



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

**Querflußfraktionierung als Trennverfahren zur Charakterisierung
von D-Dimer-Antigen**

Autor: Justine Elisabeth Warzok
Institut / Klinik: I. Medizinische Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. C.-E. Dempfle

Die vorliegende Arbeit hatte die Erprobung der Querflußfraktionierung als Trennverfahren zur Charakterisierung von D-Dimer-Antigen zum Ziel. Nach zahlreichen vorbereitenden Versuchen konnte mit Phosphat-Puffer als Laufpuffer zuverlässig gearbeitet werden. Die Reproduzierbarkeit wurde anhand von jeweils drei Durchläufen einer Probe gezeigt. Vorausgegangen waren Messungen verschiedener Enzyme und definierter Enzymgemische, die der Beurteilung der Trennleistung dienten. Untersucht wurde das Blut von 36 Patienten. Es wurden 11 Patienten mit gesicherter disseminierter intravasaler Gerinnung und 21 Patienten mit gesicherter tiefer Beinvenenthrombose eingeschlossen. Alle Patienten wurden am Universitätsklinikum der Stadt Mannheim, Fakultät für klinische Medizin der Universität Heidelberg stationär aufgenommen und behandelt. Das Normalkollektiv bestand aus 4 zufällig ausgewählten Gesunden. Im Verlauf der Trennung wurden mit Hilfe eines Fraktionssammlers jeweils 28 Fraktionen gewonnen. Die Meßergebnisse wurden mittels SDS-Polyacrylamidgel-Elektrophorese und Immunoblotting überprüft, so daß die Fraktionen mit Fibrin-Fragment D-Dimer und Fibrinogen jeweils identifiziert werden konnten. Das Problem bei der Analytik mittels Querflußfraktionierung ist die starke Verdünnung der Proben und die mäßige Auflösung, weswegen nur eine recht grobe Trennung möglich ist. In der Elektrophorese, welche Teilchen nach Molekulargewicht trennt, scheinen Fibrinderivate eher groß zu sein. In der Querflußfraktionierung werden Teilchen nach hydrodynamischem Radius getrennt. Hier scheinen die Fibrinderivate wesentlich kleiner als ihr Ausgangsprodukt Fibrinogen zu sein. Ein räumlich langes Molekül wie Fibrinogen nimmt einen hydrodynamisch größeren Raum ein und wirkt durch die spätere Elution in der AFFF fälschlicherweise größer als es tatsächlich ist. Das tatsächliche Molekulargewicht ist also kleiner als man in den AFFF-Messungen erwarten würde. Fibrinogenabbauprodukte nehmen keine längliche Form ein und eluieren deswegen früher, obwohl sie nach der Elektrophorese ein größeres Molekulargewicht haben. In den Grafiken, in denen die Ergebnisse der Messung von Fibrinogen/Fibrin-Antigen in den AFFF-Eluatfraktionen aufgetragen sind, zeigt sich der Fibrinogen-Peak deutlich in den Fraktionen 12-16. Teilweise ist aber auch ein zweiter Peak zu erkennen. Manchmal zeigt sich auch eine Schulter am Ende des Fibrinogen-Peaks. Hierbei handelt es sich um Material, das sich im Molekulargewicht nur relativ wenig von Fibrinogen unterscheidet. Zusätzliche Peaks, Schultern und Verbreiterungen des Fibrinogen-Peaks waren bei den Patienten mit disseminierter intravasaler Gerinnung (DIC) ausgeprägter vorhanden als bei Patienten mit tiefer Beinvenenthrombose (DVT). Beim Normalkollektiv fanden sich erwartungsgemäß hingegen keine zusätzlichen Peaks oder Schultern bei Messung von Fibrinogen/Fibrin-Antigen in den Eluatfraktionen aus der AFFF.