3 Vergleich mit ALT

Ein ähnliches Bild wie in Kapitel 3.5.2 präsentierte sich bei der Betrachtung von 49 PTX3-Werten mit den am gleichen Tag bestimmten ALT-Werten. Bei 17 Messungen waren gleichzeitig die PTX3- und die ALT-Werte (34,69%) oberhalb der jeweiligen Norm. Wenn sich 28 ALT-Werte auf Normniveau befanden, waren die PTX3-Messungen fünfmal ebenfalls

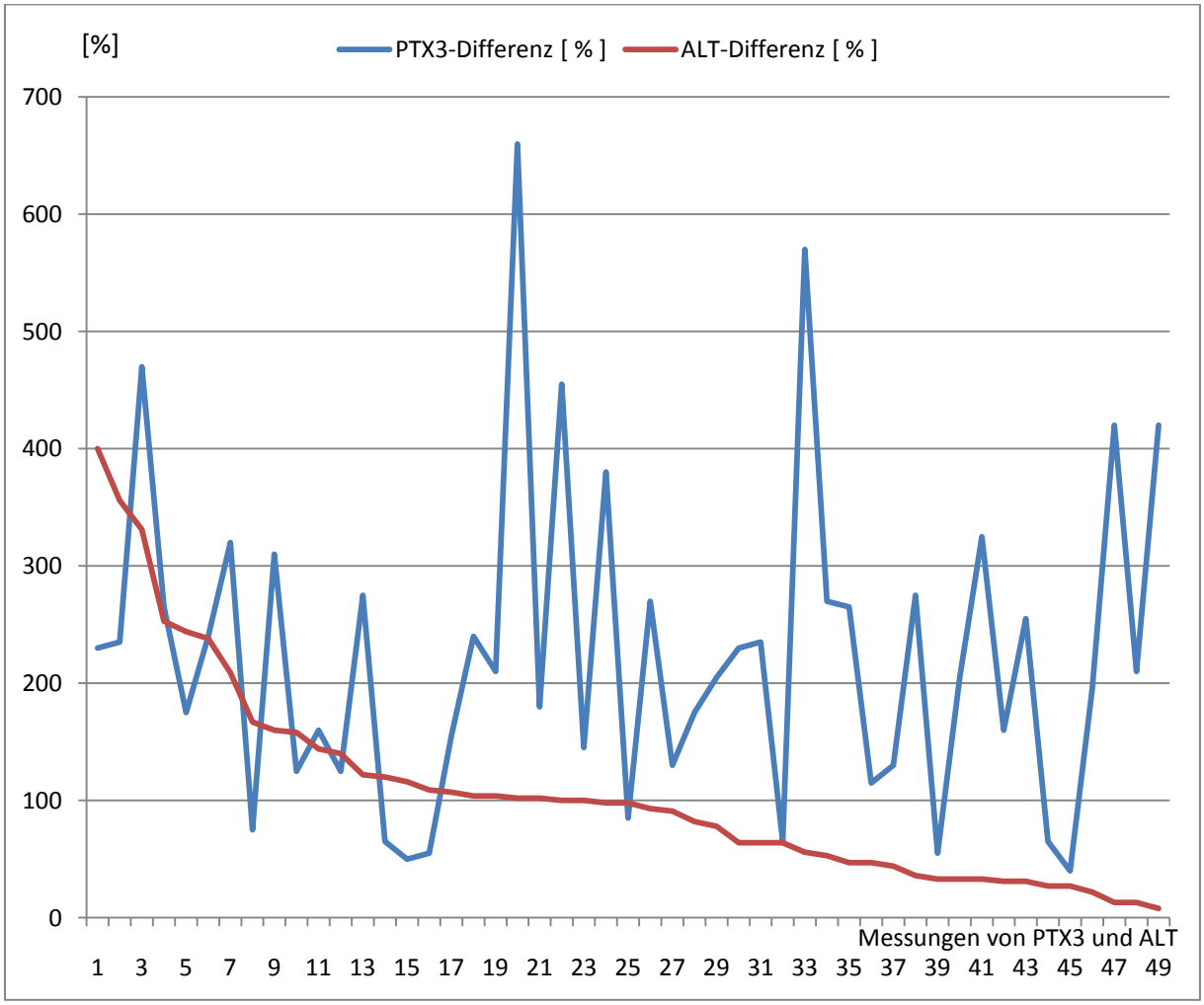

Abb. 18: Vergleich der prozentualen Abweichungen vom Normwert bei PTX3 und ALT (n = 49)

im Normbereich (10,20%) und 23mal lagen sie oberhalb (46,94%). Viermal war bei einem PTX3-Normwert allein der ALT-Wert erhöht (8,16%). Aus der statistischen Auswertung resultierte beim Vergleich der prozentualen Abweichung vom Normwert im t-Test wiederum ein hochsignifikanter Wert von $p < 0{,}001$ (vgl. Tab. 11).

3.5.4 Vergleich mit AP

Die Gegenüberstellung von PTX3- und AP-Werten erfolgte bei jeweils 40 Messungen von insgesamt zwölf Patienten. In 22 Fällen korrelierten erhöhte PTX3- und AP-Werte (55%). 14 AP-Werte lagen im Normbereich, dort befanden sich auch fünfmal die PTX3-Werte (12,50%), neunmal waren sie erhöht (22,50%). Viermal (10%) war lediglich zu einem hohen

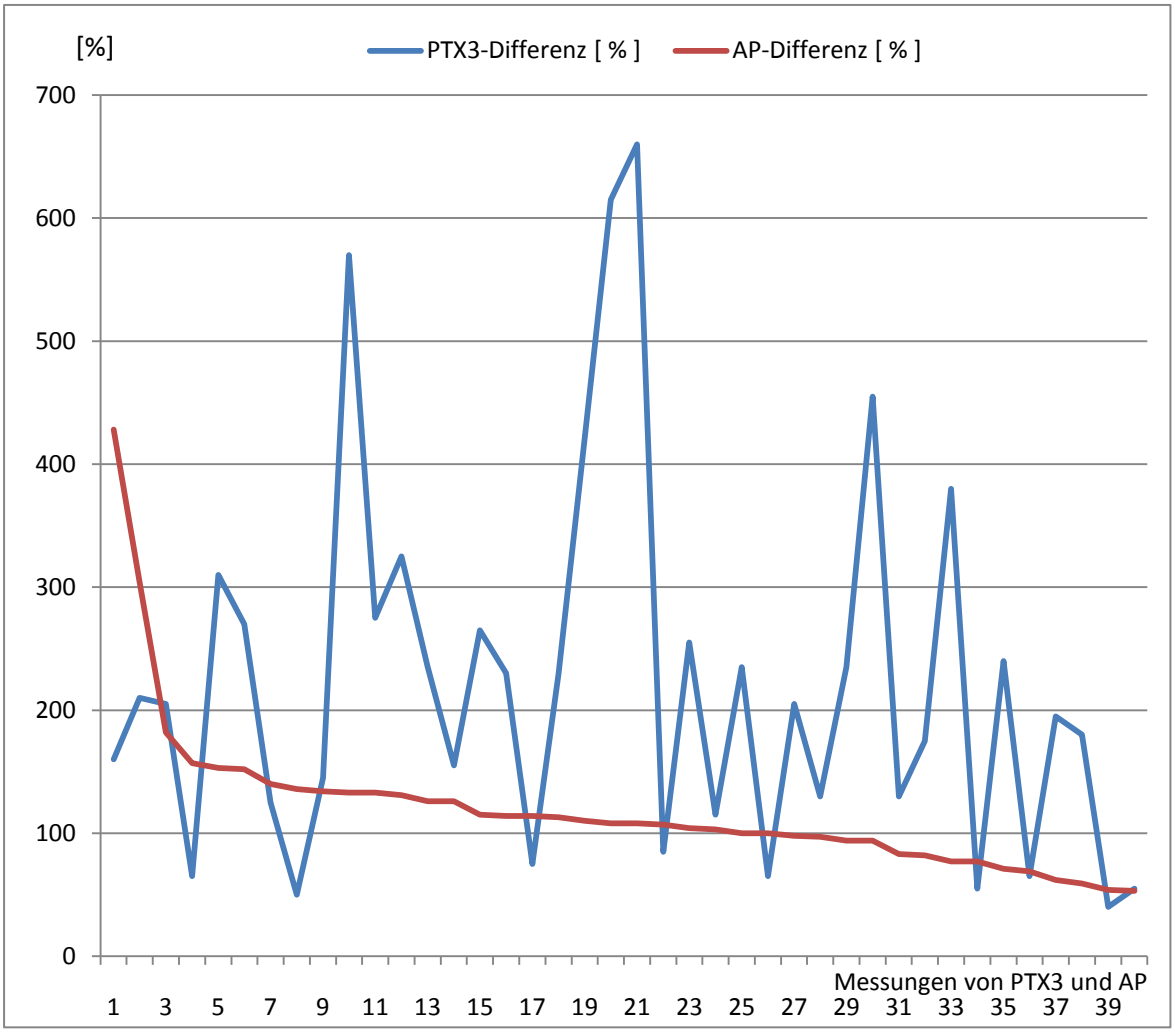

Abb. 19: Vergleich der prozentualen Abweichungen vom Normwert bei PTX3 und AP (n = 40)

AP-Wert ein PTX3-Wert auf Normniveau zugeordnet. Die statistische Signifikanzberechnung nach dem t-Test wies für die prozentuale Abweichung vom jeweiligen Normwert einen hochsignifikanten Wert von $p < 0{,}001$ auf (vgl. Tab. 11).

