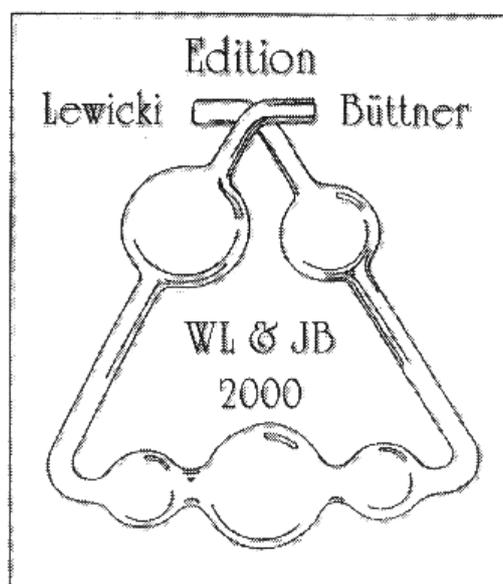


**Die Geschichte des Laboratoriums der 1. Medizinischen
Klinik der Universität Kiel**

Edition Lewicki-Büttner. Band 3
Johannes Büttner Editor

Johannes Büttner und Hans-Dietrich Bruhn
Chemisches Denken in der Medizin.
Die Geschichte des Laboratoriums der 1. Medizinischen
Klinik der Universität Kiel. Band 2



**Chemisches Denken in der Medizin
Die Geschichte des Laboratoriums der
1. Medizinischen Klinik der Universität Kiel**

Band 2

von

Hans Dietrich Bruhn

**Verlag Traugott Bautz, GmbH, Nordhausen
2009**

Bibliographische Information Der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliographische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

Verlag Traugott Bautz GmbH 99734 Nordhausen 2009
ISBN 978-3-88309-472-4

Inhalt

I. Medizinischen Universitätsklinik Kiel	1
Vorwort	1
Klinische Chemie gestern und heute H. Keller	7
50 Jahre Klinische Chemie miterlebt	7
Historische Vorbemerkungen	7
Photometrie	8
Industriell gefertigte Reagenzien	10
Automation Teil I	11
Mikrolitertechniken	12
Immunoassays Teil I	13
Automation Teil II	14
Immunoassays Teil II	14
Monoklonale Antikörper	17
Polymerasekettenreaktion (PCR)	17
Synopsis und Schlussfolgerungen	18
Literatur	18
Allgemeine Entwicklungen der Labordiagnostik an der I. Medizinischen Universitätsklinik Kiel H. D. Bruhn	20
Arnold Bernsmeier	43
Internistische laboranalytische Spezialdiagnostik zur Zeit von Arnold Bernsmeier	43
Ulrich Gottstein und Klaus Held:	49
Analytik der zerebralen Durchblutung.	49
Jochen Schaefer und Hans-Joachim Schwarzkopf:	52
Labordiagnostik im kardiologischen Bereich	52
Das Fettlabor an der I. Medizinischen Universitätsklinik Kiel:	56
Peter Jipp und Kurt Günther Ravens	56
Das Hormonlabor	60
Fred Hartmann und die Analyse der Nebennierenrindenhormone	60
Harald Lehmann und Max Schlaak	63
Zur Diagnostik der Hepatitis A, B und C sowie der Wegenerschen Granulomatose	63
Isoenzyme der alkalischen Phosphatase	67
Analyse der klinischen Bedeutung dieser Isoenzyme durch U. E. Klein	67
Wolfgang Gross: Schwerpunkt der Rheumatologie	69

Laborleitung nach Berufung von Johannes Büttner nach Hannover	70
Weitere Entwicklungen der Labormedizin an der I. Medizinischen Universitätsklinik Kiel	72
Leitung der Labormedizin von 1972 - 2006:	77
Hans Dietrich Bruhn	77
Hämostaseologie als klinische und labordiagnostische Aufgabe:	81
Edgar Ohnhaus, Nachfolger von Arnold Bernsmeier	90
Prof. Dr. Dr. Wilhelm Kirch: Schüler von Prof. Ohnhaus	93
Prof. Dr. H. Mönig: Endokrinologe und Schüler von Ohnhaus	96
Prof. Dr. Ulrich R. Fölsch schafft labordiagnostische Schwerpunkte für die Gastroenterologie	100
Stefan Schreiber und die Molekulargenetik	106
Frank Gieseler: Leiter des onkologischen Schwerpunktes	113
Jochen Hampe: Molekulargenetische Diagnostik	121
Susanna Nikolaus: Molekulargenetische Analysen betreffend den Morbus Crohn und die Colitis ulcerosa	124
Holger Hinrichsen und Rainer Günther als Leiter der Labordiagnostik der Abteilung Hepatologie	127
Alexander Arlt bearbeitet den wissenschaftlichen Schwerpunkt der Chemoresistenz beim Pankreaskarzinom (Abb. 43b).	131
Stephan Hellmig: Analytik betreffend den Helicobacter pylori	133
Leitende medizinisch-technische Assistentinnen	135
Aktuelle Personalsituation:	135
Bibliographie:	141
Legenden zu den Abbildungen:	178
Personen-Index	185
Sach-Index	187

