

Berlin, 14. Juni 2010

Gutachten zum Widerspruchsverfahren ISU ./. DESG und Claudia Pechstein

Als Ärztlicher Direktor und Lehrstuhlinhaber für Innere Medizin an der Medizinischen Fakultät der Technischen Universität Dresden und Geschäftsführender Vorsitzender der DGHO Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie erstatte ich dieses Gutachten. Ich habe bei dieser Begutachtung keine Interessenskonflikte und erhalte keine finanziellen Kompensationen.

Seit 1978 befasse ich mich mit der Diagnostik und Therapie gutartiger und bösartiger Bluterkrankungen. Mein beruflicher Werdegang ist beiliegendem CV zu entnehmen. In zahlreichen gerichtlichen Verfahren war und bin ich gutachterlich tätig.

Im Rahmen der Verfahren vor dem internationalen Sportgericht CAS waren verschiedene Mitglieder der DGHO Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie gutachterlich tätig. Nachdem die Eisläuferin Frau Claudia Pechstein auf der Basis von erhöhten Retikulozytenwerten gesperrt wurde und das internationale Sportgericht CAS diese Sperre am 25. November 2009 bestätigte, wurde ich von diesen Mitgliedern um eine fachliche wissenschaftliche Befassung gebeten. Meinem Gutachten liegen die im Verfahren dem Schweizer Bundesgericht vorgelegten Gutachten beider Seiten zu Grunde. Sie wurden mir von den Rechtsanwälten Schertz Bergmann, Berlin, kommentarlos auf Anfrage vorgelegt.

Bei diesem Verfahren wurde bereits vorgebracht, dass bei ihr eine Anomalie des Membranaufbaus der Erythrozyten vorliegen könne. Diese Membrankrankheit der Erythrozyten im Sinne einer Sphärozytose oder einer Variante (im weiteren als Sphärozytose benannt) liegt in einer leichten Form vor und führt zu einem erhöhten Zellumsatz mit einer kürzeren Überlebenszeit. Die Erhöhung der Retikulozyten - der frisch aus dem Knochenmark

ausgeschwemmten roten Blutzellen - ist Ausdruck der gesteigerten Blutbildung und nicht durch Doping bedingt. Im Gegensatz zum Doping mit erythropoiesestimulierenden Substanzen sind die kleinen Erythrozyten bei Sphärozytose mit einer normalen Menge des Blutfarbstoffes Hämoglobin beladen, was zu einer erhöhten Konzentration führt. Der entsprechende Messwert MCHC (Mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration) ist bei Frau Pechstein deutlich erhöht, dies ist für Sphärozytosen typisch.

Im CAS-Verfahren wurde diese Diagnose verworfen, da in Untersuchungen zur Stabilität der Erythrozyten gegenüber osmotischem Druck (Osmotische Fragilität) und biochemischen Untersuchungen der Membranzusammensetzung keine weiteren Auffälligkeiten gefunden worden seien.

Für die Entscheidung im laufenden Verfahren ist es zwar nicht relevant, wie diese Einschätzung aus wissenschaftlicher Sicht zu werten ist. Es sei aber hier angemerkt, dass diese Wertung eindeutig falsch ist und im Gegensatz zur wissenschaftlichen Literatur steht (Gallagher und Glader, 2009; Perotta et al, 2008). Bei 10-20% der betroffenen Personen kann keine Änderung der Membranzusammensetzung nachgewiesen werden. Für leichte und Merkmalträger-Formen der Sphärozytose ist es geradezu typisch, dass die osmotische Fragilität normal ist. Ein Teil der bisher unbekannt genen genetischen und zellbiologischen Veränderungen wird in der Zukunft möglicherweise aufgeklärt werden können, wie es aktuelle Arbeiten aus 2010 zeigen (Gundel et al, 2010; Ipsaro et al, 2010; Salomao et al, 2010).

