



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Charakterisierung von Fibrinderivaten im Blut von Patientinnen mit gynäkologischen Tumoren

Autor: Paul Fürner
Institut / Klinik: IMD Gerinnungszentrum Mannheim
Doktorvater: Prof. Dr. C.-E. Dempfle

Eine venöse Thrombose oder Lungenembolie ist häufig das erste Zeichen einer Krebserkrankung. Insbesondere Adenokarzinom-Zellen führen zu einer Gerinnungsaktivierung und der Nachweis von Fibrinderivaten im Blut ist sowohl bei der Diagnose als auch bei der Verlaufsbeobachtung maligner Erkrankungen hilfreich.

Der am häufigsten eingesetzte Aktivierungsparameter der Gerinnung ist D-Dimer-Antigen. D-Dimer-Antigen entsteht durch kovalente Verbindung von D-Domänen benachbarter Fibrinmonomer-Einheiten des Fibrinkomplexes durch Faktor XIIIa, gefolgt von einer Fibrin-Proteolyse durch Plasmin. Die Messung von D-Dimer erfolgt mittels spezifischer monoklonaler Antikörper. Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass die zahlreichen D-Dimer-Testverfahren trotz insgesamt guter Korrelation sehr unterschiedliche numerische Ergebnisse liefern. D-Dimer-Antigen findet sich im Blut in sehr unterschiedlicher Form, von hochmolekularen Fibrinkomplexen, bis zu niedermolekularen Fibrinabbauprodukten. Das kleinste Fibrinabbauprodukt dieser Art ist Fibrinfragment D-Dimer. Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass manche D-Dimer-Test bevorzugt hochmolekulare Fibrinderivate erfassen, andere besser mit niedermolekularen Fibrinabbauprodukten reagieren.

Die vorliegende Arbeit hat daher zwei Ziele:

1. Messung von D-Dimer und Fibrinogen/Fibrin-Abbauprodukten im Blut von Patientinnen mit metastasierenden gynäkologischen Tumoren als Basis für eine zukünftige Anwendung als Verlaufsparmeter (Tumormarker)
2. Verwendung der gewonnenen Plasmaproben zur Validierung einer antikörper-unabhängigen Messmethode für D-Dimer-Antigen, bei der die in den Blutproben vorhandenen D-Dimere durch Plasmin-Proteolyse sämtlich in Fibrinfragment D-Dimer umgewandelt werden.

Es zeigt sich, dass sich bei nahezu allen Patientinnen mit metastasierenden gynäkologischen Tumoren erhöhte Spiegel von D-Dimer-Antigen finden, was auf eine chronische intravasale Gerinnung hinweist. Gleichzeitig finden sich erhöhte Werte auch für Fibrinogen/Fibrin-Abbauprodukte insgesamt.

Bei der Untersuchung der potentiellen Referenzmethode zeigten sich mehrere wichtige Ergebnisse: D-Dimer Antigen nimmt an der Gerinnungsbildung nicht teil, bei Entfernung des Fibrinogens aus den Proben durch Umwandlung in Fibrin nach Zugabe des Thrombin-ähnlichen Schlangengift-Enzyms Batroxobin tritt kein Verlust von D-Dimer-Antigen ein. Es ist daher davon auszugehen, dass D-Dimer zumindest bei dem hier untersuchten Probenmaterial tatsächlich als Fibrinabbauprodukt zu interpretieren ist und dimerisierte D-Domänen von "löslichem Fibrin" nicht erfasst werden. Durch die verwendete Plasmin-Protolyse gelingt es tatsächlich, das komplette D-Dimer Antigen in Fibrinfragment D-Dimer umzuwandeln. Fibrinfragment D-Dimer kann mittels Kapillarelektrophorese und in situ-Immundetektion quantitativ gemessen werden, wobei sich zeigte, dass die Trennung und Detektion nach Spaltung der Schwefelbrücken mit Dithiothreitol und Immundetektion mittels eines Antikörpers, der nicht die komplette D-Domäne, sondern nur die kovalent verbundenen („dimerisierten“) gamma-Ketten des Fibrinderivats erfassen, eine bessere Erfassung von D-Dimer-Antigen ergibt.

Die Methode erlaubt es, den tatsächlichen Gehalt an D-Dimer-Antigen in Eichmaterial und Plasmaproben für Vergleichsmessungen von D-Dimer Testverfahren zu ermitteln.