Die Labordiagnostik seit 1962 an der I. Medizinischen Universitätsklinik Kiel

Vorwort

Der 1. Band zur Geschichte des Laboratoriums der I. Medizinischen Klinik der Universität Kiel widmete sich den Jahren 1915 - 1969, wobei zunächst die Jahre unter Alfred Schittenhelm (1915 - 1934) beschrieben wurden und dann das Laboratorium der Medizinischen Klinik unter Hanns Löhr geschildert wurde (1934 - 1941). Helmut Reinwein hatte eine Amtszeit in Kiel von 1942 - 1962. Im Jahre 1962 folgte Arnold Bernsmeier in der Klinikleitung und nahm die Verantwortung in den Jahren von 1962 - 1986 wahr.

Die Schwerpunkte des jetzt hier vorliegenden 2. Bandes zur Geschichte des Laboratoriums der I. Medizinischen Klinik der Universität Kiel betreffen zunächst einmal die "Bernsmeier-Ära" von 1962 - 1986. Es folgte die relativ kurze Klinikleitung durch Edgar Ohnhaus (1986 - 1988), bis dann 1990 Ulrich R. Fölsch die Leitung der Klinik übernahm und die Speziallaboratorien, vor allem im Ostflügel der Klinik, aufbaute mit vorwiegend gastroenterologischen Schwerpunkten, jedoch auch endokrinologischen, hämatologischen und hämostaseologischen Zielsetzungen. In diesem Zeitraum wurden auch die molekulargenetischen Laboratorien im 1. Stock und im 2. Stock des Ostflügels der I. Medizinischen Universitätsklinik Kiel unter Leitung von Stefan Schreiber völlig neu gestaltet und erreichten mit wesentlichen Forschungsergebnissen internationales Ansehen.

Von 1972 - 2006 hatte Hans Dietrich Bruhn das Zentrallabor zunächst an der I. Medizinischen Universitätsklinik Kiel in deren Ostflügel geleitet und dort schwerpunktmäßig die klinische Chemie ausschließlich für die I. Medizinische Universitätsklinik Kiel bearbeiten lassen. 1994 erfolgte dann eine zunehmende Zentralisierung der klinisch-chemischen Laboratorien im gesamten Universitätsklinikum Kiel: Die Routinelaboratorien der Labormedizin waren sowohl in der I. Medizinischen Universitätsklinik Kiel als auch in der Chirurgischen Universitätsklinik

Kiel, in der Universitäts-Frauenklinik Kiel sowie in der Orthopädie und Neurologie sowie in der Universitäts-Kinderklinik Kiel etabliert gewesen. Eine Zusammenlegung dieser sämtlichen Arbeitsbereiche begann 1998 und war dann im Jahr 2003 abgeschlossen. Das sogenannte Zentrallabor befand sich dann schwerpunktmäßig im Erdgeschoss der Chirurgischen Universitätsklinik Kiel. Aufgrund der statischen Probleme konnten im 1. und 2. Stock des Ostflügels der I. Medizinischen Universitätsklinik Kiel in den letzten Jahren nur Speziallaboratorien etabliert werden. Hans Dietrich Bruhn hatte die Zentralisierung der klinisch-chemischen Laboratorien des gesamten Universitätsklinikums Kiel seit 1994 wahrgenommen und war damit dem organisatorischen Auftrag des damaligen Verwaltungsdirektors Baxmann gefolgt, um auch eine signifikante Personaleinsparung im Bereich der klinischen Chemie zu erreichen.

Betreffend die I. Medizinische Universitätsklinik Kiel fanden folgende Veränderungen im Laufe der Zeit statt: 1968 wurde der Anbau einer Intensivstation (und einer Badeabteilung) im Hinterhof der Klinik bezogen. Diese Intensivstation war Prof. Bernsmeier bei den Berufungsverhandlungen 1961/62 zugesagt worden (Abb. 1). Prof. Bernsmeier lehnte 1968 einen Ruf nach München ab und bekam dafür einen Neubau an der jetzigen Schittenhelmstraße zugesagt, der 1974/75 fertiggestellt wurde. In diesem Neubau wurden die Abteilungen Kardiologie und Nephrologie schwerpunktmäßig untergebracht (Abb. 2). Im 1. Stock dieses Neubaus befand sich die Dialysestation (auch mit einem eigenen Laboratorium). Auch in der neuen Wachstation war ein eigenes Notfall-Laboratorium vorhanden. In späteren Jahren standen dort jedoch ausschließlich noch die Automaten zur Analyse des Säure-Basen-Haushalts.