Ein neuer Beweis für die Diagnose der Sphärozytose wurde durch die Untersuchungen (Dezember 2009) von Dr. A. Weimann am Universitätsklinikum der Charité in Berlin 2010 vorgelegt. Zur Validität der Untersuchungen ist hervorzuheben, dass in Deutschland klinische Laboratorien einem Akkreditierungsverfahren unterzogen werden, alle Geräte und Reagenzien zertifiziert sein müssen und eine Teilnahme an Ringversuchen (externe Validierung) erforderlich ist.

In diesen Untersuchungen wurden neue Algorithmen zur Differenzierung zwischen Sphärozytosen und anderen Krankheitsbildern eingesetzt. Diese wurden erstmals auf dem Sysmex European Haematology Symposium 2009 in Istanbul aus der Arbeitsgruppe von Professor Bernard Chatelain, Hämatologisches Labor der Universität UBL Mont-Godinne, Belgien, durch Francois Mullier vorgestellt. Dieses Symposium ist durch seine hohe Qualität bekannt. Zahlreiche dort gehaltene Vorträge wurden bereits in hochkarätigen Journalen publiziert. Die Arbeit von F. Mullier und B. Chatelain wurde bei der Zeitschrift Haematologica

eingereicht. Dieser Einreichungsstatus spricht nicht gegen die Qualität und Verwendbarkeit der Daten. Der redaktionelle Prozess und die Begutachtungen ziehen sich häufig über ein Jahr hin. Daher werden in der Medizin wie in anderen Wissenschaften wichtige Erkenntnisse der bei Vorträgen vorgestellten Daten bereits vor einer schriftlichen endgültigen Publikation in die klinische und wissenschaftliche Routine übernommen. Aus der Internetveröffentlichung www.sysmex.de/files/articles/Xtra_5_Symposium_Istanbul.pdf (erstellt am 17.12.2009) ist zu entnehmen, dass in diesem Algorithmus 10 hämatologische Parameter verknüpft wurden und eine Empfindlichkeit von 94,4% und Spezifität von 99,3% für die Erkennung einer Sphärozytose erzielt werden konnte. Sie stellt somit eine neue Methode zur Diagnostik von Sphärozytosen dar.

Festzuhalten ist, dass im Dezember 2009 durch Dr. A. Weimann bei Frau Pechstein diese neue Blut-Untersuchungsanalyse angewendet wurde. Die Diagnose einer hereditären Sphärozytose wurde bestätigt. Dieser Spezialalgorithmus wurde erst im Jahr 2009 entwickelt. Er stand vor dem CAS-Verfahren noch nicht zur Verfügung. Zusätzlich wurde die Familie der Sportlerin untersucht und der Vater ebenfalls als Träger der Anomalie identifiziert.

Mit diesen Untersuchungen konnte eindeutig geklärt werden, weshalb bei Claudia Pechstein wiederholt erhöhte Retikulozytenwerte gemessen wurden:

1. Es wurde gezeigt, dass die Retikulozyten - Messung in derselben Blutprobe von Claudia Pechstein und ihrem Vater im Advia-Hämatologiesystem von Siemens zu höheren Werten führt als in Sysmex Geräten (bis zum Zweifachen höher!). Das Advia-Verfahren setzt eine andere Messmethode ein, welche die roten Blutzellen (Erythrozyten und Retikulozyten) vor deren Messung bzw. vor Anfärbung der Retikulozyten durch Zugabe des Detergens Natriumdodecylsulfat (SDS) an deren Membran verändert und leicht „destabilisiert“. Dadurch gehen sie von der Diskusform in die Kugelform über, eine notwendige Grundvoraussetzung, damit die zugrunde liegende Messtechnologie überhaupt funktioniert. Die beobachtbar wiederkehrenden Befunddiskrepanzen deuten darauf hin, dass bei angeborenen Formveränderungen das Advia-Verfahren die roten Blutzellen durch die beschriebene Vorbehandlung für den Farbstoff durchlässiger macht und auf diese Weise vermehrt „reife“, aber „merkmalstragende“ Erythrozyten – die sich ja nicht anfärben sollten – als „unreife“ (sprich: Retikulozyten) ausweist. Dies kann zu einer möglichen Überschätzung der Retikulozytenwerte- und Retikulozytenschwankungen führen (Thomas, 2010).

