



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Validierung eines kompetitiven, durchflusszytometrischen Tests
zur Konzentrationsbestimmung von Heparin**

Autor: Helmut Renz
Institut / Klinik: I. Medizinische Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. J. Harenberg

In den meisten heute eingesetzten Testsystemen erfolgt die Bestimmung von Heparinkonzentrationen durch enzymatische Aktivitätsmessungen. Dabei werden für die Bestimmung unfraktionierter Heparine Globalgerinnungsteste (aktivierte partielle Thromboplastinzeit und Thrombinzeit) sowie der chromogene Test S-2238 zur Erfassung der Thrombinhemmung verwendet. Für fraktionierte Heparine finden der chromogene Test S-2222 und der Heptest Verwendung, die spezifisch die Anti-Faktor Xa Aktivität erfassen. Ziel der vorliegenden Arbeit war es den kompetitiven Bindungsassay zur durchflusszytometrischen Bestimmung von Heparin mittels Protamin-Estapor Microbeads zu validieren.

Für die Patienten, die mit HMW-Heparin behandelt wurden, zeigten die etablierten Testsysteme eine Korrelation zwischen 0,69 und 0,83. Im Vergleich der durchflusszytometrisch ermittelten Heparinkonzentrationen mit den anderen Methoden wurden Korrelationen zwischen 0,49 und 0,56 ermittelt. Nach intravenöser Applikation konnten höhere Korrelationen gefunden werden als nach subkutaner Gabe des Heparins (0,44 bis 0,6 verglichen mit 0,18 bis 0,35). Bei kardialen Erkrankungen (KHK, Herzinsuffizienz, Vitien) betrug die Korrelation 0,55, bei Apoplex 0,35 und bei Thrombose / Lungenembolie 0,47. Es wurde daher der Einfluss von Plasmaproteinen auf den Test untersucht. Es zeigte sich bei Norm-Albuminämie eine Korrelation von 0,72. Bei Hyp-Albuminämie war die Korrelation 0,34, bei Hyperalbuminämie 0,52.

Bei Probanden konnten im Rahmen einer klinischen Studie für LMW-Heparin Korrelationen von 0,7 bis 0,8 zwischen den durchflusszytometrisch ermittelten Heparinkonzentrationen und den Aktivitätstesten bestimmt werden. Für HMW-Heparin ist die Korrelation von 0,56 bis 0,84. Zudem konnte eine Kinetik errechnet werden. Hierbei zeigten sich mit dem Facscan kürzere Halbwertszeiten (28,3 Minuten für HMW- und 34,4 Minuten für LMW-Heparin) als für den Heptest (98 und 68,5 Minute). Hier scheinen indirekte Heparinwirkungen eine Rolle zu spielen weshalb der kompetitive Bindungsassay zur Untersuchung der Pharmakokinetik besser geeignet ist.

Bei Patienten, die im Rahmen der Fraxodi-Studie mit niedermolekularem Heparin behandelt wurden, konnten Korrelationen von 0,6 bis 0,62 ermittelt werden. Auch beim Vergleich mit den Thrombosenpatienten (Korrelation 0,46 bis 0,53) aus der HMW-Heparin-Gruppe war die Übereinstimmung höher. Die Ergebnisse zeigen, daß LMW-Heparin weniger durch Bindung an Plasmaproteine in seiner Konzentration und Aktivität vermindert wird als unfraktioniertes Heparin.