Zur Einleitung dieses historisch orientierten Bandes soll ein Text von Herbert Keller (Abb. 3) vorangestellt werden, der sich der Entwicklung der klinischen Chemie in den letzten Jahrzehnten widmet. Herbert Keller war zunächst als habilitierter Oberarzt im Biochemischen Institut der Universität Kiel langjährig tätig, bevor er dann 1964 die Chefarztposition als leitender klinischer Chemiker im Zentrallabor des Katharinen-

Hospitals in Stuttgart erhielt. 1964/65 war auch Hans Dietrich Bruhn bei Herbert Keller in Stuttgart tätig und arbeitete dort auf dem Gebiet der klinischen Chemie. Die von Keller hervorgehobenen Gesichtspunkte der geschichtlichen Entwicklung der klinischen Chemie wurden im Lehrbuch der Labormedizin (Schattauer Verlag Stuttgart 1999) (herausgegeben von Bruhn und Fölsch) erstmals publiziert und werden hier nochmals wiedergegeben, da sie besonders kompetent die Entwicklung des Faches der klinischen Chemie in den letzten fünf Jahrzehnten charakterisieren. Herbert Keller (Abb. 3) hat diese Entwicklungen nicht nur unter historischen, sondern auch unter naturwissenschaftlichen Gesichtspunkten diskutiert.

Literatur:

J. Büttner und Hans D. Bruhn: Chemisches Denken in der Medizin. Die Geschichte des Laboratoriums der I. Medizinischen Klinik der Universität Kiel. Band 1. Verlag Traugott Bautz, Nordhausen (2007).

H. Keller: 50 Jahre klinische Chemie, miterlebt. In: Lehrbuch der Labormedizin (Hrsg.: H.D. Bruhn und U.R. Fölsch). Schattauer Verlag Stuttgart 1999, S. 1-7.



Abb. 1: Nach der Ernennung von Prof. Bernsmeier zum Klinikdirektor fertiggestellte Wachstation der I. Medizinischen Universitätsklinik Kiel, verbunden mit dem Haupthaus durch einen Verbindungsgang. Hinter der Wachstation das neu erbaute Gebäude (2003) der Knochenmarktransplantation.



Abb. 2a: Nach der Beseitigung der Bombenschäden neu erbauter Westflügel der I. Medizinischen Universitätsklinik Kiel.



Abb. 2b: Anbau des Dialyse- und Kardiologiezentrums an dem Westflügel der I. Medizinischen Universitätsklinik Kiel (fertiggestellt 1974/75).



Abb. 3: Prof. Herbert Keller (1994), der Verfasser des historischen Kapitels: 50 Jahre Klinische Chemie, miterlebt.

**Klinische Chemie gestern und heute
50 Jahre Klinische Chemie miterlebt
H. Keller**

Historische Vorbemerkungen

Die exponentielle Entwicklung der „klinischen Chemie“ im modernen Sinne beginnt erst nach dem 2. Weltkrieg. Dies ist schwer verständlich, wenn man weiß, daß schon 1808 Berzelius im „Roten“ des Blutes (Hämoglobin wurde erst 55 Jahre später von Hoppe-Seyler isoliert) einen Eisenanteil von 0,35 % fand, ein Wert, der erstaunlich gut mit dem heute ermittelten von 0,347 % übereinstimmt (Übers, bei Boschung 1980, Büttner 1987). Auch die 1850 von Schmidt (1953) gefundenen Mittelwerte für Natrium, Chlorid, Magnesium und Bicarbonat im Plasma vom Gesunden sind nahezu identisch mit den heutigen „Normalwerten“. Allerdings benötigte Schmidt für eine Analyse etwa 300 ml Blut. Man könnte vermuten, daß diese großen Volumina den klinischen Einsatz dieser Methoden verzögert hätten. Aber auch dies trifft nicht oder nur bedingt zu, denn Ivar Bang (1916) hat schon 1916 Mikromethoden beschrieben, bei denen für eine Bestimmung nur 100 bis 150 ml Blut erforderlich war.