2. Bei diesen Parallelmessungen wurde mit einem Advia-Gerät der Prozentsatz der Zellen gemessen, die mit Blutfarbstoff überfüllt sind (%HYPER-Zellen). Es ergaben sich %HYPER-Werte von 14.6% für Claudia Pechstein und 8.3% für ihren Vater. In der Publikation von Kutter (2007) über die Erkennung von Sphärozytose - Merkmalträgern, wurden folgende Grenzwerte definiert: normal bis 3,4%; 3,5 - 8,9% milde Erhöhung und grösser 9,0% eine deutliche Erhöhung. Damit liegt Claudia Pechstein deutlich im erhöhten Bereich und der Vater im oberen mild erhöhten Bereich.

3. In Sysmex-Geräten werden im Gegensatz zu den Advia-Geräten die Retikulozyten vorher nicht in eine kugelige Form überführt. Mit dem Diluent-Reagenz werden die Membranen der Zellen lediglich ohne Formveränderung für den RNA (verbliebener Botenstoff der Eiweißbildung)-anfärbenden Fluoreszenz-Farbstoff durchgängig gemacht. Dr. Weimann hat nun mit dieser Messmethodik auf Sysmex XE5000 und XE2100 Geräten die von F. Mullier entwickelten und vorgestellten Indices bestimmt. Die Ret-Ratio war deutlich erhöht. Aufgrund dieses Befundes und der am oberen Normalwertbereich liegenden MicroR und Hypo-He Werte diagnostizierte er eine asymptomatische Trägervariante der Sphärozytose.

4. Bei Claudia Pechstein kommt es nach körperlicher Belastung zu einem Anstieg des freien Hämoglobins von Werten zwischen 9 mg/ml-13 mg/ml auf 22 mg/dl bzw. 27 mg/ml. Gleichzeitig nimmt die osmotische Belastbarkeit gemessen im Acid-Glycerol-Test zu. Dies kann nur damit erklärt werden, dass durch die Störung des Aufbaus der Erythrozyten unmittelbar bei Belastung eine Auflösung der "ballonierten" Erythrozyten (Sphärozyten) stattfindet und es parallel auch zu einer Verkleinerung der Zellen durch Elektrolytentzug kommt. Die erhöhte osmotische Belastbarkeit ist durch die verbleibende jüngere Erythrozytenpopulation und durch unempfindlichere kleinere Zellen zu erklären. Bei Gesunden mit normalen Erythrozyten tritt nach körperlicher Belastung eine Absenkung der osmotischen Belastbarkeit auf, die mechanisch geschädigten Zellen werden erst später abgebaut. Bei beiden Personenkreisen kommt es aber nach Ausdauerbelastungen zum Retikulozytenanstieg. Systematische Untersuchungen bei Sphärozytose-Merkmalträgern liegen naturgemäß nicht vor, müssen aber in Zukunft sicher durchgeführt werden. Prof. W. Gassmann, Siegen, hat aber passend zu dieser physiologischen Reaktion niedrigere Blutfarbstoffwerten in den Phasen erhöhter Retikulozytenwerte gefunden. Dieser diskrete Hb-Abfall ist bei Personen mit basal gesteigerter Blutbildung wie bei einer Sphärozytose ausreichend für die messbare Stimulation der Blutneubildung vor allem wenn man berücksichtigt, dass mit dem verwendeten Messsystem Advia bei dieser Anomalie möglicherweise deutlich überhöhte Werte bestimmt werden (siehe oben).

