

CHROM. 6764

Note

Ein Störfaktor beim Radio-Immunoassay des Urin-Aldosterons

E. SCHNURR

I. Medizinische Klinik der Universität Düsseldorf, Klinik A, Moorenstrasse 5, D-4000 Düsseldorf (B.R.D.)*

(Eingegangen am 26. März 1973)

Die Dünnschichtchromatographie (DC) erweist sich wegen ihrer einfachen Anwendung, der guten Reproduzierbarkeit und ihres hohen Auflösungsvermögens als ausgezeichnetes Verfahren zur Vorreinigung des Aldosterons für den Radio-Immunoassay (RIA). Bei alleiniger Verwendung der Kieselgel-DC beobachteten wir häufig beim RIA innerhalb unserer Doppelwerte erheblich nach oben abweichende Ergebnisse. Eine ähnliche Beobachtung im Zusammenhang mit der säulenchromatographischen Trennung der Corticosteroide zur kompetitiven Proteinbindungsreaktion wurde kürzlich mitgeteilt¹. Durch eine zusätzliche DC an Cellulose konnte diese Störung beseitigt werden.

EXPERIMENTELLES

Die Extraktion des Aldosterons aus dem Urin und dessen Vorreinigung durch eine Flüssigkeitsverteilung erfolgte in der üblichen Weise nach der bereits mitgeteilten Methode^{2,3}. Die anschliessende DC wurde an Kieselgelplatten (Kieselgel HF₂₅₄, Merck) durchgeführt, die vorher mit Methanol gewaschen worden waren. Als Fliessmittel wurde Dichlormethan–96% Essigsäure–Methanol (90:10:5) (S₁) verwendet. Nach der Elution des Aldosterons mit Chloroform–Methanol (2:1) schloss sich eine zweidimensionale DC mit zweimaliger Entwicklung in Chloroform–95% Methanol (92:8) (S₂) und eine einmalige Entwicklung in S₁ in der zweiten Dimension an. Die R_F-Werte des Aldosterons und einiger ausgewählter Corticosteroide sind in Tabelle I zusammengestellt.

Wird das Eluat jetzt nach der zweiten DC zum RIA eingesetzt, beobachteten wir häufig die schon erwähnten abweichenden Ergebnisse. Auch die DC bekannter Aldosteronmengen ergaben einzelne höhere Werte. Rückstände der verwendeten Lösungsmittel waren hierfür nicht verantwortlich zu machen. Eine Hemmung des RIA durch lösliche Bestandteile der Dünnschichtplatten war wegen des inkonstanten Auftretens der Störung unwahrscheinlich.

Bei dem von uns verwendeten RIA (Sorin/Isotopendienst-West, Frankfurt) wird die Menge des antikörpergebundenen radioaktiven Aldosterons gemessen. Das antikörpergebundene radioaktive Aldosteron und die Menge des Aldosterons in der

* Direktor: Prof. Dr. F. Grosse-Brockhoff.

TABELLE I

 R_F -WERTE EINIGER STEROIDHORMONE

Steroid	R_F -Werte	
	S_1	S_2
Aldosteron	0.47	0.37
Cortisol	0.33	0.34
Cortison	0.51	0.53
Corticosteron	0.56	0.58
11-Deoxycorticosteron	0.59	0.76

Probe verhalten sich daher umgekehrt proportional. Wird vor Zugabe des Antikörpers ein Teil Gemischs aus freiem und radioaktivem Aldosteron an ein Adsorbens (z.B. Spuren von Kieselgel) gebunden, ist die Menge des antikörpergebundenen radioaktiven Aldosterons nach der Inkubation niedriger, damit wird auf der Eichkurve ein höherer Wert für die Probe abgelesen.

Von dieser Hypothese ausgehend wurde zunächst erfolglos versucht, durch sorgfältiges Zentrifugieren und Filtrieren Kieselgelspuren aus dem RIA-Ansatz fernzuhalten. Gute Ergebnisse zeigte jedoch eine zusätzliche kurze DC an Cellulose F-Fertigplatten, Schichtdicke 0.1 mm (E. Merck, Darmstadt, B.R.D.). Als Fließmittel wurde wegen der guten Elutionswirkung 95% Äthanol verwendet, um das Aldosteron aus den in Spuren mitübertragenen Kieselgelresten zu eluieren. Die Entwicklungsstrecke betrug 4–5 cm, die Elution aus der Cellulose erfolgte mit 95% Äthanol. Das Eluat wurde durch doppelte Papierfilter gereinigt und in den RIA eingesetzt. Die Doppelwerte der einzelnen Proben zeigten in grosser Serie die vorher beobachteten Abweichungen nicht, sodass davon ausgegangen werden kann, dass durch die zusätzliche kurze DC an Cellulose Kieselgelspuren aus dem Ansatz entfernt werden können, die ohne diese zusätzliche Massnahme den RIA empfindlich stören können.

Die tägliche Ausscheidung an freiem Aldosteron und säurelabilem "3-oxo-Konjugat" betrug bei Normalpersonen 8.2 μg pro Tag ($S. = 3.9$) und steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren⁴⁻⁶.

LITERATUR

- 1 B. E. P. Murphy, in W. D. Odell und W. H. Daughady (Editors), *Principles of Competitive Protein-Binding Assay*, Lippincott, Philadelphia and Toronto, 1971, p. 108.
- 2 E. Schnurr und E. Schröder, 119. Tagung der Rheinisch-Westfälischen Gesellschaft für Innere Medizin, Düsseldorf, 1972.
- 3 E. Schnurr und E. Schröder, *Med. Welt*, 24 (1973) 689.
- 4 R. W. Farmer, W. G. Roup, E. D. Pellizzari und L. F. Fabre, Jr., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 34 (1972) 18.
- 5 W. Kaufmann, B. Steiner, F. Dürr, H. Nieth und C. Behn, *Klin. Wochenschr.*, 45 (1967) 966.
- 6 F. Y. Leung und J. Griffiths, *Clin. Chim. Acta*, 37 (1972) 423.