Das wissenschaftliche Interesse war in der ersten Hälfte unseres Jahrhunderts offenbar auf andere Gebiete fokussiert: Morphologie, Bakteriologie und Serologie feierten ihre großen Triumphe. Dies wird auch von der Methodenauswahl in den damals weit verbreiteten „klinischen Untersuchungsmethoden“ (Sahli 1931) reflektiert: die Hämatologie nimmt darin 262 Seiten ein, die vielfältigen Untersuchungen des Harnes 225 Seiten, die „Chemie des Blutes“ dagegen nur 85 Seiten. Praktisch brauchbar, wenn auch sehr störanfällig, dürften dabei nur die Verfahren zur Bestimmung der Gesamtproteine, der Glucose, des Reststickstoffs und - mit Einschränkungen - der Harnsäure sein. Die empfohlenen Methoden zur Quantifizierung der Elektrolyte, Natrium, Kalium und Calcium mittels Fällung und anschließender Titration sind schwierig durchzuführen und ohne Zweifel sehr fehleranfällig.

Dagegen war die Entwicklung des modernen Mikroskops mit Ölimmersionsobjektiv und Kondensator an der Wende vom 19. zum 20. Jahrhundert bereits abgeschlossen (Rzeznik 1988). Die modernen Mikroskope sind komfortabler, bieten aber keine höhere optische Auflösung. Auch die Zählkammern zur Quantifizierung der Blutzellen wurden in der derzeitigen Form im gleichen Zeitraum konstruiert und die wichtigsten Färbeverfahren erarbeitet. Mit diesen Techniken werden seit 1922 bis heute weitgehend unverändert die hämatologischen Präparate ausgewertet.

Die technischen Schwierigkeiten chemischer Analytik einerseits und die Perfektion der mikroskopischen Techniken andererseits dürften wesentliche Gründe sein, warum chemische Untersuchungen des Blutes im Vergleich zu den mikroskopischen Verfahren das ärztliche Interesse relativ spät fanden.

Bis zu Beginn der 50er Jahre waren die wichtigsten analytischen Instrumente Waage, Bürette und Polarisator. Spektralphotometrie (Büttner 1984) und Flammenphotometrie (Alkemade und Herrmann 1960) spielten in der angewandten Analytik nur eine marginale Rolle, obwohl über beide Verfahren schon eine umfangreiche Literatur vorlag. Die bis heute wichtigsten Entwicklungen (nach subjektiver Einschätzung) sollen im Nachstehenden in historischer Reihenfolge kurz aufgezählt werden.

Photometrie

Im Herbst 1950 sah ich im Chemischen Institut der Universität Bonn erstmals ein „Beckman-Model DU“ (Carry und Beckman 1941). Es trug ein kleines Metallschild mit der Aufschrift „Dem Institut geschenkt im Geiste der Freundschaft vom amerikanischen Volke“. Ich hatte keine Vorstellung wofür dieses Instrument dienen könnte. Der Vorlesungsassistent, den ich fragte, wußte es auch nicht. Er verwies mich aber an einen Assistenten im Institut für Physiologische Chemie, Dr. Hans Ulrich Bergmeyer, der bearbeite „... mit einem ähnlichen Instrument Probleme der Fermentchemie...“.

Das geheimnisvolle Instrument hatte, wie mir Bergmeyer erklärte, einen Vorläufer in Warburgs Institut für Zellphysiologie in Berlin. Damit war

dort 1937 der sog. „optische Test“ (Negelein und Wulff 1937) entwickelt worden. Näheres findet sich bei Th. Bücher in einem Rückblick über seine Zeit in Warburgs Laboratorium (Bücher 1989):

„... im Herbst 1938 ... wurde ich der Arbeitsgruppe von Fritz Kubowitz zugeteilt, der gerade seine klassische Arbeit über die ‚Isolierung und Kristallisation eines Gärungsfermentes aus Tumoren‘ (Biochem Zschr 1942; 314: 94-117) begonnen hatte. Dafür war von ihm eine neue photometrische Anordnung entwickelt worden: eine Quecksilberlampe diente als Quelle für die Spektrallinie von 334 nm. Sie konnte mit Farbglassfiltern isoliert werden und ein photoelektrisches Element diente als Detektor. Mit dieser sehr einfachen Konstruktion entlastete er das große Spektralphotometer des Instituts von Routine-Untersuchungen ...“.

Nach Kriegsende setzte Bücher seine Untersuchungen am Hamburger Institut für physiologische Chemie fort. Schmerzlich vermißte er dort ein Photometer, wie er es in Warburgs Institut für seine Arbeiten zur Verfügung hatte. Eines Tages traf er auf Dr. Heinrich Netheler, der mit seiner Gruppe in einer Baracke der Universitätskliniken mechanische und elektronische Serviceleistungen anbot. Die Folgen dieses Treffens können den Erinnerungen von Dr. Netheler entnommen werden. Darin heißt es: „... Unsere weitere Arbeitsrichtung wurde durch einen Besuch von Dr. Bücher kurz nach der Währungsreform (1948) stark beeinflußt. Er wollte von uns zunächst eine Regeleinrichtung für die Konstanthaltung einer Quecksilberdampflampe gebaut haben. Der Auftrag für die Entwicklung dieser Regeleinrichtung steht unter dem Datum vom 21.7.1948 in unserem Auftragsbuch. Es wurde daraus das Photometer Eppendorf: Ein Jahr später, auf der Industriemesse in Hannover 1949, stellten wir den Prototyp der Gerätes aus...“.