Mit den Untersuchungen von Dr. A. Weimann wird die Diagnose einer Erythrozytenmembranveränderung vom Typ einer hereditären Sphärozytose bestätigt und untermauert. Diese Diagnose kann somit mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit gestellt werden auf Grund der Standardkriterien wie erhöhte mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration (MCHC) und wechselnder Erhöhung der Retikulozyten und diesen Befunden, die mit einem neuen Auswertalgorithmus erstellt wurden.

Keines der von anderen Gutachtern vorgetragenen Argumente stellt diese Diagnose in Frage:

- Fehlender Nachweis einer Membranveränderung: Der biochemische Nachweis der zu Grunde liegenden Membranveränderungen kann bei 10-20% aller Patienten nicht erbracht werden (Gallgher and Glader, 2009 siehe Tabelle aus dieser Arbeit; Perotta et al, 2008). Dieser Prozentsatz liegt bei reinen Merkmalträgern und milden Formen noch deutlich höher. Diese Form wird von Perotta et al. (2008) als Typ 6 "Yet to be defined" geführt.

	Carrier	Mild Spherocytosis	Moderate Spherocytosis	Moderately Severe Spherocytosis	Severe Spherocytosis
Hemoglobin (g/dl)	Normal	11-15	8-12	6-8	<6
Reticulocytes (%)	1-3	3-8	8	10	10
Bilirubin (mg/dl)	0-1	1-2	2	2-3	3
Spectrin content (%)	100	80-100	50-80	40-80	20-50
Peripheral smear	Normal	Mild spherocytosis	Spherocytosis	Spherocytosis	Spherocytosis and poikilocytosis
Osmotic fragility	Normal	Normal or slightly increased	Distinctly increased	Distinctly increased	Distinctly increased
Incubated blood	Slightly increased	Distinctly increased	Distinctly increased	Distinctly increased	Markedly increased

Tabelle: Klassifizierung der hereditären Sphärozytosen (nach Gallagher und Glader, 2009; Tabelle 31.2, Seite 915 [ohne Fußnoten])

- Die osmotische Resistenz wäre normal und dies spräche gegen eine Sphärozytose. Diese Annahme ist falsch und steht im Widerspruch zur bestehenden Literatur (Gallgher and Glader, 2009; siehe Tabelle aus dieser Arbeit).

- Es wäre keine Hämolyse mit Abfall des Hämoglobinwertes beobachtet worden: Im Gegensatz zu diesen Feststellungen sind wie beschrieben Hinweise auf milde intravaskuläre Blutaufösungen vorhanden. Es ist aber darauf aufmerksam zu machen, dass der erhöhte Abbau ballonierter Sphärozyten in der Milz stattfindet und im Stadium der Kompensation nicht zu Zeichen einer intravasalen Hämolyse führt.

- Den Retikulozytenerhöhungen hätte ein Abfall des Blutfarbstoffwertes vorausgehen müssen: Wie von Prof. Dr. W. Gassman, Siegen, dargestellt, findet sich ein leichter Abfall. Dieser ist ausreichend für die Erklärung einer reaktiven Retikulozytenerhöhung bei einer vorbestehenden Steigerung der Blutbildung. Messtechnisch werden diese Erhöhungen auch Advia-gerätetechnisch möglicherweise wie beschrieben überschätzt.
- Die bei Claudia Pechstein festgestellten Retikulozytenerhöhungen könnten nur durch die Zufuhr erythropoiesestimulierender Substanzen und Blutmanipulationen geklärt werden: Diese Annahme ist falsch, da alle Veränderungen vollständig und ausreichend durch die bestehende Blutanomalie erklärt werden können und nach Retikulozytenerhöhungen kein Anstieg des Blutfarbstoffwertes stattfindet.

gez. Prof. Dr. med. Gerhard Ehninger
Anlage: Literatur und Lebenslauf

Literatur

GUNDEL, F., EBER, S., HEEP, A.: A new ankyrin mutation (ANK1 EXON E9X) causing severe hereditary spherocytosis in the neonatal period. *Ann. Hematol.* **2010 (epub)**.