3.5.5 Vergleich mit GGT

Jeweils 38 Werte von neun Patienten wurden hinsichtlich der PTX3- und der GGT-Werte verglichen. In 24 Fällen korrelierte eine PTX3-Erhöhung mit einer GGT-Erhöhung (63,16%), viermal lagen beide Werte im Normbereich (10,52%). In vier Fällen war allein der GGT-Wert (10,52%), sechsmal allein der PTX3-Wert erhöht (15,79%).

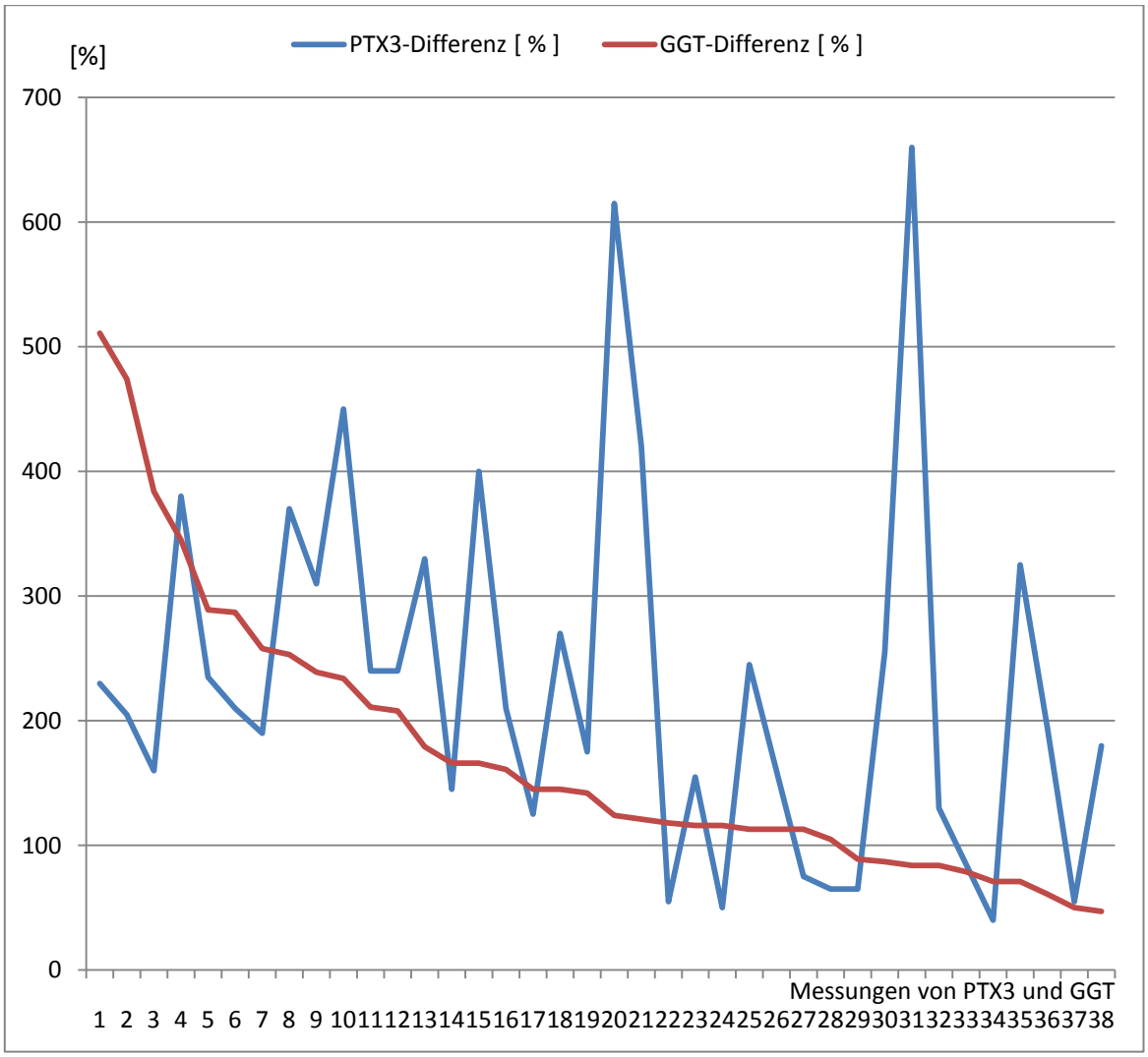

Abb. 20: Vergleich der prozentualen Abweichungen vom Normwert bei PTX3 und GGT (n = 38)

In der statistischen Analyse nach dem t-Test konnte für die prozentuale Abweichung der Parameter vom betreffenden Normwert ein signifikanter Wert von p = 0,04944 ermittelt werden (vgl. Tab 11).

3.6. Vergleich der prozentualen Abweichungen vom Normwert bei den verschiedenen klinisch-diagnostischen Parametern

Mit einer Erhöhung auf 217,23% fiel die Abweichung bei den PTX3-Werten, gefolgt von GGT (172,61%) und AST (137,15%), am deutlichsten aus (vgl. Tab. 10). Das durchschnittliche Niveau der CRP-Werte (82,04) befand sich unterhalb der 100%-Grenze. ALT (107,59%) und AP (120,03%) lagen nur leicht oberhalb.

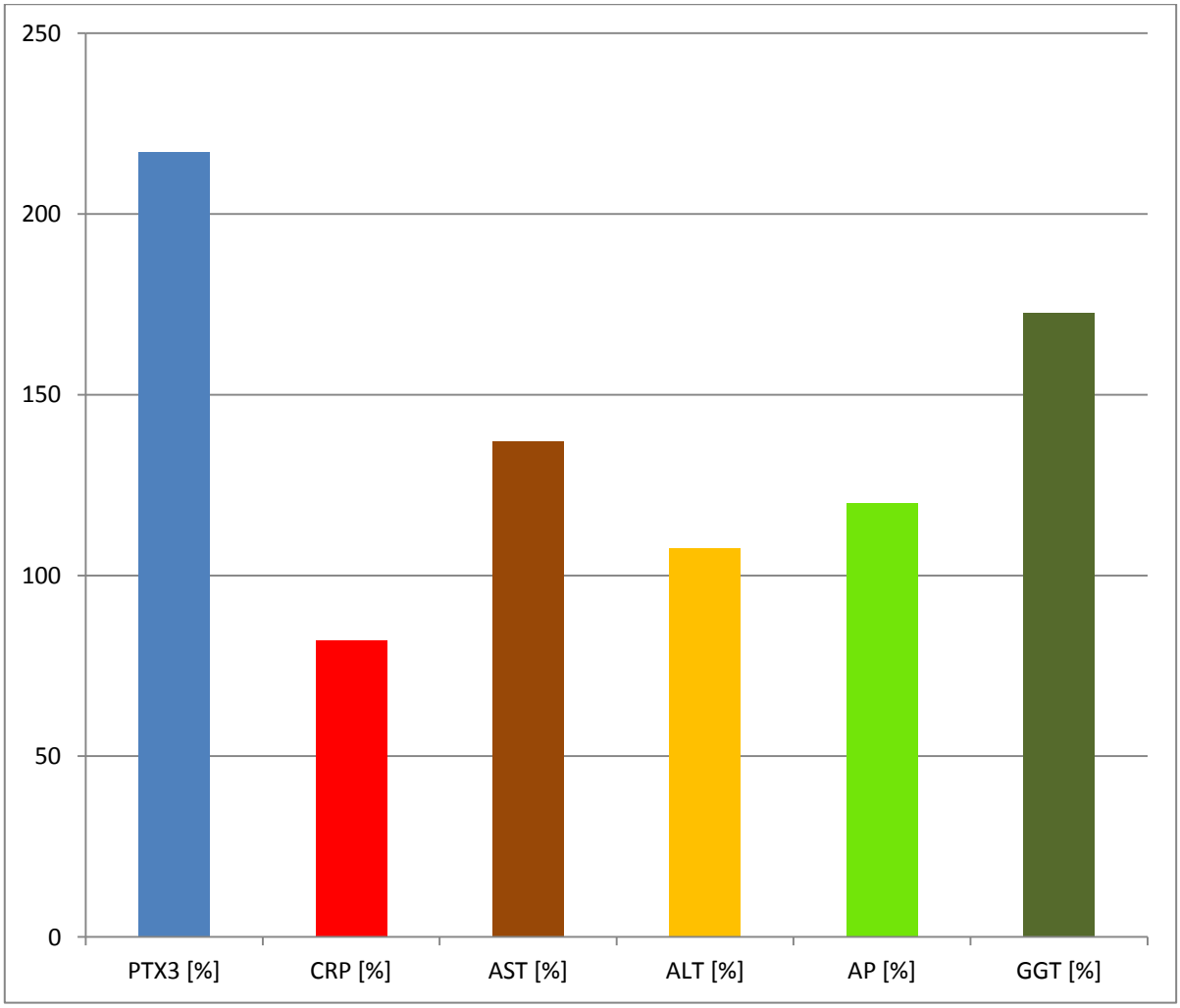

Abb. 21: Mittelwerte der prozentualen Abweichungen vom Normwert bei den verschiedenen klinisch-diagnostischen Parametern

4 Diskussion

4.1 Diskussion der Methode hinsichtlich des Effekts von Geschlecht und Alter

Um den Einfluss von Alter und Geschlecht der Patienten auf die PTX3-Werte der drei Patientenkollektive (Patienten ohne Lebertransplantation / Patienten drei oder mehr Monate nach Lebertransplantation / Patienten fünf oder mehr Monate nach Lebertransplantation) feststellen zu können, wurden sowohl Vergleiche zwischen weiblichen und männlichen, als auch zwischen jüngeren und älteren Patientengruppen angestellt.

