

Amelie Bäumer
Dr.med.dent.

Entwicklung eines immunoluminometrischen Nachweises für Fetuin-A im Serum und Anwendung bei Patienten an der Dialyse und bei chronischen Entzündungen

Geboren am 18.10.1982 in Herrenberg
Staatsexamen am 21.11.2007 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Labormedizin
Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. H. Schmidt-Gayk

Verminderte Fetuin-A-Konzentrationen im Serum führen zu verstärkter extraossärer Calcifizierung im Organismus, ein pathologischer Befund, der besonders häufig bei Dialysepatienten festgestellt wird. Da diese verstärkten Verkalkungen eine erhöhte cardiovaskuläre und allgemeine Sterblichkeit zur Folge haben, erscheint eine regelmäßige, z.B. jährliche, Überprüfung der Fetuin-A-Spiegel vor allem bei Dialysepatienten wichtig. Der im ersten Teil dieser Arbeit entwickelte immunoluminometrische Assay (ILMA) zur Bestimmung der Fetuin-A-Konzentration im Serum dient dieser Überprüfung.

Auf Basis anderer in der Routine verwendeter ILMAs wurden zunächst im Rahmen eines Screenings von Antikörpern und Inkubationsparametern die Bedingungen des ILMA optimiert. Als polyklonaler Antikörper wurde AS 5359 gewählt, für den Tracer eine Mischung der monoklonalen Antikörper MAHS-3 und MAHS-7 mit einer Konzentration von 40 ng/ Röhrchen. Durch Inkubationszeiten von zwei und vier Stunden können die Ergebnisse bereits am Tag des Probeneingangs ausgesendet werden. Anschließend wurden Untersuchungen zur richtigen Handhabung und Lagerung der Assaybestandteile durchgeführt und die Qualität des Assays überprüft. Bei der Bestimmung der Reproduzierbarkeit zeigten sowohl die im Messbereich liegenden Standards als auch die Proben Variationskoeffizienten von unter oder nur knapp über 10 % und bewiesen damit die hohe Präzision des Tests. Die Überprüfung der

Testqualität ergab eine untere Nachweisgrenze von 0,0103 g/l und eine mittlere Recovery von 92,9 %. Die Linearität ist mit Werten nahe den errechneten Soll-Werten sehr zufriedenstellend. Bei Vergleich mit einem anderen kommerziell erhältlichen Test für Fetuin-A (ELISA der Firma Epitope Diagnostics) wurden ähnliche Werte für dieselben Serumproben gemessen ($r=0,7495$). Eine Überprüfung der Spezifität des hier vorgestellten Tests war nicht notwendig, da die Antikörper gegen humanes Fetuin-A speziesspezifisch sind.

In einem zweiten Teil wurde der Normbereich anhand von 255 Serumproben vermutlich Gesunder ermittelt (0,24-0,72 g/l). Es konnte keine geschlechtsspezifische Abhängigkeit gefunden werden. Mit zunehmendem Alter der Probanden konnte jedoch vor allem bei den weiblichen Probanden tendenziell eine Abnahme der Fetuin-A-Werte beobachtet werden.

Des Weiteren wurden 137 Serumproben von Dialysepatienten gemessen und mit den Fetuin-A-Konzentrationen von Gesunden verglichen. Die Werte der Dialysepatienten lagen mit einem Mittelwert von 0,35 g/l deutlich unter denen der gesunden Probanden (MW: 0,44 g/l). Analog zu den Befunden bei Gesunden konnte keine geschlechtsspezifische Abhängigkeit der Fetuin-A-Werte festgestellt werden. Ebenso nahmen die Konzentrationen bei weiblichen Dialysepatienten mit zunehmendem Alter an der Grenze zur Signifikanz liegend ab ($p=0,0735$), bei männlichen Patienten hingegen nicht ($p=0,9836$). Gründe für diesen Zusammenhang sind noch zu erforschen.

Im letzten Teil dieser Arbeit wurde überprüft, ob mit dem neu entwickelten ILMA auch im Urin oder Speichel die Fetuin-A-Konzentration nachgewiesen werden kann. Da aber alle gemessenen Ergebnisse weit unter der Nachweisgrenze von 10,3 mg/l lagen, ist dies mit dem hier vorliegenden Test nicht möglich.