In der ersten wissenschaftlichen Publikation über das „Photometer Eppendorf“ von Bücher und Mitarbeitern (Beisenherz et al. 1953) wird ausgeführt:

„... das verwendete Photometer wurde gemeinsam mit Netheler ursprünglich für den optischen Test konstruiert... die Isolierung von Linien aus dem Spektrum einer Metaldampflampe garantiert hohe Konstanz und Reproduzierbarkeit der Qualität der Meßstrahlung für analytische Arbeiten... durch die Wechselstromverstärkung können Messungen bei Tageslicht auf dem Arbeitsplatz vorgenommen werden ...“.

Im Deckel klebte als Abziehbild die Bedienungsanleitung und sie genügte tatsächlich, um mit diesem Instrument zuverlässige Messungen durchzuführen. Da auch der Preis dieses Instruments vergleichsweise niedrig war, fand es in den biochemischen und klinischen Laboratorien in Mitteleuropa in kurzer Zeit breite Akzeptanz. Besonders für die Enzymologie wurde es zum unentbehrlichen Werkzeug.

Industriell gefertigte Reagenzien

In seinem Rückblick von 1989 erwähnt Bücher eine sehr wichtige Tatsache, die heute für eine jüngere Generation von Biochemikern kaum noch vorstellbar ist: „... für meine Arbeiten bei Kubowitz wurde ein größerer Vorrat an ‚Dihydropyridinnucleotid‘ (DPN = NAD) benötigt. Diese sehr mühselige Aufgabe stellte sich damals bei den meisten biochemischen Reagenzien, die fast alle von den Laboratorien selbst präpariert werden mußten...“.

Dies war auch der Geschäftsleitung von Boehringer (Mannheim) bekannt. Sie richteten in einem alten Hotel in Tutzing (Oberbayern) ein Laboratorium ein, wo geprüft werden sollte, ob biochemische Reagenzien für kommerzielle Zwecke zubereitet werden könnten. Bis Anfang der 50er Jahre blieben diese Versuche ohne besonderen kommerziellen Erfolg.

Aber immerhin war es dem Leiter der Tutzinger Laboratorien Prof. Kurt Wallenfels dort (Wallenfels und Christian 1952) gelungen, wunderbar kristallisierende Chininsalze von NAD und NADP herzustellen. Kurz darauf erhielt er einen Ruf nach Freiburg, seine Position war frei. Ein Geschenk des Himmels für Uli Bergmeyer, der 1954, also vor über 40 Jahren, die Leitung dieser Abteilung übernahm und ihr bis 1985 vorstand (Übers, bei Fischer 1991).

Er griff mit großem Elan die Produktion von biochemischen Reagenzien auf. In erstaunlich kurzer Zeit, schon 1955, konnte man DPN und TPN (heute NAD und NADP), ATP, ADP und eine ganze Reihe von Enzympräparaten bei Boehringer (Mannheim) kaufen. Auf dem internationalen Biochemiekongreß in Brüssel 1956 präsentierte Bergmeyer die ersten Testkombinationen für enzymatische Analysen. Die Reagenzien und die zugehörigen, wäßrigen Lösungen waren fertig quantifiziert abgepackt, der Benutzer mußte sie nur noch zusammengießen. Einwiegen und ex-

aktes Volumetrieren waren nicht mehr nötig. Wegen der vergleichsweise hohen Preise wurde ihm von vielen Seiten ein Fiasko mit seinen Testkombinationen vorausgesagt. Die Skeptiker irrten, die weitere Entwicklung hat ihm recht gegeben.

Unter seiner Leitung entwickelte sich Tutzing nicht nur zum weltweit wichtigsten Produktionszentrum biochemischer Reagenzien, sondern es entstand dort auch ein international hoch respektiertes wissenschaftliches Zentrum der Enzymologie, wie eine große Zahl von Publikationen und ein enzyklopädisches Standardwerk (Bergmeyer 1983-1986) ausweisen.

Die kommerzielle Verfügbarkeit biochemischer Reagenzien für die Klinische Chemie wurde von Walter Guder im Rückblick als „entscheidender Wendepunkt für die Entwicklung unseres Faches“ charakterisiert (Guder 1986).