Die Überprüfung der PTX3-Werte auf Unterschiede hinsichtlich des Geschlechts wies eine weitgehende Übereinstimmung mit den Ausführungen von YAMASAKI et al. (2009) auf. Die nach drei oder mehr Monaten bzw. nach fünf oder mehr Monaten gemessenen Werte bei den Patienten mit Lebertransplantation lagen mit Durchschnittswerten von 2,41 ng/ml bzw. 2,19 ng/ml PTX3 noch leicht oberhalb des von YAMASAKI et al. (2009) genannten Normwertes von 2,0 ng/ml. Es ergaben sich in beiden Untersuchungen höhere Werte beim weiblichen Geschlecht.

Bei dem Vergleich eines weiblichen Patientenkollektivs mit einem männlichen jeweils drei oder mehr Monate nach einer Lebertranspantation traten PTX3-Durchschnittswerte von 2,62 ng/ml bei den Frauen und 2,31 ng/ml bei den Männern auf. Die statistische Auswertung mit dem t-Test erbrachte mit $p = 0,47$ auch bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von fünf Prozent keine statistische Signifikanz. Fünf Monate oder mehr nach Lebertransplantation zeigte sich ein ähnliches Bild. Einem Durchschnittswert von 2,37 ng/ml in der weiblichen Gruppe standen 2,15 ng/ml bei den Männern gegenüber. Auch hier ließen sich im t-Test mit $p = 0,66$ keine statistisch signifikanten Unterschiede erkennen.

Stärker stellte sich der Einfluss des Lebensalters auf die PTX3-Werte dar. PTX3-Messungen drei oder mehr Monate nach Lebertransplantation führten bei einem Durchschnittsalter von 67,8 Jahren zu einem PTX3-Mittelwert von 3,04 ng/ml, bei durchschnittlich 41,7 Jahren zu 1,39 ng/ml. Aus der statistischen Signifikanzberechnung mit dem t-Test resultierte mit $p = 0,00009$ eine hochsignifikante Abweichung. Beim Vergleich zweier Altersgruppen mit Messungen nach fünf und mehr Monaten zeigten sich entsprechende Ergebnisse. Das ältere Patientenkollektiv (Altersdurchschnitt 69,2 Jahre) hatte 2,55 ng/ml als PTX3-Mittelwert, das

jüngere (Altersdurchschnitt 44,5 Jahre) 1,28 ng/ml. Auch hier war mit p = 0,0002 eine hochsignifikante Differenz vorhanden.

Über dieses Anwachsen der PTX3-Serumwerte mit zunehmendem Lebensalter hatten YAMASAKI et al. (2009) berichtet, die in ihrer Studie mit 1749 Probanden hochsignifikante Unterschiede zwischen verschiedenen gesunden Altersgruppen von 37 bis 87 Jahren mit einem Durchschnittsalter von 59,6 Jahren aufzeigten. Auch in dieser Untersuchung war der Einfluss des Lebensalters auf die PTX3-Werte größer als der des Geschlechts.

Die Effekte von Alter und Geschlecht der Patienten, denen allerdings im Gegensatz zur inflammatorischen Auswirkung eine geringe Bedeutung zukommt, wurden beim Vergleich der PTX3-Werte der drei Patientenkollektive (Patienten ohne Lebertransplantation / Patienten drei oder mehr Monate nach Lebertransplantation / Patienten fünf oder mehr Monate nach Lebertransplantation) schließlich nicht berücksichtigt. Die PTX3-Werte beim Vergleich der Geschlechter unterschieden sich nicht signifikant, das Durchschnittsalter aller drei Patientenkollektive lag mit 57,8, 55,4 und 56,8 Jahren nah beieinander und hatte somit keine Auswirkung auf die Ergebnisse. Auch das Verhältnis von weiblichen zu männlichen Probanden war in allen drei Gruppen ähnlich. Bei der vergleichenden Gegenüberstellung von PTX3-Werten zu den anderen klinisch-diagnostischen Parametern handelte es sich ohnehin um jeweils identische Patientenkollektive.

4.2 Diskussion der erhobenen Daten

In der Untersuchung der PTX3-Werte von Patienten mit Lebererkrankungen ohne Transplantation wurde ein Mittelwert von 8,15 ng/ml berechnet. Dieser lag deutlich oberhalb des von YAMASAKI et al. (2009) mit 2,0 ng/ml genannten Normwertes bei gesunden Probanden. Der höchste Wert betrug 25,9 ng/ml, als niedrigste Messungen wurden zweimal 1,8 ng/ml bestimmt. Insgesamt lagen vier Werte knapp unterhalb, 23 oberhalb und einer im Bereich des Normwertes.

Die statistische Auswertung nach dem t-Test führte zu einem Wert von p = 0,0000071. Bei einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0{,}01$ wichen die Werte damit hochsignifikant vom Normwert (2,0 ng/ml) ab.

Diese Resultate stimmten mit anderen Beobachtungen bei entzündlichen Erkrankungen überein, bei denen ebenfalls die PTX3-Werte im Serum erhöht waren. KATO et al. (2008) ermittelten bei Patienten mit Morbus Crohn bzw. Colitis ulcerosa durchschnittliche PTX3-Werte von 8,22 bzw. 5,80 ng/ml. Bei Meningokokken-Infektionen fanden SPRONG et al. (2009) PTX3-Erhöhungen, die weit über 100 ng/ml lagen.

YONEDA et al. (2008) stellten in ihrer Untersuchung bei einer entzündlichen Lebererkrankung deutlich höhere PTX3-Werte als bei nicht-entzündlicher Lebererkrankung fest. Dabei verglichen sie Steatohepatitis-Patienten mit Patienten, die unter einer nicht-entzündlichen Leberverfettung litten.

Betrachtet man die PTX3-Werte von Patienten mit einer drei oder mehr Monate zurückliegenden Lebertransplantation, so lässt sich eine zunehmende Annäherung an den Normwert beobachten. Der Mittelwert der 146 erhobenen PTX3-Messungen hatte sich nun auf 2,41 ng/ml reduziert. Drei Werte lagen mit 13,5 ng/ml, 12,3 ng/ml bzw. 11,4 ng/ml im zweistelligen Bereich, verschiedene Werte im Bereich von 0,5 ng/ml bildeten die niedrigsten Ergebnisse. Sieben Werte waren im Normbereich von 2,0 ng/ml zu finden, 61 waren niedriger und 44 höher.

Im Vergleich zum Normwert von 2,0 ng/ml PTX3 ergab die statistische Auswertung nach dem t-Test bei diesem Patientenkollektiv einen signifikanten Wert von $p = 0{,}024$. Die Werte befanden sich somit schon oberhalb des hochsignifikanten Niveaus von $\alpha = 0{,}01$, aber unterhalb des Signifikanzniveaus von $\alpha = 0{,}05$.

Wenn der Abstand zur Lebertransplantation auf fünf und mehr Monate erhöht wurde, so setzte sich die Annäherungstendenz zum PTX3-Normwert weiter fort. Aus den 99 Werten ließ sich ein Mittelwert von 2,19 ng/ml errechnen. 6,4 ng/ml stellten hier das Maximum, 0,4 ng/ml das Minimum dar. Der größere Zeitabstand ließ die Anzahl der erhöhten Werte auf 37 sinken, 57 lagen unterhalb der Norm und fünf Werte im Normbereich. Hier wies die statistische Auswertung nach dem t-Test einen Wert von $p = 0{,}215$ auf. Selbst bei einem erhöhten Signifikanzniveau von $\alpha = 0{,}05$ mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von fünf Prozent lag dieser Wert oberhalb der Signifikanzschwelle und unterschied sich damit nicht mehr signifikant vom Normwert.

Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, dass sich nach einer erfolgreichen Lebertransplantation die zuvor aufgrund der Lebererkrankung erhöhten PTX3-Werte wieder normalisieren. Hierbei muss man allerdings berücksichtigen, dass den Patienten nach erfolgter Organtransplantation Immunsuppressiva wie Tacrolimus oder Sirolimus verabreicht wurden. Diese Medikamente unterdrücken nicht nur die gegen das neue Organ gerichtete Abwehrreaktion, sondern durch eine verminderte Zytokinproduktion auch das gesamte Immunsystem. Eine Immunsuppression bewirkt bei bestehender Infektion eine Dämpfung der Immunantwort, woraus ein reduzierter Anstieg von PTX3, CRP und anderen diagnostischen Parametern resultiert.