IPSARO, J. J., MONDRAGON, A.: Structural basis for spectrin recognition by ankyrin. *Blood* **115**, 4093, **2010**.

PERROTTA, S., GALLAGHER, P. G., MOHANDAS, N.: Hereditary spherocytosis. *Lancet* **372**, 1411, **2008**.

GALLAGHER, P., GLADER, B. Hereditary spherocytosis, hereditary elliptocytosis, and other disorders associated with abnormalities of the erythrocyte membrane. In: *Wintrobe's Clinical Hematology*, 12th edition, Lippincott, Philadelphia (2009)

KUTTER, D. Strategy for screening for hereditary spherocytosis. *J. Chinese Clin. Med.* **2**. 266-(2007)

SALOMAO, M., CHEN, K., VILLALOBOS, J., MOHANDAS, N., AN, X., CHASIS, J. A.: Hereditary spherocytosis and hereditary elliptocytosis: aberrant protein sorting during erythroblast enucleation. *Blood* **2010 (epub)**.

THOMAS, L. zitiert nach *Deutsches Ärzteblatt* **107**, A 538 (2010)

Curriculum vitae

Professor Dr. med. Gerhard Ehninger

- Dienststelle: Medizinische Klinik und Poliklinik I mit Schwerpunkten
Gastroenterologie, Hämatologie, Onkologie, Pneumologie
und Infektiologie
Universitätsklinikum "Carl Gustav Carus"
Fetscherstr. 74
01307 Dresden
- 8/1978- Wissenschaftlicher Assistent an der Medizinischen
Universitätsklinik Tübingen Abt. Hämatologie, Onkologie,
Rheumatologie und Immunologie
- 7/1985 Habilitation
- 8/1985 Facharztanerkennung als Internist
- 10/1985 Oberarzt der Medizinischen Universitätsklinik Abt. II
- 10/1985 Lehrbefugnis für das Fach Innere Medizin
- 2/1988 Teilgebietsanerkennung Hämatologie und
Onkologie
- 5/1991-1995 Gründungsgesellschafter und Geschäftsführer der DKMS
Deutsche Knochenmarkspenderdatei gemeinnützige GmbH
- 1995- Verwaltungsratsvorsitzender der DKMS Deutsche
Knochenmarkspenderdatei
- 10/1991 Außerplanmäßige Professur
- 09/1994- Lehrstuhl Innere Medizin I Dresden mit
Schwerpunkt Hämatologie/Onkologie,
Gastroenterologie, Infektiologie und
Knochenmarktransplantation
- 2000-2006 Aufsichtsrat Uniklinikum Dresden
- 2001- Aufsichtsrat Rhön Klinikum AG
- 2001- Vorstand Kompetenznetz Akute und
chronische Leukämien

- 2002-2005 Sprecher Deutsche Arbeitsgemeinschaft für
Knochenmark- und
Blutstammzelltransplantation
- 11/2004- Geschäftsführender Vorsitzender DGHO
Deutsche Arbeitsgemeinschaft für
Hämatologie und Onkologie
- 6/2005- Sprecher SFB 655 „Von Zellen zu Geweben“
10/2005 Vize-Sprecher DFG-Forschungszentrum
Regenerative Therapie (Exzellenzcluster ab
2006)
- 11/2006- Aufsichtsratsmitglied Universitätsklinikum
Gießen/Marburg
- 12/2006- Vorstandsmitglied des wissenschaftlichen
Beirates der Bundesärztekammer

Wissenschaftliche Felder: Mehr als 450 Publikationen in peer-
reviewed Journals nach pubmed über
Blutstammzelltransplantation, Leukämien,
Regenerative Therapien, Ethik in der Medizin,
klinische Studien