Automation Teil I

Trotz dieser wesentlichen Erleichterungen der analytischen Arbeit, entstanden in den klinischen Laboratorien immer gravierendere personelle und räumliche Engpässe: die Zahl der Untersuchungsaufträge wuchs exponentiell, die Analysenzahlen verdoppelten sich alle vier Jahre. Nur eine Lösung konnte aus dem Dilemma abhelfen: eine Automation. Sie begann mit dem „Autoanalyser“. Edwin C. Whitehead, der Sohn des Firmengründers von Technicon, Edwin Weisskopf, schreibt in seiner „History of Technicon Corporation“ (Whitehead 1978):

„... 1954, zu einem Zeitpunkt als Technicon noch eine relativ kleine Firma mit ca. 2 Millionen Dollar pro Jahr war, kam Dr. Leonard Skeggs zu uns mit der Idee, wie ein Automat zu konstruieren sei, der klinisch-chemische Analysen selbsttätig durchführt...“.

Das wesentliche und höchst originelle Bauprinzip ist der „continuous flow“, der durch Luftblasen - diskontinuierlich - unterbrochen wird.

Der bei Technicon in New York konstruierte Autoanalyser war damit der erste, zuverlässig funktionierende, industriell gefertigte, sog. „Analysenautomat“, die erste Publikation, in der das System beschrieben wurde, erschien 1957 (Skeggs 1957).

In den folgenden 25 Jahren wurden nach diesem Prinzip immer wieder neue, schnellere und leistungsfähigere Typen und Module für die ver-

schiedensten Anwendungen, einschließlich hämatologischer Untersuchungsverfahren entwickelt. Doch eines Tages waren die Grenzen dieses Analysenprinzips erreicht: ohne Skeggs und ohne Whitehead hatten die Epigonen den Continuous flow in eine falsche Richtung gelenkt. Fast schlagartig verloren die Autoanalyser ihre führende Marktposition, sie wurden von wenig originellen, aber sehr viel leistungsfähigeren japanischen Maschinen verdrängt.

Mikrolitertechniken

Es blieben jedoch und bleiben noch immer, ungeachtet der sog. Analysenautomation, analytische Verfahren, die manuell durchgeführt werden müssen. Für sie wurde mit den Mikrolitertechniken ein neuer Aspekt eröffnet, die, unabhängig voneinander, an mehreren Stellen parallel entwickelt wurden, so auch bei Eppendorf.

Dazu schreibt Dr. Netheler in seiner Firmengeschichte (Netheler 1971): „... Dr. Bücher war inzwischen (1953) zum Ordinarius für Physiologische Chemie an die Universität Marburg berufen worden ... er teilte uns gelegentlich mit, daß sein Mitarbeiter Dr. Heinrich Schnitger eine neue Pipettiertechnik für kleine Volumen entwickelt habe ... ihn interessierten vor allem Volumen im Bereich von 1 bis 10 ul.. wir einigten uns mit Dr. Schnitger über eine Anpassung dieser Technik an die Anforderungen der klinischen Chemie (10 bis 500 ul)...“.

Etwa gleichzeitig waren ähnliche Mikrolitersysteme von M. Sanz in Genf und H. Mattenheimer in Berlin entwickelt worden. Das Eppendorfsystem fand aber eine weit größere Verbreitung und wurde bald von vielen Konkurrenten kopiert.

Ein Beitrag zu diesem Thema kam 1974 aus dem St. Galler Laboratorium: Im Gespräch mit Dr. Gerken, Mitarbeiter der Firma Eppendorf, wurde die Möglichkeit diskutiert, eine Marburg-Pipette so zu erweitern, daß mehrfaches Dispensieren damit möglich wurde. Es resultierte nicht nur eine kleine Skizze, sondern auch der Name „Multipette“ wurde bei dieser Gelegenheit kreiert. Ein Jahr später kam die Multipette auf den Markt und entwickelte sich zu einem der erfolgreichsten Produkte der Firma Eppendorf.

Immunoassays Teil I

Die vielleicht folgenreichste Entwicklung in diesen aufregenden 50er Jahren lag aber auf einem ganz anderen Feld: die Radioimmunoassays eröffneten neue analytische Dimensionen.