Die 27 erhöhten von insgesamt 32 Messungen bei den Patienten ohne Lebertransplantation lassen den Schluss zu, dass mit einer Lebererkrankung in der Regel auch ein PTX3-Anstieg einhergeht. In den meisten Fällen lag dabei eine Leberzirrhose vor, die einer äthyltoxischen Ätiologie entstammt. Die fünf Werte in der Nähe des Normbereiches von 2,0 ng/ml ermöglichen diesbezüglich jedoch kein absolutes Urteil. Somit muss nicht mit jeder Leberzirrhose zwangsläufig eine PTX3-Erhöhung einhergehen, andererseits kann aber ein Anstieg des PTX3-Wertes als ein deutlicher Hinweis für eine Lebererkrankung angesehen werden.

In diesem Sinne lässt sich als Ursache für die PTX3-Erhöhung die Entzündungssituation, die aufgrund der Leberzirrhose besteht, deuten. Innerhalb des Immunsystems nimmt PTX3 unterschiedliche Rollen im Bereich der Phagozytose (DINIZ et al. 2004), der Aktivierung des Komplementsystems (NAUTA et al. 2003) sowie bei der Apoptose (ROVERE et al. 2000) ein und wird dabei in stärkerem Maße exprimiert. Nach HAN et al. (2005) induzieren die Entzündungsmediatoren TNF-α und IL-1b eine PTX3-Bildung in Endothelzellen und Fibroblasten. IL-10 zeigte dieselbe Wirkung auf Monozyten und DCs (PERRIER et al. 2004). DONI et al. (2003) wiesen bei Makrophagen und DCs eine erhöhte PTX3-Bildung als Antwort auf präinflammatorische Reize nach. MANTOVANI et al. (2008) beobachteten bei PTX3 ein für Akute-Phase-Proteine typisches Verhalten, dass es im Vergleich zu den geringen Normwerten von etwa 2,0 ng/ml bei gesunden Patienten auf infektiöse Erkrankungen hin plötzlich und stark ansteigen kann.

Als eine bedeutende Ursache der erhöhten PTX3-Serumwerte bei Patienten mit einer Leberzirrhose kann auch die verringerte Abbaufunktion dieses Organs und die daraus

resultierende verminderte Reduzierung von PTX3 in Betracht gezogen werden. RAMADORI et al. (1991) wiesen nach, dass bei Patienten mit Lebererkrankungen die Serumkonzentrationen von Hyaluronsäure statistisch hochsignifikant anstiegen. Bei einer autoimmunen chronisch aktiven Hepatitis erfolgte unter immunsuppressiver Behandlung ein Absinken der Hyaluronsäurekonzentration auf das Normwertniveau, bei einer bestehenden Zirrhose sank sie ebenfalls, blieb aber im Vergleich zum Normwert noch erhöht. Die angestiegene Serumkonzentration von Hyaluronsäure bei einer geringen Entzündungsreaktion kann somit als Auswirkung der reduzierten Clearance-Funktion der Leber angesehen werden.

In einer weiteren Arbeit zeigten ZÖHRENS et al. (1994), dass eine Stimulation des Immunsystems durch Interferon-α (INF-α) einen Anstieg der Hyaluronsäurekonzentration im Serum von Patienten mit einer chronischen Hepatitis B auslöst. Diese hohen Hyaluronsäurewerte wurden auch als eine Folge der durch das INF-α ausgelösten verminderten Clearance-Kapazität der sinusoidalen Endothelzellen angesehen. INF-α kann also eine Beurteilung der funktionellen Kapazität dieser Zellen ermöglichen und damit Erkenntnisse über die Qualität der Leberfunktion vermitteln.

ZÖHRENS et al. (1993) fanden erhöhte Serumwerte des interzellulären Adhäsionsmoleküls-1 (ICAM-1), die mit einem hohen AST-Niveau korrelierten. Sie führten die hohen ICAM-1-Werte einerseits auf eine verstärkte Sekretion dieses Proteins durch Hepatozyten unter Einwirkung von Entzündungsmediatoren, andererseits auf eine passive Ablösung der Adhäsionsmoleküle von nekrotischen Leberzellen zurück. Auch in dieser Untersuchung war eine Normalisierung der Serumwerte unter einer immunsuppressiven Therapie zu beobachten, die allerdings nicht eintrat, wenn sich eine Leberzirrhose entwickelt hatte und das Organ in seiner Funktion eingeschränkt war.

Bei den ermittelten PTX3-Werten lässt sich im Vergleich dieselbe Tendenz feststellen wie in den Arbeiten von RAMADORI et al. (1991) und von ZÖHRENS et al. (1994). Ebenso wie die ICAM-1- und die Hyaluronsäure-Werte stiegen auch die PTX3-Konzentrationen im Serum bei Patienten mit Leberzirrhose an und näherten sich nach einer erfolgten Lebertransplantation wieder dem von YAMASAKI et al. (2009) definierten Normwert von 2,0 ng/ml an. Diese Parallelität lässt vermuten, dass wie bei Hyaluronsäure und ICAM-1 auch bei PTX3 die verminderte Abbaufunktion der Leber ein wichtiger Faktor für die erhöhten Serumwerte sein kann.

In der Gegenüberstellung der PTX3-Werte mit anderen klinisch-diagnostischen Parametern wurde von den jeweiligen festgelegten Normwerten als 100% ausgegangen und die ermittelten Werte wurden prozentual miteinander verglichen.

Der Vergleich zwischen den PTX3- und CRP-Werten brachte in 25 von 47 Fällen allein eine Steigerung des PTX3-Gehalts, was einen Prozentwert von 53,19% ausmacht, während sich die CRP-Werte innerhalb des Normbereichs von ≤ 8 mg/l befanden. 22mal trat dieselbe Tendenz auf, dass entweder beide Parameter erhöht oder erniedrigt waren (46,81%). Eine alleinige CRP-Erhöhung kam hingegen nicht vor. In Abbildung 16 lässt sich deutlich ablesen, dass die blau gezeichneten PTX3-Prozentwerte in einer großen Mehrzahl der Fälle höher lagen als die jeweilig entsprechenden roten CRP-Werte.

Somit besaßen die PTX3-Werte gegenüber CRP eine deutlich höhere Aussagekraft bei den Patienten mit Lebererkrankungen. Entweder korrelierten sie mit den CRP-Werten und gaben dieselbe Aussage oder sie waren allein erhöht und lieferten damit einen Hinweis auf die Erkrankung, während dies von den niedrigen CRP-Werten im Normbereich nicht abzuleiten war. Der statistische Vergleich der prozentualen Abweichungen vom Normwert bei beiden Parametern im t-Test ergab mit $p = 0{,}00000478$ einen hochsignifikanten Unterschied bei einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0{,}01$. Daraus kann man schließen, dass eine ermittelte PTX3-Erhöhung zuverlässiger als ein gleichzeitig erhobener CRP-Wert auf eine Lebererkrankung hindeuten kann.

CRP wurde auch von NASCIMENTO et al. (2005) in einer brasilianischen Untersuchung mit 118 Hämodialyse-Patienten als ein weniger brauchbarer Marker bezeichnet. In einem Vergleich zwischen mit dem Hepatitis C-Virus (HCV) infizierten und nicht-infizierten Patienten wurden bei den HCV+-Patienten wohl die höheren ALT-Werte festgestellt. Das Verhältnis von CRP zu IL-6 war aber signifikant niedriger als bei der nicht infizierten Kontrollgruppe.

Bei der Gegenüberstellung von PTX3 und AST-Werten wurden 48 Werte von 14 Patienten betrachtet. Dabei ergab sich in 27 Fällen (57%) eine gleichartige Tendenz zwischen den prozentualen PTX3- und AST-Differenzen. In 19 Fällen war der PTX3-Wert allein erhöht (40%) und zweimal trat der umgekehrte Fall auf (4%). Abbildung 17 zeigt, dass die PTX3-

Werte sich prozentual meist deutlich über den jeweiligen AST-Werten befanden. Die statistische Auswertung zeigte bei p = 0,0003 eine hochsignifikante Differenz auf.

Dieselbe Tendenz trat auch bei der vergleichenden Betrachtung von PTX3 und ALT hinsichtlich der prozentualen Abweichungen vom Normwert auf. Von den insgesamt 49 Messungen war bei 23 allein PTX3 erhöht (47%) und in 22 Fällen korrelierten die jeweiligen Werte miteinander (45%). Aus Abbildung 18 lässt sich entnehmen, dass die PTX3-Werte eine deutlich stärkere Abweichungstendenz vom Normwert aufwiesen als die ALT-Werte. Die statistische Auswertung nach dem t-Test führte mit p = 0,0000039 zu einem noch deutlicheren, hochsignifikanten Unterschied.

