

Caroline von Gaudecker

Dr. med.

Untersuchungen zur Affinität von Antiseren gegen verschiedene Epitope des intakten Parathormons (PTH) und zum Vorkommen von PTH-Fragmenten sowie oxidiertem PTH im Plasma von Dialysepatienten

Geboren am 10.06.1980 in Hannover

Staatsexamen am 16.05.2006 an der Medizinischen Hochschule Hannover

Promotionsfach: Labormedizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Heinrich Schmidt-Gayk

Das Parathormon ist ein wichtiger Regulator des Calciumstoffwechsels. Bei Patienten mit chronischer Nierenerkrankung kommt es zu einem sekundären Hyperparathyreoidismus, zum einen durch eine vermehrte Produktion des Hormons aufgrund eines Calcium- und Calcitriol-Mangels, zum anderen durch Hyperphosphatämie und Akkumulation von PTH aufgrund der verminderten glomerulären Filtration. So kommt es bei diesen Patienten vor allem zur Anreicherung von PTH-Fragmenten, deren Struktur und biologische Aktivität noch nicht vollständig geklärt werden konnten. Es sollen vor allem C-terminale Fragmente sein, besonders PTH (7-84) wird vielfach favorisiert, welche entweder funktionslos sein oder an einem C-terminalen Rezeptor eine dem PTH entgegengesetzte Wirkung erzielen sollen. Mit diesen Überlegungen stellt sich die Frage, welche Fragmente von den verschiedenen Nachweismethoden für PTH gemessen werden. Mit meinen Versuchen wollte ich dieser Frage auf den Grund gehen und habe mittels Immunextraktion mit PEG-Lösung oder beschichteten Kugeln („coated beads“) Plasmapools von Dialysepatienten mit Antiseren aus kommerziellen Testkits und mit Antiseren aus dem Labor Limbach behandelt. Dabei zeigte sich, daß die am äußersten Aminoterminus angreifenden Antiseren (Nichols Advantage Bio-Intakt-PTH, Scantibodies Duo PTH „CAP“, K2 (Immundiagnostik) durchschnittlich nur 20% PTH extrahieren können. Auch beim als Kontrolle dienenden synthetischen Standard PTH (1-84) wurden nur 9% erkannt. Diese Ergebnisse sprechen entweder dafür, daß nur wenig PTH mit erhaltenem Aminoterminus vorliegt oder dieses möglicherweise aufgrund einer

knäuelartigen tertiären Struktur nur schlecht erkannt wird, sonst hätte es bei dem synthetischen Standard zu einer kompletten Extraktion kommen müssen.

Im Gegensatz dazu scheinen die Antiseren, die C-terminal und N-regional (jedoch nicht am extremen Aminoterminus) binden, PTH und PTH-Fragmente gut zu erkennen. Es wurden im Labor Limbach hergestellte Antiseren verwendet (Ziege 69, Hase 1, Ziege 77, Schaf 21), sowie kommerziell erhältliche: Nichols Intact PTH (entspricht Nichols Allegro PTH), Nichols Advantage Bio-Intakt-PTH C-terminales Antiserum, Scantibodies Duo PTH C-terminale Kugel, Roche „R1“ und „R2“, sowie D1.5 (ProBioGen). Mit diesen Antiseren konnten Extraktionseffizienzen von durchschnittlich 89% erreicht werden. Unter der Annahme, daß die C-terminalen Fragmente an einem separaten Rezeptor binden, dessen Wirkung dem Parathormon entgegengesetzt ist, könnte sich der vergleichsweise geringe Knochenabbau bei hoch gemessenen PTH-Werten bei Dialysepatienten erklären lassen.

Die neuen PTH-Assays, die am äußersten Aminoterminus binden, zeigen keinen diagnostischen Vorteil gegenüber herkömmlichen PTH-Nachweisen. Beide Werte zeigen eine hohe Korrelation untereinander, so daß vermutlich echtes intaktes Parathormon und N-terminal verkürzte Fragmente bei Dialysepatienten meistens in einem ähnlichen Verhältnis vorliegen. Vor allem der Verlauf der PTH-Konzentration scheint für den klinischen Alltag wichtig zu sein, dieser läßt sich am besten durch dessen regelmäßige Messung mit dem gleichen Assays möglichst im selben Labor beurteilen.

Die sogenannte CAP/CIP ratio (CAP= PTH(1-84), CIP= PTH non(1-84)) konnte sich als diagnostische Hilfe zur Bestimmung des Knochenbaus nicht etablieren. Aufgrund von Meßungenauigkeiten in den verschiedenen benötigten Assays können sich schnell Fehler potenzieren, außerdem dürfen ein halbes Jahr vor der PTH-Abnahme weder Calcitriol noch Corticosteroide eingenommen worden sein, was selten dem Zustand von Dialysepatienten entspricht.

Ich untersuchte auch das Vorkommen von oxidiertem PTH im Plasma von Dialysepatienten mit dem Antiserum 3B3 (Immundiagnostik) und konnte feststellen, daß es mit 0- maximal 15% keinen großen Anteil an der PTH-Messung nimmt. Es stört die Bestimmung von PTH vermutlich nur wenig.