Rosalyn Yalow und Dr. Salomon Berson studierten etwa ab 1950 das Problem des insulin-resistenten Diabetes. Als Ursache vermuteten sie, daß sich bei länger therapierten Diabetikern Antikörper gegen das exogene Insulin bilden. Mit den damaligen immunologischen Techniken war jedoch der Antikörpernachweis nicht möglich, da keine Präzipitation zu beobachten war. Deshalb verfolgten sie den Metabolismus von ^{131}I -markiertem Insulin bei diabetischen und nichtdiabetischen Patienten, als einen anderen, neuartigen Weg zum Antikörpernachweis. Die Autoren beobachteten, daß bei insulinbehandelten Patienten das markierte Insulin an ein Globulin der β/γ -Region gebunden wurde und mit diesem elektrophoretisch wanderte. Dies brachte sie auf die Idee, daß mit dieser Methode nicht nur die Antikörper gegen Insulin nachzuweisen sind, sondern auch umgekehrt die Konzentration von endogenem Insulin bestimmt werden kann (Übers, bei Yalow 1978). Demnach wurde der Radioimmunoassay konzipiert als: „... not directed by design but more as a fall out from our investigations...“.

Die Autoren konnten mit vielen unterschiedlichen Systemen nachweisen, daß tatsächlich insulinbindende Antikörper im Plasma von Patienten vorliegen, die mit tierischem Insulin behandelt worden waren.

Dieses Konzept war für die professionellen Immunologen der damaligen Zeit nicht akzeptabel. Die Originalarbeit, in der die Autoren diese Befunde darstellten, wurde erst von Science, dann auch vom Journal of Clinical Investigation abgelehnt.

Erst als aus der Arbeit der Begriff „Insulin-Antikörper“ eliminiert und die Befunde im Kontext eines damals modernen Lehrbuchs der Immunologie diskutiert worden waren, konnten sich die Referees mit der Publikation einverstanden erklären.

Die starke Zunahme von Untersuchungsaufträgen, die auf Radioimmunoassays (RIA) basierten, ließ bald den Wunsch nach Mechanisierung auch dieser Technik aufkommen. Wegen der notwendigen Trennungsschritte erwies sich dies aber als recht schwierig. Bevor die weitere Entwicklung der Immunoassays beschrieben wird, müssen wegen der

chronologischen Reihenfolge hier zunächst die Fortschritte bei den elektromechanischen Analysatoren geschildert werden.

Automation Teil II

G. Nadeau (Peny et al. 1970) konstruierte bei Du Pont den ACA, Prototyp eines „geschlossenen Systems“. Er arbeitete und arbeitet noch heute bekanntlich mit vordosierten, festen und flüssigen Reagenzien, eingeseigelt in Kunststofffolien, die mehrere Kompartimente enthalten. Die Bedienung dieser Maschinen ist extrem einfach, nur der relativ hohe Preis der „Reagenspacks“ setzt ihrem Einsatz Grenzen.

Eine andere höchst originelle Entwicklung stellen die Rotationsanalysatoren (Anderson 1968) dar. Auf einer Sitzung der New Yorker Academy of Science hatte Dr. Norman Anderson den Vater des Autoanalyzers Leonard Skeggs kennengelernt. Anderson, an analytischer Automation ebenso interessiert wie Skeggs, hatte sich bis dahin mit Zentrifugaltechniken zur Trennung von Zellbestandteilen beschäftigt. Die Meinung von Skeggs, nur bei einem Schlauchsystem sei es möglich, sich auf ein einziges bewegtes Modul, die Schlauchpumpe, zu beschränken, schien ihm zweifelhaft. Noch in der gleichen Nacht, im Hotelzimmer, konzipierte er einen „Rotationsanalysator“, bei dem prinzipiell auch nur ein bewegtes Teil, die Zentrifugenachse, erforderlich war.

Allerdings erfüllten die späteren industriellen Realisationen nicht die persönlichen Erwartungen, die Anderson mir auf der ANALYTICA 1972 entwickelt hatte.

Immunoassays Teil II

Zurück zu den Immunoassays. Radioaktive Isotope haben für analytische Zwecke erhebliche Nachteile, denn Herstellung, Versand, Lagerung und Entsorgung sind kompliziert und teuer; radiolytische Prozesse können die immunologischen Eigenschaften verändern, die Zählgeräte sind aufwendig, behördliche Restriktionen oft sehr ärgerlich. Es gab also vielerlei Gründe um nach nichtradioaktiven Tracern zu suchen.

Bei den heterogenen Enzymimmunoassays (EIA) sind die radioaktiven Tracer durch enzymmarkierte Tracer ersetzt. Sie wurden von mehreren industriellen Arbeitsgruppen unabhängig voneinander entwickelt. Bevorzugtes Vorgehen bestand darin, den primären Antikörper an der

Wand von Plastikröhrchen (oder an Plastikkugeln) zu immobilisieren. Daran binden sich die enzymmarkierten und nichtmarkierten Antigene. Die anschließenden Trenn- und Waschschriffe lassen sich dann recht einfach durchführen (Übers, bei Miayi 1985). Als Meßinstrumente dienen die üblichen Photometer, Gammacounter und behördliche Genehmigungen zum Arbeiten mit radioaktivem Material entfallen. Grundsätzlich war damit der Weg frei, Immunoassays auch von der Arztgehilfin im Praxislabor durchführen zu lassen -was auch bald geschah.