GIANNINI et al. (2005) beobachteten, dass einerseits bei gesunden Probanden 2,5% erhöhte Aminotransferasen-Werte festgestellt wurden, andererseits aber bei 16% der Patienten mit einer Hepatitis-C-Infektion und bei 13% der NAFLD-Patienten trotz eines histologisch nachgewiesenen Leberschadens normale Werte auftraten. Damit übereinstimmend zeigen die Abbildungen 17 und 18 ebenfalls einen hohen Anteil mit niedrigen Aminotransferase-Messungen. 26 der 48 AST-Werte (54,17%) lagen im Normbereich, bei den ALT-Messungen waren es 28 von 49 (57,14%). Es muss dabei allerdings berücksichtigt werden, dass die immunsuppressive Therapie bei den Patienten mit Lebertransplantation zu einer Absenkung des Aminotransferasen-Niveaus beigetragen hatte.

CLARK et al. (2003) stellten in einer großen amerikanischen Untersuchung mit 15676 Probanden fest, dass für 69% der erhöhten Aminotransferasen ohne Biopsie keine Erklärung gefunden werden konnte. Nur für 31% der Fälle war ein hoher Alkoholkonsum, Hepatitis B oder C oder eine Hämochromatose als Ursache bekannt. Bei den meisten ungeklärten Fällen handelte es sich um Patienten mit Adipositas und anderen Merkmalen eines metabolischen Syndroms, was auf eine NAFLD hindeutete. SKELLY et al. (2001) kamen in einer englischen Studie zu ähnlichen Resultaten. Bei 354 Patienten ohne serologischen Befund konnte nach einer Leberbiopsie in 34% eine NASH und in 32% eine NAFLD als Begründung für die angestiegenen Aminotransferasen genannt werden. In 6% der Fälle lag trotz erhöhter Werte eine gesunde Leber vor. In einer Arbeit aus Taiwan, einem Land mit einer hohen Prävalenz von Hepatitis B, stellten CHEN et al. (2007) ebenfalls eine von Stoffwechselstörungen begleitete NAFLD (33,6%), gefolgt von Hepatitis B-Infektionen (30,7%), als häufigste Ursache für eine Erhöhung von ALT-Werten fest. ELKE et al. (2008) kamen zu dem Schluss,

dass mit Hilfe erhöhter Aminotransferasen-Werte keine genauen Rückschlüsse auf den Schweregrad und die Ätiologie einer Lebererkrankung gezogen werden können.

Bei der Gegenüberstellung von PTX3- und AP-Konzentrationen befand sich bei insgesamt 40 Messungen von 12 Patienten neunmal allein der PTX3-Gehalt oberhalb des Normniveaus, was einen prozentualen Wert von 22,5% ergibt. In 27 Fällen lag dieselbe Tendenz vor (67,5%), wobei 22mal beide Werte erhöht (55%) und fünfmal beide erniedrigt waren (12,5%). Ein alleiniger AP-Anstieg bei PTX3-Werten unterhalb von 2,0 ng/ml trat viermal auf (10%). In Abbildung 19 kann man erkennen, dass die PTX3-Abweichungen vom Normwert deutlich stärker hervortreten als die entsprechenden AP-Abweichungen. Statistisch konnte mit Hilfe des t-Tests zwischen PTX3 und AP eine hochsignifikante Differenz von $p = 0{,}0003$ festgestellt werden. GIANNINI et al. (2005) nannten Knochen- und Lebererkrankungen als Hauptursachen eines pathologischen AP-Niveaus, wiesen aber darauf hin, dass das Ausmaß des AP-Anstiegs keine spezifische diagnostische Relevanz besitzt.

In dem Vergleich zwischen PTX3 und GGT wurden 38 Werte von neun Patienten betrachtet. In 28 Fällen korrelierten die PTX3-Messungen mit denen von GGT (73,68%), dabei waren 24mal beide Werte erhöht und viermal beide erniedrigt. Viermal waren allein die GGT-Werte (10,52%), sechsmal nur die PTX3-Werte (15,79%) oberhalb der Norm anzutreffen. Bei der statistischen Analyse ergab sich im t-Test mit $p = 0{,}049$ eine noch signifikante Abweichung zwischen beiden Parametern bei einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0{,}05$.

Der Mittelwert aller prozentualen Abweichungen von der Norm befand sich bei PTX3 mit 217,23 % hochsignifikant oberhalb der entsprechenden Mittelwerte von CRP, AST, ALT und AP. In der Gegenüberstellung mit den GGT-Messungen war ein weniger deutlicher, aber immer noch signifikanter Unterschied zu erkennen. Der Abfall der CRP-Werte unter die 100%-Schwelle ließ sich dadurch erklären, dass sich viele Resultate der CRP-Messungen unterhalb der Obergrenze des Normbereichs von 8 mg/l befanden.

Aus diesen Ergebnissen kann man zusammenfassend ableiten, dass die erhöhten PTX3-Werte gegenüber den anderen verglichenen Parametern insgesamt eine deutlich stärkere Aussagekraft aufweisen. Darin besteht eine Übereinstimmung mit den Studien von MANTOVANI et al. (2008) sowie DEBAN et al. (2010a), in denen PTX3 als ein geeigneter Biomarker genannt wurde. Als Vorteil gegenüber CRP wurde die Geschwindigkeit des Anstiegs und die

Korrelation zur Schwere des Krankheitsbildes angesehen, die auch LATINI et al. (2004) festgestellt hatten. Dies lässt den Schluss zu, dass dem PTX3 in seiner Funktion als klinisch-diagnostischer Parameter bei der Diagnose von Lebererkrankungen eine effektive und verlässliche Rolle zugeschrieben werden kann.

5 Zusammenfassung

Die Aufgabe dieser Arbeit war es, den Serumspiegel von Pentraxin-3-Werten im Blutplasma bei Lebererkrankungen zu bestimmen und mit anderen diagnostischen Parametern zu vergleichen. Vorausgegangene Studien hatten bereits darauf hingewiesen, dass PTX3-Werte als früh verfügbare und aussagekräftige Marker bei Entzündungskrankheiten in verschiedenen Organen hilfreich sein können.

Pentraxin-3 ist ein löslicher Rezeptor, der der Pentraxin-Familie angehört und einen Bestandteil des angeborenen Immunsystems darstellt. Der Normwert liegt bei 2,0 ng/ml. Im Rahmen von Entzündungen steigt die Konzentration im Serum jedoch rasch an.

YONEDA et al. (2008) stellten bei Patienten mit Steatohepatitis höhere PTX3-Serumspiegel als bei Patienten mit Steatosis hepatis fest. In dieser retrospektiven Analyse wurden nun zwei Patientenkollektive miteinander verglichen. Es wurden von 25 Patienten ohne Lebertransplantation und von 39 Patienten nach Lebertransplantation die PTX3-Werte mit Hilfe des „Quantikine® Human Pentraxin 3/TSG-14 Immunoassay“ gemessen. Die Werte der Patienten nach Lebertransplantation wurden noch unterteilt in die Zeiträume drei oder mehr Monate sowie fünf oder mehr Monate nach der Transplantation.

Die statistische Prüfung erfolgte mit Hilfe des t-Tests. Das Patientenkollektiv mit Lebererkrankungen wies hochsignifikante Steigerungen des PTX3-Wertes gegenüber dem Normwert auf. Das jeweilige Patientenalter sowie das Geschlecht der untersuchten Personen besaßen nur einen geringfügigen Einfluss auf die PTX3-Konzentration. Bei Patienten mit Lebertransplantation hatten sich die PTX3-Werte nach drei oder mehr Monaten weitgehend normalisiert, weitere Messungen nach fünf oder mehr Monaten bestätigten diese Tendenz, die geringfügige Differenz zum Normwert war nicht mehr statistisch signifikant.

Die PTX3-Messwerte der an Lebererkrankungen leidenden Patienten wurden zudem mit anderen klinisch-diagnostischen Parametern verglichen. Im Vergleich mit CRP, ALT, AST, AP und GGT zeigte die statistische Analyse signifikante und hochsignifikante Unterschiede mit stärkeren Erhöhungen der PTX3-Werte. Daraus lässt sich ableiten, dass PTX3 eine zuverlässige Rolle bei der klinischen Diagnose von Lebererkrankungen einnehmen kann.

6 Anhang

6.1 Patienteninformation und Patienteneinwilligung

Patienteninformation für Patienten mit Lebererkrankungen

Titel der Studie:
„Bestimmung von Pentraxin-3 im Blutserum und dessen Bedeutung für Lebererkrankungen“

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

wir bitten Sie an einer wissenschaftlichen Untersuchung teilzunehmen. Dabei soll die Bedeutung und Wirkung von Pentraxin-3 (PTX3) im Hinblick auf Lebererkrankungen untersucht werden. Bei PTX3 handelt es sich um einen im Blut vorkommenden Rezeptor, der eine wichtige Rolle innerhalb des Immunsystems einnimmt. Verschiedene Studien befassten sich bereits mit der diagnostischen Bedeutung von PTX3 hinsichtlich verschiedener Krankheiten. In dieser Untersuchung soll auf den klinischen Nutzen, den PTX3 bei Lebererkrankungen einnehmen kann, näher eingegangen werden.

Von Ihnen würden wir dafür eine Blutprobe benötigen, die im Rahmen von Routinekontrollen ohnehin erfolgt.

1. Was passiert mit meinem Blut?
Aus Ihrem Blutplasma wird durch ein immunologisches Nachweisverfahren der Pentraxin-3-Gehalt ermittelt.

2. Welches Risiko besteht für mich?
Durch die Teilnahme an dieser wissenschaftlichen Untersuchung besteht für Sie kein zusätzliches Risiko, da die Blutentnahmen im Rahmen der Routinekontrollen erfolgen. Es entsteht für Sie auch kein weiterer Aufwand, eine zusätzliche Blutentnahme ist nicht notwendig.

3. Welchen Nutzen habe ich von der Untersuchung?
Die wissenschaftliche Untersuchung ist für Sie zwar ohne direkten Eigennutzen, sie wird sich aber hoffentlich zukünftig als hilfreich für die Therapie von Patienten mit Lebererkrankungen erweisen.

4. Wie sieht es mit dem Datenschutz aus?
Die rechtlichen Bestimmungen des Datenschutzes werden selbstverständlich eingehalten. Eine Weitergabe Ihrer Daten an Dritte erfolgt nicht. Ihre Daten werden in pseudonymisierter Form bearbeitet, d.h. sie werden verschlüsselt und ohne Namensnennung nur mit Nummern codiert. Die Zuordnung der Daten zu einer Person ist nur möglich, wenn hierfür der Schlüssel eingesetzt wird, mit dem die Daten pseudonymisiert wurden. Die personenbezogenen Daten werden unter besonderen Schutzvorkehrungen getrennt von den pseudonymisierten Daten aufbewahrt, eine Entschlüsselung ist nur durch die

verantwortlichen Studienärzte möglich. Nach Beendigung des Forschungsvorhabens werden alle personenbezogenen Daten gelöscht.

5. Kann ich meine Teilnahme an dieser Untersuchung vorzeitig beenden?
Ihre Teilnahme an dieser wissenschaftlichen Untersuchung ist freiwillig. Sie werden nur in diese Untersuchung einbezogen, wenn Sie dazu schriftlich ihre Einwilligung erklären. Diese Einwilligung können Sie jederzeit widerrufen. Ihre bis dahin erhobenen pseudonymisierten, personenbezogene Daten und die gewonnenen Blutproben werden dann unverzüglich vernichtet. Sofern Sie nicht an dieser Untersuchung teilnehmen oder später ausscheiden möchten, erwachsen Ihnen daraus keine Nachteile.

Patienteneinwilligung für Patienten mit Lebererkrankungen

Titel der Studie:
„Bestimmung von Pentraxin-3 im Blutserum und dessen Bedeutung für Lebererkrankungen“

Ich, ……. (Name des Probanden/in),
wurde von ……. (Name des Arztes) vollständig über Wesen, Bedeutung und Tragweite der wissenschaftlichen Untersuchung aufgeklärt. Ich habe den Aufklärungstext gelesen und verstanden. Ich hatte die Möglichkeit Fragen zu stellen, habe die Antworten verstanden und akzeptiere sie. Ich hatte ausreichend Zeit, mich zur Teilnahme an dieser Studie zu entscheiden und weiß, dass die Teilnahme freiwillig ist.

Ihre personenbezogenen Daten werden pseudonymisiert gespeichert und verarbeitet. Zum Schutz Ihrer personenbezogenen Daten werden mit Beginn der Studie – unter strikter Beachtung der Regeln des Datenschutzgesetzes – organisatorische Maßnahmen getroffen, die eine unbefugte Weitergabe an Dritte verhindern. Die personenbezogenen Daten werden sicher aufbewahrt und dürfen nur von den Studienverantwortlichen eingesehen werden. Die Datenspeicherungszeit beträgt 5 Jahre, die Blutproben werden ebenfalls 5 Jahre aufbewahrt und danach vernichtet.

Ich weiß, dass ich bei Widerruf zur Studienteilnahme die Löschung meiner personenbezogenen Daten verlangen kann. Es erfolgt keine Weitergabe der personenbezogenen Daten an Dritte.

Ich habe eine Kopie der Patienteninformation und der Einwilligung erhalten. Ich erkläre hiermit die freiwillige Teilnahme an dieser Studie. Ich weiß, dass ich dennoch jederzeit zurücktreten kann, ohne dass mir daraus Nachteile entstehen.

_____

Ort und Datum Unterschrift Patient

_____

Ort und Datum Unterschrift Arzt

6.2 Tabellen

Tab. 1: Mittelwerte der 56 Messungen drei oder mehr Monate nach Lebertransplantation an 17 Patienten ≥ 59 Jahre

	PTX3 [ng/ml]	Alter
MW	3,04	67,80
STABW	2,82	5,19

Tab. 2: Mittelwerte der 56 Messungen drei oder mehr Monate nach Lebertransplantation an 12 Patienten ≤ 50 Jahre

	PTX3 [ng/ml]	Alter
MW	1,39	41,68
STABW	0,99	5,10

Tab. 3: Mittelwerte der 36 Messungen fünf oder mehr Monate nach Lebertransplantation an 13 Patienten ≥ 61 Jahre

	PTX3 [ng/ml]	Alter
MW	2,55	69,17
STABW	1,61	3,19

Tab. 4: Mittelwerte der 36 Messungen fünf oder mehr Monate nach Lebertransplantation an 15 Patienten ≤ 52 Jahre

	PTX3 [ng/ml]	Alter
MW	1,28	44,5
STABW	0,86	5,12

Tab. 5: Mittelwert der 42 Messungen an 12 Frauen drei oder mehr Monate nach Lebertransplantation

	PTX3 [ng/ml]
MW	2,62
STABW	2,71

Tab. 6: Mittelwert der 42 Messungen an 17 Männern drei oder mehr Monate nach Lebertransplantation

	PTX3 [ng/ml]
MW	2,31
STABW	1,59

Tab. 7: Mittelwert der 22 Messungen an 11 Frauen fünf oder mehr Monate nach Lebertransplantation

	PTX3 [ng/ml]
MW	2,37
STABW	1,74

Tab. 8: Mittelwert der 22 Messungen an 14 Männern fünf oder mehr Monate nach Lebertransplantation

	PTX3 [ng/ml]
MW	2,15
STABW	1,38

Tab. 9: PTX3-Mittelwerte der drei Patientenkollektive und statistische Signifikanzberechnung im Vergleich zum PTX3-Normwert [2 ng/ml]

Patientenkollektiv	PTX3-MW [ng/ml]	STABW	Statistische Signifikanzberechnung
Pat. ohne LTX	8,15	6,45	$p < 0,001$
Pat. ≥ 3 Monate nach LTX	2,41	2,17	$p = 0,02435$
Pat. ≥ 5 Monate nach LTX	2,19	1,51	$p = 0,21520$

Tab. 10: Mittelwerte der prozentualen Abweichungen vom jeweiligen Normwert bei den verschiedenen klinisch-diagnostischen Parametern

PTX3 [%]	CRP [%]	AST [%]	ALT [%]	AP [%]	GGT [%]
217,23	82,04	137,15	107,59	120,03	172,61

Tab. 11: Statistische Signifikanzberechnung im Vergleich der prozentualen Abweichungen von PTX3 zu den anderen Parametern

CRP	AST	ALT	AP	GGT
$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p = 0,04944$

7 Literaturverzeichnis

Abderrahim-Ferkuone A, Bezy O, Chiellini C, Maffei M, Grimaldi P, Bonino F, Moustaid-Moussa N, Pasqualini F, Mantovani A, Ailhaud G et al. (2003): Characterization of the long pentraxin PTX3 as a TNF-alpha-induced secreted protein of adipose cells. J Lipid Res 44, 994-1000

Alles VV, Bottazzi B, Peri G, Golay J, Introna M, Mantovani A (1994): Inducible expression of PTX3, a new member of the pentraxin family, in human mononuclear phagocytes. Blood, 84, 3483 – 3493

Bevelacqua V, Libra M, Mazzarino MC, Gangeni P, Nicotra G, Curatolo S, Massimino D, Plumari A, Merito P, Valente G et al. (2006): Long pentraxin 3: a marker of inflammation in untreated psoriatic patients. Int J Mol Med 18,3, 415-423

Biagi E, Col M, Migliavacca M, Dell'Oro M, Silvestri D, Montanelli A, Peri G, Mantovani A, Biondi A, Rossi MR (2008): PTX3 as a potential novel tool for the diagnosis and monitoring of pulmonary fungal infections in immuno-compromised padiatric patients. J Pediatr Hematol Oncol 30, 881-885

Bosutti A, Grassi G, Zanetti M, Aleksova A, Zecchin M, Sinagra G, Biolo G, Guarnieri G: Relation between the plasma levels of LDL-cholesterol and the expression of the early marker of inflammation long pentraxin PTX3 and the stress reponse gene p66 (ShcA) in pacemaker-implanted patients; in: Clinical and Experimental Medicine, Ausgabe 4; Springer Verlag, Heidelberg 2007, 16-23

Bottazzi B, Garlanda C, Cotena A, Moalli F, Jaillon S, Deban L, Mantovani A (2009): The long pentraxin PTX3 as a prototypic humoral pattern recognition receptor: interplay with cellular innate immunity. Immunol Rev 227, 9-18