In der Folge wurde eine übergroße Zahl von Modifikationen des Prinzips der heterogenen EIA beschrieben. Nur einige können hier erwähnt werden.

Kodak entwickelte im Rahmen seines trockenchemischen Systems EK-TACHEM auch eine Vielzahl von Enzymimmunoassays. Das Vielschichtensystem der „slides“ kommt dem Aufbau von heterogenen EIA's sehr entgegen, der reflektometrische Meßvorgang kann wie bei den übrigen Methoden beibehalten werden.

Im DELFIA-System, der zeitverzögerten Fluorometrie, bildet Europium mit geeigneten Liganden Komplexe, die auf Anregung mit UV-Licht ein rotes Fluoreszenzlicht abstrahlen.

Auch beim STRATUS werden Fluoreszenzfarbstoffe zur Markierung eingesetzt. Die Trennung erfolgt hier via Dünnschichtchromatographie. Faszinierend sind auch die Lumineszenzimmunoassays (LIA), bei denen durch Oxidation einer aktivierbaren Verbindung eine lichtemittierende Reaktion freigesetzt wird. Teil- und vollmechanisierte Geräte sind im Einsatz.

Bei allen heterogenen Assays ist immer wieder ein manuelles oder maschinelles Eingreifen auf einzelnen Prozeßstufen nötig, z.B. um Röhrchen oder Titerplatten auf Waschstationen, in Dispenser-Einheiten oder in ein Meßsystem zu überführen. Deshalb sind die entsprechenden Analysatoren entweder nur halbmechanisch, oder recht kompliziert aufgebaut.

Eine wesentliche Vereinfachung brachten die „homogenen“ Immunoassays, bei denen eine durchgehende Mechanisierung, d.h. ein selbsttätiger Prozeßablauf nach Eingabe des Untersuchungsmaterials bis zum Ausdruck der Resultate möglich wurde, mit anderen Worten, sie erlauben eine „Eintopftechnik“.

Bekanntlich basieren homogene Immunoassays darauf, daß die direkt meßbaren Eigenschaften des Tracers durch die Antigen-Antikörper-Reaktion verändert werden. Wie bei den heterogenen wurde auch bei den homogenen Immunoassays eine verwirrende Vielzahl von Modifikationen in den Industrielaboratorien entwickelt.

Aus der Fülle dieser Verfahren soll nur auf eine Technik (FPIA) etwas näher eingegangen werden, weil sie tatsächlich origineller ist als die meisten anderen „me-too-Entwicklungen“ und weil die Kommerzialisierung dieser Entwicklung eines Outsiders außerhalb der einschlägigen Industrie ein Lehrbeispiel besonderer Art ist.

Dr. Walter Daendliker entwickelte in den Laboratorien der Scribbs Clinic in La Jolla ebenfalls anfangs der 70er Jahre den Fluoreszenzpolarisations-Immunoassay. Das zugrunde liegende Prinzip ist folgendes: wird ein fluoreszierendes Molekül von polarisiertem Licht angeregt, so tritt eine Fluoreszenzpolarisation auf, wobei die Orientierung des Fluoreszenzstrahls mit der des Anregungsstrahls nur dann übereinstimmt, wenn das Fluorophor z.B. an einem Makromolekül, etwa an einem Antigen-Antikörper-Komplex, fixiert ist. Wenn ein fluoreszierendes Hapten (z.B. ein Arzneimittel) frei in Lösung rotiert, tritt keine gerichtete Polarisation auf. Wird es aber mit einem spezifischen Antikörper fixiert, so ist der Sekundärstrahl polarisiert und zwar umso stärker, je mehr markierte Haptenmoleküle von Antikörpern fixiert sind. Als dieses elegante Verfahren 1973 (ohne Patentanmeldung) veröffentlicht wurde, fand es in der Fachwelt kaum Interesse - bis 8 Jahre später, 1981, die Firma Abbott mit dem TDx ein darauf basierendes System vorstellte und damit in kürzester Zeit zum Marktführer von Haptenimmunoassays wurde.

Monoklonale Antikörper

Eine wissenschaftliche Sensation war die Entwicklung der Techniken zur Gewinnung von monoklonalen Antikörpern durch Köhler und Milstein 1975.

Monoklonale Antikörper haben eine hohe Spezifität und - oft noch wichtiger - sie sind in gleichbleibender Qualität unbegrenzt verfügbar. Natürlich sind monoklonale Antikörper für die Zuverlässigkeit analyti-