Bozza S, Bistoni F, Gaziano R, Pitzurra L, Zelante T, Bonifazi P, Perruccio K, Bellocchio S, Neri M, Iorio AM et al. (2006): Pentraxin 3 protects from MCMV infection and reactivation through TLR sensing pathways leading to IRF3 activation. Blood 108, 3387-3396

Breviario F, d'Aniello EM, Golay J, Peri G, Bottazzi B, Bairoch A, Saccone S, Marzella R, Predazzi V, Rocchi M (1992): Interleukin-1-inducible genes in endothelial cells. Cloning of a new gene related to C-reactive protein and serum amyloid P component. J Biol Chem 267, 22190-22197

Chen CH, Huang MH, Yang JC, Nien CK, Yang CC, Yeh YH, Yueh SK (2007): Prevalence and etiology of elevated serum alanine aminotransferase level in an adult population in Taiwan. J Gastroenterol Hepatol 22, 9, 1482-1489

Clark JM, Brancati FL, Diehl AM (2003): The prevalence and etiology of elavated aminotransferase levels in the United States. Am J Gastroenterol 98, 5, 960-967

Cornberg M, Manns MP, Protzer U: Leber; in: Klinische Infektiologie – Infektions-krankheiten erkennen und behandeln; hrsg. v. Marre R, Mertens T, Trautmann M, Zimmerli W; Urban & Fischer Verlag, München 2008, 481

Deban L, Jaillon S, Garlanda C, Bottazzi B, Mantovani A (2010a): Pentraxins in innate immunity: lessons from PTX3. Cell Tissue Res, DOI 10.1007/s00441-010-1018-0 (Published online)

Deban L, Russo RC, Sironi M, Moalli F, Scanziani M, Zambelli V, Cuccovillo I, Bastone A, Gobbi M, Valentino S et al. (2010b): Regulation of leukocyte recruitment by the long pentraxin PTX3: Nat Immunol 11, 4, 328-334

Diniz SN, Nomizo R, Cisalpino PS, Teixeira MM, Brown GD, Mantovani A, Gordon S, Reis LF, Dias AA (2004): PTX3 function as an opsonin for the dectin-1-dependent internalization of zymosan by macrophages. J Leukoc Biol 75, 649-656

Doni A, Peri G, Chieppa M, Allavena P, Pasqualini F, Vago L, Romani L, Garlanda C, Mantovani A (2003): Production of the soluble pattern recognition receptor PTX3 by myeolid, but not plasmacytoid, dendritic cells. Eur J Immunol 33, 2886-2893

Doni A, Mantovani G, Porta C, Tuckermann J, Reichardt HM, Kleiman A, Sironi M, Rubino L, Pasqualini F, Nebuloni M et al. (2008): Cell-specific regulation of PTX3 by glucocorticoid hormones in hematopoietic and nonhematopoetic cells. J Biol Chem 267, 29983-29992

Dos Santos CC, Han B, Andrade CF, Bai X, Uhlig S, Hubmayr R, Tsang M, Lodyga M, Keshavjee S, Slutsky AS et al. (2004): DNA microarray analysis of gene expression in alveolar epithelial cells in response to TNFalpha, LPS, and cyclic stretch. Physiol Genomics 19, 3, 331-342

Elke B, Battegay E, Müllhaupt B: Transaminasen-Erhöhung – Differentialdiagnose und Abklärung; in: Praxis, Band 97; Verlag Hans Huber, Hogrefe AG, Bern 2008, 587-596

Fazzini F, Peri G, Doni A, Dell'Antonio G, Dal Cin E, Bozzolo E, D'Auria F, Praderio L, Ciboddo G, Sabbadini MG et al. (2001): PTX3 in small-vessel vasculitides: an independent indicator of disease activity produced at sites of inflammation. Arthritis Rheum 44, 2841-50

Fukui H (2005): Relation of endotoxin, endotoxin binding proteins and macrophages to severe alcoholic liver injury and multiple organ failure. Alcohol Clin Exp Res 29, 172S-179S

Gabriel HHW, Müller HJ, Kindermann W (2000): Die Akute-Phase-Reaktion; in: Dtsch Z Sportmed 51, 1, 31

Garlanda C, Hirsch E, Bozza S, Salustri A, De Acetis M, Nota R, Maccagno A, Riva F, Bottazzi B, Peri G et al. (2002): Non-redundant role of the long pentraxin PTX3 in anti-fungal innate immune response. Nature 420, 182-186

Giannini GG, Testa R, Savarino V (2005): Liver enzyme alteration: a guide for clinicans. CMAJ 172, 3, 367-379

Goodman AR, Levy DE, Reis LF, Vilcek J (2000): Differential regulation of TSG-14 expression in murine fibroblasts and peritoneal macrophages. J Leukoc Biol 67, 387-395

Han B, Mura M, Andrade CF, Okutani D, Lodyga M, dos Santos CC, Keshavjee S, Matthay M, Liu M (2005): TNFα-Induced long pentraxin PTX3-expression in human lung epithelial cells via JNK. J Immunol 175, 8303 – 8311

Hsu YC, Perin MS (1995): Human neuronal pentraxin II (NPTX2): conservation, genomic structure, and chromosomal localization. Genomics 28, 220-227

Inforzato A, Peri G, Doni A, Garlanda C, Mantovani A, Bastone A, Capentieri A, Amoresano A, Pucci P, Roos A et al. (2006): Structure and function of the long pentraxin PTX3 glycosidic moiety: fine-tuning of the interaction with C1q and complement activation. Biochemistry 45, 11540-11551

Inoue K, Sugiyama A, Reid P, Ito Y, Miyauchi K, Mukai S, Sagara M, Miyamoto K, Satoh H, Kohno I et al. (2007): Establishment of a high sensivity plasma assay for human pentraxin3 as a marker for unstable angina pectoris. Arterioscler Thromb Vasc Biol 27, 161-167

Introna M, Alles VV, Castellanao M, Picardi G, De Gioia L, Bottazzi B, Peri G, Breviario F, Salmona M, De Gregorio L et al. (1996): Cloning of mouse ptx3, a new member of the pentraxin gene family expressed at extrahepatic sites. Blood 87, 1862-1872

Jaillon S, Peri G, Delneste Y, Frémaux I, Doni A, Moalli F, Garlanda C, Romani L, Gascan H, Bellocchio S et al. (2007): The humoral pattern recognition receptor PTX3 is stored in neutrophil granules and localizes in extracellular traps. J Exp Med 204, 793-804

Jeannin P, Bottazzi B, Sironi M, Doni A, Rusnati M, Presta M, Maina V, Magistrelli G, Haeuw JF, Hoeffel G et al. (2005): Complexity and complementarity of outer membrane protein A recognition by cellular and humoral innate immunity receptors. Immunity 22, 551-560

Kato S, Ochiai M, Sakurada T, Ohno S, Miyamoto K, Sagara M, Ito M, Takeuchi K, Imaki J, Itoh K et al. (2008): Increased expression of long pentraxin PTX3 in inflammatory bowel diseases. Dig Dis Sci 53, 1910-1916

Klouche M, Brockmeyer N, Knabbe C, Rose-John S (2002): Human herpesvirus 8-derived viral IL-6 induces PTX3 expression in Kaposi's sarcoma cells. AIDS 16, F9-18

Klouche M, Peri G, Knabbe C, Eckstein HH, Schmid FX, Schmitz G, Mantovani A (2004): Modified atherogenic lipoproteins induce expression of pentraxin-3 by human vascular smooth muscle cells. Atherosclerosis 175, 221-228

Kramer F: Molekulare Mechanismen der Akute Phase Reaktion: Transkriptionelle Regulation des C-reaktiven Proteins. Med. Diss. Frankfurt am Main 2006

Latini R, Maggioni AP, Peri G, Gonzini L, Lucci D, Mocarelli P, Vago L, Pasqualini F, Signorini S, Soldateschi D et al. (2004): Prognostic significance of the long pentraxin PTX3 in acute myocardial infarcation. Circulation 110, 2349-2354

Lee GW, Goodman AR, Lee TH, Vilcek J (1994): Relationship of TSG-14 protein to the pentraxin family of major acute phase proteins. J Immunol 153, 3700-3707

Lee TH, Lee GW, Ziff EB, Vilcek J (1990): Isolation and characterization of eight tumor necrosis factor-induced gene sequences from human fibroblasts. Mol Cell Biol 10, 1982-1988

Luchetti MM, Piccinini G, Mantovani A, Peri G, Matteucci C, Pomponio G, Fratini M, Fraticelli P, Sambo P, Di Loreto C et al. (2000): Expression and production of the long pentraxin PTX3 in rheumatoid arthritis (RA). Clin Exp Immunol 119, 196-202

Malaguarnera L, Pilastro MR, Vicari L, Di Marco R, Malaguarnera M, Messina A (2000): PTX3 gene expression in Castleman's disease. Eur J Haematol 64, 132-134

Manns MP, Hadem J, Caselitz M: Leber und intrahepatische Gallenwege; in: Innere Medizin; hrsg. v. Greten H; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2005, 804

Mantovani A, Garlanda C, Doni A, Bottazzi B (2008): Pentraxins in innate immunity: From C-reactive protein to the long pentraxin PTX3. J Clin Immunol 28, 1-13

Martinez de la Torre Y, Fabbri M, Jaillon S, Bastone A, Nebuloni M, Vecchi A, Mantovani A, Garlanda C (2010): Evolution of the pentraxin family: the new entry PTX4. J Immunol 184, 5055-5064

McEver RP (2010): Rolling back neutrophil adhesion. Nat Immunol 11, 4, 282-284

Moshage H (1997): Cytokines and the hepatic acute phase response. J Pathol 181 (3), 257-266

Nascimento MM, Bruchfeld A, Suliman ME, Hayashi SY, Pecoits-Filho R, Manfro RC, Pachaly MA, Renner L, Stenvinkel P, Riella MC et al. (2005): Effect of hepatitis C serology on C-reactive protein in a cohort of Brazilian hemodialysis patients. Braz J Med Biol Res 38, 5, 783-788

Nauta AJ, Bottazzi B, Mantovani A, Salvatori G, Kishore U, Schwaeble WJ, Gingras AR, Tzima S, Vivanco F, Egido J et al. (2003): Biochemical and functional characterization of the interaction between pentraxin 3 and C1Q. Eur J Immunol 33, 465-473

Nauta AJ, De Haij S, Bottazzi B, Mantovani A, Borrias MC, Aten J, Rastaldi MP, Daha MR, Van Kooten C, Roos A (2005): Human renal epithelial cells produce the long pentraxin PTX3. Kidney Int 67, 543-553

Neuhaus P, Pfitzmann R: Aktuelle Aspekte der Lebertransplantation. 2. Auflage, Uni-Med-Verlag, Bremen 2005

Nolan JP (1981): Endotoxin, reticuloendothelial function and liver injury. Hepatology 1, 458-465

Nolan JP (2010): The Role of Intestinal Endoxin in Liver Injury: A long and Evolving History. Hepatology 52, 5, 1829-1835

Omeis IA, Hsu YC, Perin MS (1996): Mouse and human neuronal pentraxin 1 (NPTX1): conservation, genomic structure, and chromosomal localization. Genomics 36, 543-545

Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL et al. (2003): Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. Circulation 107, 499-511

Pepys MB, Hirschfield GM (2003): C-reactive protein: a critical update. J Clin Invest 111, 1805-1812

Peri G, Introna M, Corradi D, Iacuitti G, Signorini S, Avanzini F, Pizzetti F, Maggioni AP, Moccetti T, Metra M et al. (2000): PTX3, a prototypical long pentraxin, is an early indicator of acute myocardial infarction in humans. Circulation 102, 636-641

Perrier P, Martinez FO, Locati M, Bianchi G, Nebuloni M, Vago G, Bazzoni F, Sozzani S, Allavena P, Mantovani A (2004): Distinct transcriptional programs activated by interleukin-10 with or without lipopolysaccharide in dentritic cells: induction of the B cell-activating chemokine, CXC chemokine ligand 13. J Immunol 172, 7031-7042

Polentarutti N, Picardi G, Basile A, Cenzuales S, Rivolta A, Motteucci C, Peri G, Mantovani A, Introna M (1998): Interferon γ inhibits the expression of the long pentraxin PTX 3 in human monocytes. Eur J Immunol 28, 496-501

Quantikine® Human Pentraxin3/TSG-14 Immunoassay. Catalog Number DPTX30. 2009 R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN 55413, United States of America

Ramadori G, Christ B (1999): Cytokines and the hepatic acute-phase response. Semin Liver Dis 19, 2, 141-155

Ramadori G, Zöhrens G, Manns M, Rieder H, Dienes HP, Hess G, Meyer zum Büschenfelde K-H (1991): Serum hyaluronate and type III procollagen aminoterminal propeptide concentration in chronic liver disease. Relationship to cirrhosis and disease activity. Eur J Clin Invest 21, 3, 323-330

Rebelo SL, Amel-Kashipaz MR, Radford PM, Bainbridge SE, Fiets R, Fang J, Mc Dermott EM, Powell RJ, Todd I, Tighe PJ (2009): Novel markers of inflammation identified in tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome (TRAPS) by transcriptomic analysis of effects of TRAPS-associated tumor necrosis factor receptor type 1 mutations in an endothelial cell line. Arthritis Rheum 60, 1, 269-280

Reiser M: Erkrankungen der Leber; in: Innere Medizin; hrsg. v. Böhm M, Hallek M, Schmiegel W; Urban & Fischer Verlag, München 2009, 946

Rovere P, Peri G, Fazzini F, Bottazzi B, Doni A, Bondanza A, Zimmermann VS, Garlanda C, Fascio U, Sabbadini MG et al. (2000): The long pentraxin PTX 3 binds to apoptotic cells and regulates their clearance by antigen-presenting dendritic cells. Blood 96, 4300-4306

Salustri A, Garlanda C, Hirsch E, De Acetis M, Maccagno A, Bottazzi B, Doni A, Bastone A, Mantovani G, Beck Peccoz P et al. (2004): PTX3 plays a key role in the organization of the cumulus oophorus extracellular matrix and in vivo fertilization. Development 131, 1577-1586

Skelly MM, James PD, Ryder SD (2001): Findings on liver biopsy to investigate abnormal liver function tests in the absence of diagnostic serology. J Hepatol 35, 2, 195-199

Sprong T, Peri G, Neeleman C, Mantovani A, Signorini S, van der Meer JWM, van Deuren M (2009): Pentraxin 3 and C-reactive protein in severe meningococcal disease. Shock 31, 28-32

Szalai AJ, Agerawal A, Greenhough TJ, Volonakis JE (1999): C-Reactive Protein: Structural Biology and Host Defense Function. Clin Chem Lab Med 37, 3, 265 - 270.

Takeuchi O, Akira S (2010): Pattern recognition receptors and inflammation. Cell 140, 6, 805-820

Varani S, Elvin JA, Yan C, Demayo J, Demayo FJ, Horton HF, Byrne MC, Matzuk MM (2002): Knockout of pentraxin 3, a downstream target of growth differentiation factor-9, causes female subfertility. Mol Endocrinol 16, 1154-1167

Wagner H, van Husen N: Innere Medizin für Zahnmediziner. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1997

Wellhoener P, Preuss R, Brüning A: Leber, Galle, Pankreas; in: Basislehrbuch Innere Medizin; hrsg. v. Renz-Polster H, Krantzig S; Urban & Fischer Verlag, München 2008, 710

Yamasaki K, Kurimura M, Kasai T, Sagara M, Kodama T, Inoue K (2009): Determination of physiological plasma pentraxin 3 (PTX3) levels in healthy populations. Clin Chem Lab Med 47, 471-477

Yoneda M, Uchiyama T, Kato S, Endo H, Fujita K, Yoneda K, Mawatari H, Iida H, Takahashi H, Kirikoshi H et al. (2008): Plasma pentraxin 3 is a novel marker for nonalcoholic steatohepatitis (NASH). BMC Gastroenterol 8, 53

Zöhrens G, Armbrust T, Pirzer U, Meyer zum Büschenfelde K-H, Ramadori G (1993): Intercellular Adhesion Molecule-1 Concentration in Sera of Patients with Acute and Chronic Liver Disease: Relationship to Disease Activity and Cirrhosis. Hepatology 18, 4, 798-802

Zöhrens G, Armbrust T, Meyer zum Büschenfelde K-H, Ramadori G (1994): Interferon-α2a Increases Serum Concentration of Hyaluronic Acid and Type III Procollagen Aminoterminal Propeptide in Patients with Chronic Hepatitis B Virus Infection. Dig Dis Sci 39, 9, 2007-2013

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. Giuliano Ramadori danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas sowie für die Unterstützung bei der Durchführung und der Vollendung der vorliegenden Arbeit.

Herrn Dr. Ahmad Amanzada sei ein herzlicher Dank für die konstruktive Kritik und Unterstützung bei der Fertigstellung der Arbeit ausgesprochen.

Mein besonderer Dank gilt gleichfalls der MTA Frau Renate Klages aus der Abteilung Gastroenterologie und Endokrinologie der Universität Göttingen für die freundliche Hilfe bei der Ermittlung der Pentraxin-3-Messwerte.

Lebenslauf

Am 18. Januar 1986 wurde ich als Sohn von Irmtraut Göbel und Dr. Gerhard Göbel in Wolfhagen / Kreis Kassel geboren.

Von 1992 bis 1996 absolvierte ich meine Grundschulausbildung an der Mittelpunktschule in Schauenburg-Breitenbach und besuchte anschließend von 1996 bis 2005 die Georg-Christoph-Lichtenberg-Schule in Kassel. Dort erlangte ich im Sommer 2005 das „Zeugnis der Allgemeinen Hochschulreife“.

Im Wintersemester 2005 begann ich das Studium der Zahnheilkunde an der Georg-August-Universität Göttingen, wo ich im April 2008 die zahnärztliche Vorprüfung bestand. Ich beabsichtige, im Dezember 2011 hier das Staatsexamen abzulegen.